

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**  
**ESCUELA DE QUÍMICA**



**CUANTIFICACIÓN DE ENDRIN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON  
DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES, EN AGUA PARA CONSUMO  
HUMANO DEL MUNICIPIO DE SAN LUIS TALPA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:**  
**ROSA DEL CARMEN VALENCIA LÓPEZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE**  
**LICENCIATURA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ASESOR:**  
**DR. NÉSTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO**

**NOVIEMBRE DE 2017**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, EL SALVADOR**

## **AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

### **RECTOR:**

MSC. ROGER ARMANDO ARIAS

### **SECRETARIO GENERAL:**

MSC. CRISTÓBAL RÍOS

### **FISCAL:**

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARIN

### **DECANO:**

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO

### **VICEDECANO:**

LIC. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

### **SECRETARIA:**

LICDA. DAMARYS MELANY HERRERA TURCIOS

### **DIRECTOR DE ESCUELA:**

DR. ALEX ADONAI OSORIO LANDAVERDE

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por enseñarme a caminar paso a paso y brindarme la serenidad necesaria ante situaciones que no se pueden cambiar en la vida por mucho que uno las desee, gracias por tomarme de las manos y enseñarme que la vida va más allá de un salón de clases y que lo que realmente importa es lo que llevas por dentro, conste que no me refiero a un hígado, páncreas o riñón, me refiero a los sentimientos que guardas como una verdadera joya en lo más profundo del corazón y que te permite reconocer la necesidad de personas a tu alrededor.

Agradezco a mi madre, la persona más importante y la primera en creer en mí al momento de iniciar mi carrera en la universidad, infinitas gracias por todo su esfuerzo, por despertar a las 2:35 am y comenzar su jornada de trabajo únicamente para ayudarme a cumplir el que hasta ese momento pensaba era mi más grande sueño que albergaba en mi corazón desde pequeña, creo que desde antes de nacer. Gracias por infinidad de veces quitar bocados de su boca y dárselos a sus hijos, gracias por seguir adelante y no dejarse vencer por grandes obstáculos que la vida le ha colocado, quisiera volverla inmortal y poder devolver en alguna medida todo su esfuerzo y dedicación.

A mis grandes amigos recolectados desde mi infancia hasta bachillerato, grandes personas que a pesar de su juventud siempre tuvieron y tienen las palabras idóneas y llenas de sabiduría para mi vida, personas divertidas y entusiastas, las que a pesar de haber tomado caminos diferentes y no poder estar en contacto todos los días como lo estábamos antes, siempre llevo en mi corazón, gracias por estar allí siempre que los necesito.

Infinitas gracias a la licenciada Bessy Evelin Gálvez, sin su ayuda no hubiera podido comenzar y mucho menos terminar de escribir mi trabajo de graduación, que Dios la bendiga por haberme ayudado en infinidad de ocasiones.

Reconocimiento y agradecimientos especiales a una de las mejores personas que he conocido hasta el momento, quien desde el primer día que la conocí me compartió cada uno de sus conocimientos adquiridos a lo largo de su vida profesional, los cuales han sido fundamentales en el desarrollo de mi trabajo de investigación, gracias por tomarse el tiempo de explicarme y animarme en seguir adelante con mis estudios, licenciada Regina del Carmen Cortez.

El último y no menos importante Dr. Néstor Guillermo Orellana, agradecimientos por infinidad de cosas, gracias por aceptar dirigir mi tema de investigación, gracias por darme ideas y proporcionar conocimientos teóricos y prácticos cuando los necesitaba, gracias por ayudarme en infinidad de cosas, créame que nunca lo olvidaré y estaré en deuda con usted toda mi vida, pero sobre todo muchas, muchas pero muchas gracias por permitirme terminar bastante rápido mi trabajo de graduación es una de las cosas más valiosas para mí en este momento. Como dato curioso usted junto a la licenciada Regina, son de aquellas personas que da gusto haber conocido, personas buena onda y que jamás en la vida se les ve triste o enojados, siempre con una sonrisa en la cara.

El escribir unas cuantas líneas que describan mi más sincera gratitud hacia las personas que durante estos años me han brindado la mano de una manera u otra se vuelve una completa falta de justicia. No habiendo líneas escritas a lápiz y papel que enmarquen todo el agradecimiento y cariño lo único que me resta decir es ¡**gracias!**

## ÍNDICE

	Página
Índice de tablas.....	1-2
Índice de figuras.....	3
1. Resumen.....	4
2. Introducción.....	5
3. Justificación.....	6
4. Objetivos.....	7
4.1 Objetivo general.....	7
4.2 Objetivos específico.....	7
5. Planteamiento del problema.....	8
6. Marco teórico.....	9
6.1 Antecedentes.....	9-10
6.2 Generalidades.....	11
6.2.1 Descripción del área de estudio.....	11-12
6.2.2. Contaminación del agua.....	12
6.2.3 Contaminación del agua en El Salvador.....	13
6.2.4 Pesticidas.....	13-14
6.2.5 Contaminación por pesticidas.....	14
6.2.6 Contaminación del agua por pesticidas.....	14-15
6.2.7 Contaminación por pesticidas en El Salvador.....	15-16

6.2.8 Pesticidas organoclorados.....	16-19
6.3 Análisis de residuos de pesticidas organoclorados en aguas.....	19
6.3.1 Etapas previas a la determinación de pesticidas.....	19
6.3.1.1 Toma y preservación de la muestra.....	19
6.3.1.2 Extracción del pesticida.....	19-21
6.3.1.2.1 Extracción líquido-líquido.....	20
6.3.1.2.2 Microextracción en fase sólida (SPME).....	20-21
6.3.2 Técnicas para la determinación de pesticidas organoclorados.....	21
6.3.2.1 Cromatografía de gases.....	21-22
6.4 Validación del método.....	22
6.4.1 Definición e importancia de la validación en medidas químicas.....	22
6.4.2 Parámetros medidos en una validación.....	23-24
7. Metodología.....	25
7.1 Materiales, reactivos y equipo.....	25
7.2 Procedimiento experimental.....	25
7.2.1 Preparación de soluciones.....	25-26
7.2.2 Análisis cromatográfico.....	26
7.2.3 Validación del método.....	27
7.2.3.1 Determinación de la linealidad.....	27
7.2.3.2 Determinación de la exactitud.....	27
7.2.3.3 Determinación de la reproducibilidad.....	28
7.2.3.4 Determinación de la repetibilidad.....	28
7.2.3.5 Determinación del límite de detección y límite de cuantificación	28-29

7.2.4 Toma de muestras.....	29-30
7.2.5 Proceso de extracción de las muestras.....	30-31
7.3 Comparación de resultados en muestras de agua.....	31
8. Resultados y análisis de resultados .....	32
8.1 Validación del método.....	32-37
8.2 Análisis de muestras y parámetros medidos in situ.....	38-41
9. Conclusiones.....	42
10. Recomendaciones.....	41
11. Referencias bibliográficas.....	43-46
Anexos.....	47-58

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Desechos almacenados en las bodegas de la ex planta formuladora de plaguicidas QUIMAGRO S.A de C.V.....	9
Tabla 2 Resultados del primer muestreo para el análisis de Toxafeno, plaguicidas organofosforados y organoclorados.....	10
Tabla 3 Cultivos producidos en el municipio de San Luis Talpa.....	11
Tabla 4 Evaluación de la calidad del agua de ríos en El Salvador 2012-2013.....	13
Tabla 5 Inventario de desechos de plaguicidas contaminantes orgánicos Persistente.....	16
Tabla 6 Datos de la curva de calibración utilizada para la cuantificación de endrin por CG/ECD .....	26
Tabla 7 Condiciones cromatográficas a utilizar en la determinación de endrin en muestras de agua por CG/ECD .....	26
Tabla 8 Descripción de la primera toma de agua en pozos artesanales del municipio de San Luis Talpa.....	29
Tabla 9 Descripción de la segunda toma de muestras de agua proveniente de pozos artesanales del municipio de San Luis Talpa.....	30
Tabla 10 Resumen de curvas de calibración y sus correspondientes coeficientes de correlación.....	32
Tabla 11 Valores de la curva de calibración promedio del endrin.....	32
Tabla 12 Análisis de varianza para regresión lineal.....	33
Tabla 13 Resultados obtenidos para evaluación de la exactitud.....	34
Tabla 14 Porcentajes de recuperación obtenidos.....	34
Tabla 15 Resultados experimentales de mediciones de muestra fortificada con solución de 5 µg/L de endrin.....	35
Tabla 16 Análisis de varianza para evaluación de la reproducibilidad.....	35
Tabla 17 Medidas de muestras fortificadas con solución de 5 µg/L de endrin para evaluación de repetibilidad .....	36

Tabla 18	Medidas para la evaluación del límite de detección y cuantificación.....	36
Tabla 19	Parámetros medidos en muestras de agua (muestreo 1).....	38
Tabla 20	Parámetros medidos en muestras de agua (muestreo 2).....	38
Tabla 21	Resultados del análisis de muestras de agua (muestreo 1).....	39
Tabla 22	Resultados del análisis de muestras de agua (muestreo 2).....	39-40

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Ubicación del municipio de San Luis Talpa.....	11
Figura 2	Usos del suelo en el municipio de San Luis Talpa.....	12
Figura 3	Pesticidas organoclorados tipo Hexaclorooctahidronaftaleno.....	17
Figura 4	Pesticidas organoclorados tipo difeniletano.....	17
Figura 5	Pesticidas organoclorados tipo canfeno.....	17
Figura 6	Pesticidas organoclorados tipo hexaclorociclohexano.....	18
Figura 7	Principio de la micro extracción en fase sólida (SPME).....	21
Figura 8	Programación de temperatura utilizada en el horno del cromatógrafo.....	26
Figura 9	Gráfico de la curva de calibración promedio del endrin.....	33
Figura 10	Cromatograma de solución 2.5µg/L de endrin.....	37

## 1. RESUMEN

El endrin es un pesticida organoclorado utilizado para el control de plagas en las plantaciones de caña de azúcar, su prohibición en El Salvador tuvo lugar a partir del año 2000 a pesar que en países como los Estados Unidos fue prohibido en el año 1978, a raíz de una serie de complicaciones en la salud de las personas.

Tomando en consideración que muchos de los habitantes de San Luis Talpa no cuentan con servicio de agua potable y se ven en la necesidad de abastecerse de agua proveniente de pozos artesanales, se llevó a cabo la presente investigación tomando muestras de agua en Amatecampo, San Francisco Amatepe, Nuevo Eden, Santo Tomás, Valle Nuevo, El Chaguitón, Sambombera; todos pertenecientes al referido municipio, para identificar la posible presencia del endrin proveniente de actividades agrícolas.

Para la validación del método y análisis de la muestra, se utilizó como técnica analítica la cromatografía de gases con detector de captura de electrones debido a su alta selectividad y su gran sensibilidad frente a concentraciones trazas de este tipo de contaminante medioambiental. La extracción del analito de las muestras se llevó a cabo a través de una extracción líquido-líquido, utilizando como solvente hexano.

En el proceso de validación del método se evaluaron parámetros como límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, exactitud y precisión, todo ello con el objetivo de ofrecer un grado de confiabilidad en los resultados de las mediciones realizadas. Para la determinación de exactitud se utilizó como criterio las mediciones del porcentaje de recuperación en 6 días de mediciones diferentes, obteniendo en promedio un 79% de recuperación en la extracción del analito. La repetibilidad y reproducibilidad fueron medidas como criterio de precisión, reportando para la repetibilidad un porcentaje del coeficiente de variación del 3.49%, mientras que la reproducibilidad fue evaluada mediante ANOVA de un factor, teniendo como resultado una diferencia no significativa en los 9 días de mediciones de muestras fortificadas. Se construyeron 2 curvas de calibración diferentes, obteniendo en cada caso coeficientes de correlación superiores a 0.99 lo cual denota una buena linealidad en el método utilizado, encontrándose a su vez que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las 2 curvas de calibración medidas, mientras que el límite de detección y cuantificación fueron reportados como 0.33  $\mu\text{g/L}$  y 1.01  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente.

Las concentraciones de endrin encontradas en muestras de agua, se ubican por debajo de los 0.6  $\mu\text{g/L}$  de endrin, la cual representa el límite máximo permisible establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable, la evaluación fue realizada a través de una prueba de significancia estadística entre la media experimental de cada muestra y los 0.6  $\mu\text{g/L}$  de endrin.

## 2. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua es un problema a nivel mundial que afecta tanto al ser humano como al medio que lo rodea. Este tipo de contaminación puede provenir de fuentes naturales y/o antropogénicas, entre estas últimas figuran las descargas industriales y las descargas domésticas, las cuales durante muchos años han sido factores determinantes en el deterioro de la calidad del agua. Otra de las causas de contaminación de mantos acuíferos superficiales y subterráneos se deriva de las actividades agrícolas y el uso de pesticidas organoclorados para el mejoramiento de la producción a través del control de plagas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2013).

A pesar de los múltiples beneficios que conlleva la utilización de estos agroquímicos, también se pueden enumerar una gran cantidad de efectos negativos que son producidos en el ser humano, ya sea por ingesta o por contacto. La contaminación del agua por este tipo de pesticidas deriva de su alta persistencia en el medio ambiente; además son más solubles en los lípidos, por lo cual se transfieren con facilidad en la cadena trófica (Arrazcaeta, 2002).

La concentración de pesticidas en el agua subterránea se ve influenciada por diversos factores entre ellos se encuentran la cantidad de lluvia presente en el momento de la aplicación, la volatilidad del pesticida y el tipo de suelo, estos 3 factores determinan la presencia de pesticidas en el agua (Tiryaki y Temur, 2010). En el Salvador, han sido registrados numerosos casos de contaminación por pesticidas organoclorados, los cuales derivan de la aplicación de estos para el mejoramiento de los productos agrícolas.

Siendo el muestreo una parte fundamental de esta investigación se realizó una revisión de los parámetros a tomar en cuenta antes, durante y después del muestreo de aguas con el fin de preservar la muestra y evitar que los analitos sean degradados y/o contaminados con otras especies que afecten las mediciones, ya sean disminuyendo o aumentando las señales producidas por el instrumento de medición (Mejías y Jerez, *s. f.*). Se realizó una breve descripción de técnicas de extracción de pesticidas organoclorados en aguas, entre ellas, la Extracción Líquido-Líquido (LLE) y Microextracción en Fase Sólida (SPME).

El presente trabajo de investigación tiene por finalidad identificar la presencia de endrin en agua utilizada por los habitantes de San Luis Talpa, empleando una extracción líquido-líquido para la obtención del analito a partir de las muestras acuosas. Debido a la alta sensibilidad y selectividad presentada por la cromatografía de gases con detector de captura de electrones, esta ha sido usada como técnica de medición del endrin. Cuyos resultados del análisis de muestras son respaldados mediante un proceso previo de validación del método, evaluando parámetros como linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud y precisión. A su vez se hace una comparación entre los valores obtenidos mediante la medición de muestras y el límite máximo permisible establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El agua es un recurso indispensable para el ser humano, en nuestro cuerpo forma parte de muchos procesos metabólicos y por lo tanto es indispensable su consumo. El agua para consumo humano debe cumplir con parámetros físicos, químicos y microbiológicos; que para el caso de El Salvador, son establecidos por la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable (Ministerio de Salud, 2009).

Lastimosamente, la calidad del agua se ha visto disminuida significativamente a nivel mundial. En El Salvador, la contaminación del agua constituye uno de los principales desafíos socioambientales. El uso desmedido de agroquímicos es una fuente de contaminación de diversos sistemas medioambientales incluyendo entre ellos mantos acuíferos superficiales y subterráneos.

San Luis Talpa en el departamento de La Paz, es un municipio dedicado a la producción agrícola, en la actualidad se encuentran cultivos de caña de azúcar, granos básicos y hortalizas, para los cuales es necesaria la utilización de diversos tipos de pesticidas entre ellos los organoclorados (Alcaldía municipal de San Luis Talpa, 2016). Debido a problemas de salud presentados por pobladores de este municipio, el Ministerio de Salud (MINSAL) en coordinación con el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y el Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN), procedieron a la realización de un estudio sobre la presencia de pesticidas en suelos y aguas tomando como referencia un radio de aproximadamente 500 metros desde las instalaciones de la ex planta formuladora QUIMAGRO S.A de C.V, la cual durante muchos años dejó en abandono desechos de pesticidas organoclorados, organofosforados y solventes utilizados para su formulación (MARN, 2013).

La presente investigación está orientada a extender el estudio hacia otras comunidades de San Luis Talpa e identificar endrin en agua de pozos artesanales utilizada para el consumo de los pobladores, cuya presencia afectaría negativamente la salud de las personas.

Algunos pesticidas organoclorados han sido identificados como productos químicos que alteran el sistema endocrino, por lo que se les conoce como disruptores endocrinos (Hernández, Parron, Requena, Alarcón y López-Guarnido 2013). Por ejemplo, el endrin se enlaza a los receptores de andrógenos lo cual provoca deficiencia en los niveles de espermatozoides en los hombres y por consiguiente se puede producir infertilidad. Algunos de estos pesticidas también han sido relacionados a la aparición de cáncer de mama, cáncer de próstata, daños a hígado, riñón y cerebro (Roig, Mnif, Hadj, Bouaziz, Bartegi y Thomas, 2011). Por lo que se vuelve de suma importancia su identificación y cuantificación tomando en consideración su persistencia en el medio ambiente y además el hecho de que estos fueron prohibidos en El Salvador a partir del año 2000.

## **4. OBJETIVOS**

**4.1 Objetivo general:** Determinar endrin por cromatografía de gases, en muestras de agua para consumo humano del municipio de San Luis Talpa.

### **4.2 Objetivos específicos:**

**4.2.1** Colectar muestras de agua utilizadas para consumo humano provenientes de pozos artesanales en el municipio de San Luis Talpa

**4.2.2** Extraer el endrin de las muestras de agua recolectadas, utilizando extracción líquido-líquido.

**4.2.3** Cuantificar endrin, utilizando cromatografía de gases con detector de captura de electrones, en el extracto proveniente de las muestras de agua.

**4.2.4** Comparar los resultados obtenidos en el laboratorio con el Límite Máximo Permisible del endrin en El Salvador establecido por la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable.

## **5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El municipio de San Luis Talpa en el departamento de La Paz cuenta con una población dedicada mayormente a la producción agrícola que durante los años 2011-2014 ha presentado un elevado número de casos de insuficiencia renal crónica (MARN, 2014). Algunas instituciones internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionan como posible desencadenante de insuficiencia renal a algunos pesticidas organoclorados, sin embargo no se tienen evidencias concluyentes al respecto.

Las actividades agrícolas aunadas a la existencia de familias que no cuentan con agua potable y se ven obligadas a abastecerse del recurso hídrico proveniente de pozos artesanales colocan en un estado de vulnerabilidad a las personas frente a posibles intoxicaciones causadas por la contaminación del agua a partir de pesticidas utilizados en la agricultura. De ahí su importancia en la realización de mediciones periódicas del endrin.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Antecedentes

#### Ex planta formuladora de pesticidas QUIMAGRO, S.A de C.V

El inmueble donde se localiza la ex planta formuladora de plaguicidas QUIMAGRO S.A de C.V., según registros del Ministerio del Medio Ambiente y otras instituciones involucradas en el manejo de los desechos se encuentra ubicado en cantón Loma del Gallo, kilómetro 41 ½ , carretera al Litoral, Jurisdicción de San Luis Talpa. Departamento de La Paz.

En las bodegas al interior de las instalaciones se encontraron diversos plaguicidas y productos químicos de desecho, ingredientes activos y sustancias utilizadas en la formulación de pesticidas como el Toxafeno, el metil paration, el etil paration, sponto, quimation y acetona.

En atención a la denuncia de la Gobernación Política de La Paz, Protección Civil del Departamento de la Paz y posterior seguimiento por parte de la Unidad del Medio Ambiente y Salud de la Fiscalía General de La República, se coordinó la inspección conjunta entre el MINSAL y MARN para atender el requerimiento de la fiscalía. Como resultado de la inspección se verificó la existencia en el interior de las bodegas de la ex planta Formuladora QUIMAGRO el almacenamiento de alrededor de 35 toneladas de desechos de plaguicidas fosforados y clorinados, solventes usados en la formulación, así como tierras contaminadas, envases vacíos y otros desechos. El tipo de desechos almacenados y la cantidad de los mismos se presentan en tabla 1 (MARN, 2013).

Tabla 1. Desechos almacenados en las bodegas de la ex planta formuladora de pesticidas QUIMAGRO, S.A de C.V (MARN, 2013).

<b>Tipo de desecho</b>	<b>Cantidad en Toneladas</b>
Etilparation y Metilparation	17.7
Toxafeno	3.8
Metamidofos y monocrotofos	2.3
Clordimeform	1.5
Quimation	0.2
Solventes (acetona, metil glicol y xileno)	3.9
Sponto	5.2
<b>Total general</b>	<b>34.6</b>

Tras la inspección del lugar, se vio la necesidad de la realización de la toma de muestras y análisis de suelos y agua de los pozos artesanales a fin de determinar la existencia de fuentes de contaminación por plaguicidas provenientes de QUIMAGRO. El primer muestreo fue realizado en el periodo comprendido entre el 23 de mayo y 12 de julio del 2013. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Control de Calidad de Plaguicidas y Residuos MAG-OIRSA, utilizando espectrofotometría de masas y cromatografía de gases con detector de captura de electrones cuyos resultados son mostrados en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados del primer muestreo para el análisis de Toxafeno, plaguicidas organofosforados y organoclorados (MARN, 2013).

<b>Zona</b>	<b>Resultados en agua de pozos</b>	<b>Resultado en suelo</b>
Caserío Loma del Gallo, colindante con la ex Planta Formuladora QUIMAGRO	No detectados	No detectados
Colonia El Porvenir, a una distancia promedio de 350 metros hacia el oeste de la ex Planta Formuladora QUIMAGRO	No detectados	No detectados
Áreas de cultivos	No detectado	0.01 ppm de Toxafeno No se detectó presencia de plaguicidas organofosforados ni organoclorados.
Interior de ex Planta Formuladora QUIMAGRO, S.A. de C.V.	No detectado	0.08 – 0.88 ppm en suelo 0.003 ppm de Toxafeno en sedimentos del río Orcoyo No detecta presencia de plaguicidas organoclorados ni organofosforados

Con el propósito de determinar una potencial contaminación por presencia de plaguicidas en el agua, y tomando en consideración que en el primer muestreo los resultados de laboratorios no detectaron la presencia de Toxafeno, plaguicidas organoclorados ni plaguicidas organofosforados; el día 31 de julio de 2013, las autoridades correspondientes procedieron a tomar una segunda muestra del agua de todos los pozos artesanales localizados en las viviendas cercanas a la ex planta formuladora QUIMAGRO. Las muestras recolectadas fueron trasladadas al Laboratorio del Control de Calidad de Plaguicidas y Residuos (MAG – OIRSA), utilizando espectrometría de masas y cromatografía de gases (MARN, 2013).

Dando como resultado en uno de los pozos artesanales una concentración de 0.0012 ppb de endrin cetona, que equivale a  $1.2 \times 10^{-6}$  ppm de endrin cetona. Esta cantidad es sumamente pequeña, pero es un indicativo de la degradación del plaguicida endrina o endrin, que fue una de las sustancias prohibidas en el año 2000, por ser un plaguicida identificado como altamente tóxico. El nivel máximo de contaminante para la endrina en agua potable establecido por la EPA es de 0.0002 miligramos de Endrina por litro equivalente a  $2 \times 10^{-4}$  ppm de endrina (MARN, 2013).

## 6.2 Generalidades

### 6.2.1 Descripción del área de estudio

San Luis Talpa, es uno de los 22 municipios que forma parte del departamento de La Paz (figura 1). Se ubica a 16 kilómetros de la cabecera departamental y a 35 kilómetros de la capital San Salvador, poseyendo una extensión territorial de 187.9 Km<sup>2</sup>. De acuerdo con los censos que maneja el Sistema Básico de Salud Integral (SIBASI) de Zacatecoluca del MINSAL, para el año 2003, la población de San Luis Talpa era de 27,919 habitantes, de los cuales, 16,307 son de la zona urbana (58.41%) y 11,612 son de la zona rural (41.59%). Es un municipio dedicado a la producción agrícola (tabla 3), pecuaria, industrial y agroindustrial. Según el estudio, estado de desarrollo humano en los municipios de El Salvador PNUD 2009 se estima que 820 hogares en la zona urbana y 1,137 en la zona rural no cuentan con acceso al agua potable, por lo que toman el agua de pozos y fuentes del lugar (Alcaldía municipal de San Luis Talpa, 2016).

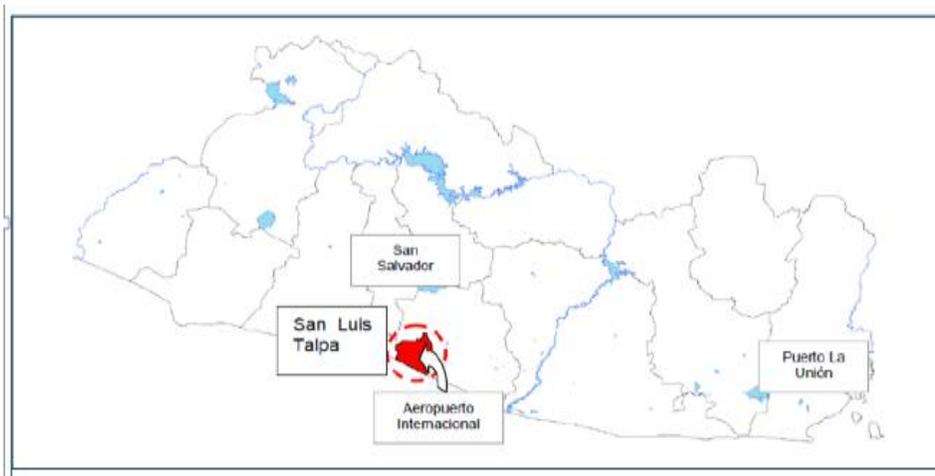


Figura 1. Ubicación del municipio de San Luis Talpa

Tabla 3. Cultivos producidos en el municipio de San Luis Talpa.

<b>Producto</b>	<b>Área utilizada (Mz)</b>
Hortalizas	161.81
Frutas	257.83
Maíz	2062.00
Maicillo	248.00
Frijol	105.00
Caña de azúcar	3593.23

El suelo del municipio de San Luis Talpa cuenta con diversos usos, siendo la mayor extensión territorial utilizada como bosques y sembradíos realizados por los pobladores de la zona, aunque también hay utilización de suelo en aeropuertos, tal como se muestra en la figura 2.

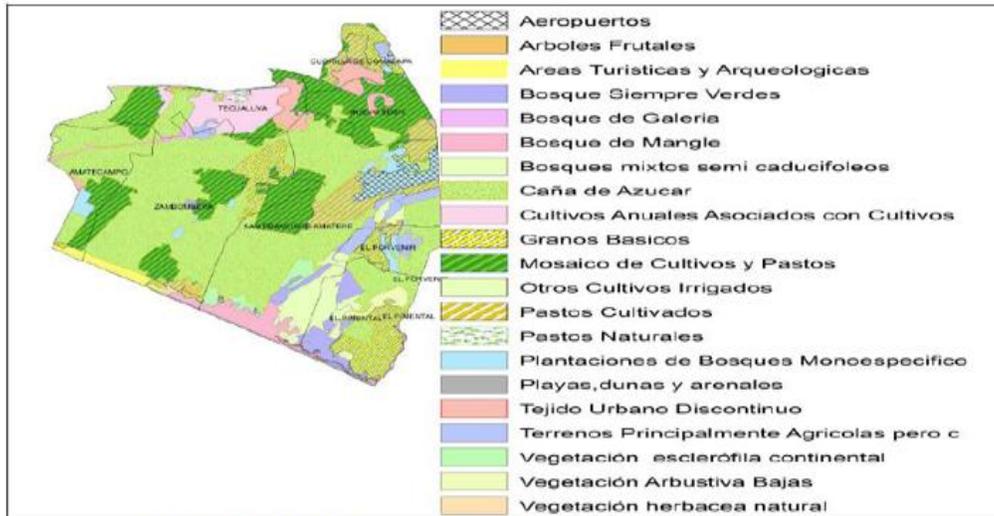


Figura 2. Usos del suelo en el municipio de San Luis Talpa

### 6.2.2 Contaminación del agua

El agua de consumo humano no debe ser un vehículo de transmisión de enfermedades, por lo que es importante establecer parámetros y sus Límites Máximos Permisibles (LMP) para garantizar que sea sanitariamente segura, razón por la cual se ha definido el concepto de agua potable como aquella agua apta para consumo humano y que cumple con los parámetros físicos, químicos y microbiológicos impuestos por diferentes normas a nivel mundial. En el caso de El Salvador, estos parámetros son establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 (MINSAL, 2009).

Según la FAO la contaminación del agua se define como la introducción por el hombre en el ambiente acuático (mares, ríos y lagos) de elementos abióticos o bióticos que causen efectos dañinos o tóxicos, perjudiquen los recursos vivos y constituyan un peligro para la salud humana (Arrazcaeta, 2002). Estas impurezas pueden provenir de la degradación biológica de sustancias orgánicas que producen ácidos grasos, carbohidratos e hidrocarburos; de sustancias inorgánicas como metales tóxicos, de material particulado como arcillas y sedimentos y microorganismos como bacterias, virus y protozoos. Los contaminantes químicos corrientes son metales pesados como hierro, manganeso, plomo, mercurio, arsénico, cobre, cinc; compuestos nitrogenados tales como amoníaco, nitrato y nitrito y aniones como cloruro, fluoruro, sulfatos y silicatos (Vega, 2007).

Se estima que unos 663 millones de personas carecen de acceso inmediato a fuentes mejoradas (aquellas en que se mantienen separadas, para uso humano, para uso de los animales y la contaminación fecal) de agua potable, mientras que el número de personas sin un acceso fiable a una agua de calidad lo suficientemente buena como para que resulte segura para el consumo humano asciende a 1.88 millones, por lo menos, e incluso es probable que sea significativamente mayor (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Tecnología, 2016).

### 6.2.3 Contaminación del agua en El Salvador

La contaminación del agua se profundizó durante las últimas décadas y pasó a constituir un problema generalizado para la población y los ecosistemas. Los vertidos domésticos e industriales, así como la disposición inadecuada de desechos sólidos en diversos territorios del país y la aplicación de agroquímicos y pesticidas en la agricultura son fuente permanente de la contaminación del agua (Cuéllar, 2001). Para realizar la calificación de la calidad de agua de los ríos en relación a su condición para permitir el desarrollo de la vida acuática, el MARN hace uso del Índice de Calidad de Agua General (ICA) (MARN, 2014).

Tabla 4. Evaluación de la calidad de ríos en El Salvador 2006- 2013 (MARN, 2014).

Calidad del agua	Porcentaje de sitios					
	2006	2007	2009	2010	2011	2013
Excelente	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Buena	17%	3%	0%	2%	12%	5%
Regular	50%	45%	60%	65%	50%	73%
Mala	20%	46%	31%	27%	31%	17%
Pésima	13%	6%	9%	6%	7%	5%

La evaluación de la calidad de los ríos en los últimos años muestra que el mayor porcentaje de ríos evaluados presenta una calidad de agua calificada como regular (tabla 4).

Durante el 2015, en relación a las aguas superficiales, lo más característico es que hay una destacable contaminación bacteriológica en la mayor parte del país. También hay elevadas concentraciones de fenoles y orto fosfatos, otros indicadores de tipo antropogénico. Asimismo en el año 2015, se han medido plaguicidas en agua, concretamente del tipo organoclorados, organonitrados, carbamatos y glifosatos, en los sitios que tienen contacto con la agricultura, sin embargo las concentraciones medidas se sitúan por debajo de los límites recomendados por la EPA para actividades piscícola y la OMS para consumo directo (MARN, 2015).

### 6.2.4 Pesticidas

Una de las definiciones más completas sobre pesticidas, es la propuesta por la FAO en 1986, la cual establece que un plaguicida es una sustancia o mezcla de sustancias, destinadas a destruir, prevenir, o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de organismos causantes de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, productos de esta o alimentos para animales (Calva y Torres, 1998).

El uso de los plaguicidas se remonta hace miles de años, cuando los sumerios o los chinos, quemaban azufre para controlar a las plagas, o también para proteger a las manzanas de ciertos gusanos que causan la putrefacción de la fruta. Mientras que el surgimiento de la

aplicación masiva de los pesticidas coincide con la llamada era química, según la base de datos de la American Chemical Society, en 1993 se habían identificado más de trece millones de productos químicos a los que se le sumaban cada año 500,000 compuestos. Durante las últimas décadas han ocurrido diversos cambios en cuanto al uso de la protección química de los cultivos, y esta ha sido dirigida a la utilización de compuestos menos tóxicos y más selectivos (Arrazcaeta, 2002).

En los últimos años se está llevando a cabo el uso de pesticidas microbianos, estos se basan en el desarrollo de bacterias, virus y hongos que atacan a un grupo muy reducido y específico de insectos; por lo que en general resultan inofensivos para aquellos a los que no va dirigido, seres humanos y vida silvestre en general. La especificidad de este tipo de insecticidas se debe a que cada especie del mismo, es patógena para un determinado grupo de insectos, y afectará solo a los que se destina, disminuyendo drásticamente la población en un corto periodo. Dentro de las bacterias más ampliamente estudiadas y utilizadas se encuentra el *Bacillus thuringiensis* Berliner conocido más comúnmente como Bt-, que vive en los suelos y superficies foliares de todo el mundo. Son insecticidas digestivos que modifican las propiedades de las células intestinales y producen perforaciones en la pared del intestino de la larva (Fernández, Pujol y Maher, 2012). En el caso de El Salvador, se está utilizando *Bacillus thuringiensis*, un pesticida microbiológico conocido comercialmente como ECOTECH PRO 7.2 SC y DIPEL 6.4 WG y *Metarhizium anisopliae* (MAG, 2000).

### **6.2.5 Contaminación por pesticidas**

Un problema que ocasiona un impacto ambiental especialmente negativo es la persistencia de algunos pesticidas, como el DDT. Ello se debe a que no son metabolizados por los organismos, al igual que otros pesticidas organoclorados; además son más solubles en los lípidos, por lo cual se transfieren con facilidad en la cadena trófica (Vega, 2007).

Después de la aplicación, un pesticida puede: i) fijarse en las partículas del suelo, la vegetación, u otras superficies y permanecer cerca del sitio de deposición, ii) adjuntarse a las partículas del suelo y moverse con el suelo erosionado en la escorrentía o a causa del viento, iii) disolverse en el agua y ser absorbido por las plantas, se mueven en la escorrentía o lixiviación, iv) se volatilizan o erosionan del follaje o tierra con el viento. La movilidad se ve afectada por la solubilidad del pesticida en el agua, la presión de vapor, y otras características ambientales y del sitio como el clima, la topografía, textura, estructura y materia orgánica del suelo (Tiryaki y Temur, 2010).

El exceso de pesticidas se mueve a través del ambiente contaminando los suelos, el aire, el agua y la biota. Trazas de pesticidas han sido medidas en la atmósfera, en aguas de lluvias, en aguas superficiales y subterráneas, en suelos y alimentos. Algunos pesticidas prohibidos como el DDT y el toxafeno, entre otros, se encuentran con frecuencia en regiones tan remotas como en la zona ártica (Arrazcaeta, 2002).

### **6.2.6 Contaminación de aguas por pesticidas**

La práctica agrícola se encuentra dentro de aquellas actividades que influyen en el deterioro de la calidad de las aguas. A ríos y zonas costeras llegan los residuos de los pesticidas

empleados en la protección de esos cultivos. Ellos se desplazan por la superficie terrestre o penetran en el suelo, arrastrados por las escorrentías y el viento. Estos contaminantes consiguen abrirse paso hasta las aguas subterráneas, tierras húmedas, lagos y finalmente hasta los océanos en forma de sedimentos y cargas químicas (Arrazcaeta, 2002). El agua subterránea es aquella situada bajo la superficie de la tierra, generalmente la entrada de pesticidas se lleva a cabo a través de lixiviaciones. La lixiviación se puede aumentar cuando: i) el pesticida es soluble en el agua, ii) el suelo es arenoso, iii) ocurre una lluvia poco después de aplicado el pesticida y iv) cuando el pesticida no está fuertemente adsorbido en el suelo (Tiryaki y Temur, 2010). El movimiento de los pesticidas hacia el agua subterránea es un proceso que se ve afectado, en gran medida por la capa edáfica (en la que existe una gran actividad biológica). Durante su migración las sustancias disueltas o en suspensión en el lixiviado están sometidas a una serie de procesos de diversa índole, intercambio iónico, adsorción, biodegradación, precipitación entre otros, que condicionan su proceso de tránsito y producen transformaciones en su estructura química (Simal-Gándara, Arias-Esteves, López-Periago, Mejuto y García-Ríos, 2008).

Debido a la contaminación de las aguas a nivel mundial, se ha establecido la Concentración Máxima Admisible (MAC, por sus siglas en inglés) de pesticidas o productos relacionados en agua para consumo, instituciones como, EPA y OMS han sido las encargadas durante muchos años de establecer dichos valores (Oscan, Tor, y Emin 2011).

#### **6.2.7 Contaminación por pesticidas en El Salvador**

En El Salvador, los casos de contaminación por pesticidas han sido numerosos y en la mayoría de casos relacionados con la utilización de estos en los cultivos o el abandono en fábricas de formulación.

Una de las investigaciones relacionadas al tema fue la desarrollada durante los años 2007-2008, por la Universidad Centroamericana José Simeón Cañas (UCA) en coordinación con el Fondo de la Iniciativa para las Américas El Salvador (FIAES), llevado a cabo en los cantones Salinas del Potrero y Salinas de Sisiguayo en la Bahía de Jiquilisco. Los datos obtenidos evidenciaron contaminación de pesticidas organoclorados como dieldrin, endrin, DDD, Heptacloro, DDE y DDT en el agua y sedimento de estanques para crianza de camarón (FIAES y UCA, 2008).

Otro caso de contaminación generada por pesticidas, fue la ocasionada por la ex planta formuladora Agrojell, S. A. ubicada en el kilómetro 144, carretera panamericana, municipio y departamento de San Miguel, donde por más de diez años los desechos de toxafeno se mantuvieron abandonados y se derramaron, contaminando el suelo y el recurso hídrico subterráneo (MARN y PNUD, 2012).

Mientras que durante el año 2012, el MARN realizó un inventario de plaguicidas y sitios contaminados en los cuales se encontraron desechos de plaguicidas, además de solventes, tierras y equipos contaminados, entre otros. En la tabla 5 se presentan los resultados de los contaminantes orgánicos persistentes encontrados en empresas e instituciones en el 2012 (MARN, 2012).

Tabla 5. Inventario de desechos de contaminantes orgánicos persistentes (MARN, 2012).

N <sup>o</sup>	Empresa/ institución/ departamento	Compuesto	Cantidad total (Kg)
1	Bodega ex – IRA, Santa Ana	Aldrin	1814.39
2	MINSAL, San Salvador	DDT Hexaclorobenceno	4672.05 7801.87
3	QUIMAGRO, San Luis Talpa	Etil paration, Clordimeform Toxafeno	5472.39

Para el año 2013, el MARN en coordinación con el MAG y el MINSAL realizaron un estudio de la zona de San Luis Talpa en el departamento de La Paz con el objetivo de determinar la presencia de pesticidas en suelos y aguas de pozos artesanales utilizados por los pobladores de la zona para su consumo. Investigación impulsada por el abandono de pesticidas y productos para su formulación en la ex planta formuladora QUIMAGRO S.A de C.V por problemas de salud (insuficiencia renal) presentados por los pobladores de este municipio (MARN, 2013).

### 6.2.8 Pesticidas organoclorados

Los pesticidas organoclorados se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente terrestre y acuático, como resultado de su uso constante en la industria, agricultura e incluso durante las campañas de salud donde son aplicados para contrarrestar enfermedades como la malaria. Sus propiedades fisicoquímicas los hace muy resistentes a la degradación biológica, por lo que son altamente persistentes. Entre los compuestos más persistentes destacan el toxafeno (11 años), el DDT y endrin (10 años), clordano (8 años), dieldrin (7 años), aldrin (5 años), heptacloro (4 años) y lindano (2 años) (Calva y Torres, 1998).

Los pesticidas organoclorados son compuestos sintéticos utilizados principalmente como insecticidas. Atendiendo a su estructura estos se clasifican en 4 tipos:

1. Tipo Hexaclorooctahidronaftaleno. El aldrin, dieldrin y endrin fueron usados como insecticidas de 1950 a 1970. El aldrin fue sintetizado por primera vez en 1948 y comercialmente manufacturado en 1950. Es producido por una reacción de Diels-Alder entre el acetileno y la hexaclorociclopentadina. El dieldrin es el metabolito oxigenado del aldrin. El aldrin es fácilmente degradado a dieldrin y por lo tanto rara vez se detecta en el medio ambiente. El endrin fue introducido en 1951 y se utiliza principalmente como insecticida en el cultivo de algodón, este es sintetizado a partir de la reacción de ciclopentadieno con cloruro de vinilo. El endrin es un estereoisómero del dieldrin y es rápidamente metabolizado en el medio ambiente. El endrin aldehído y la endrin cetona son productos de degradación de estos (Oscan et al., 2011).

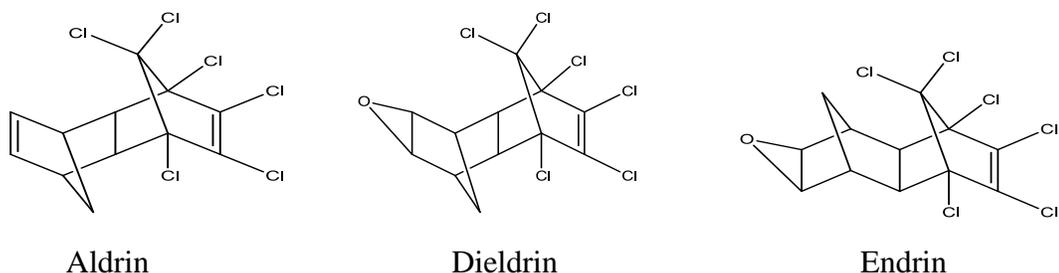


Figura 3. Pesticidas organoclorados tipo Hexaclorooctahidronaftaleno (Patnaik, 2007)

2. Clorados tipo difeniletano (DDT, DDD, metoxicloro y pertano).

Diclorodifeniltricloroetano (DDT) es el nombre común de 1,1,1-tricloro-2,2-di-(4-clorofenil)etano. El ingrediente activo es el p,p-DDT (65-80%). El Diclorodifeniltricloroetano se degrada fácilmente en diclorodifenildicloroetano (DDD) y diclorodifenildicloroetileno (DDE), que son más persistentes (Oscan et al., 2011).

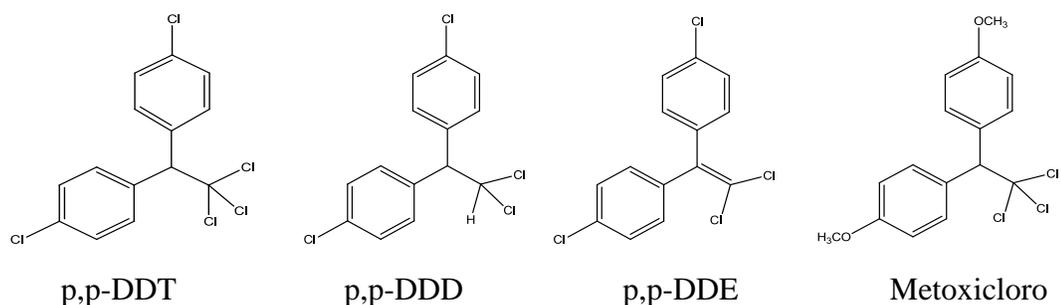


Figura 4. Pesticidas organoclorados tipo difeniletano (Patnaik, 2007).

3. Clorados tipo canfeno (heptacloro, clordano, epóxido de heptacloro y toxafeno)

La estructura química del heptacloro es similar a la del clordano; el heptacloro se ha utilizado como insecticida para el control de las hormigas de fuego. Se oxida rápidamente por reacciones fotoquímicas y por procesos biológicos a epóxido de heptacloro el cual aparece después del uso de heptacloro. El clordano es sintetizado por la cloración del hexaclorociclopentadieno que es producida por una reacción Diels Alder (Oscan et al, 2011).

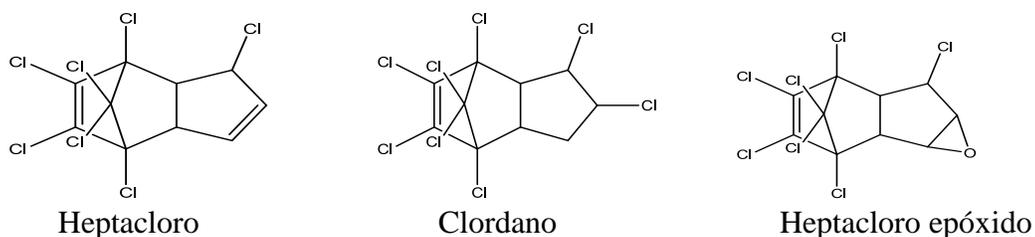


Figura 5. Pesticidas organoclorados tipo canfeno (Patnaik, 2007).

#### 4. Tipo hexaclorociclohexano (Lindano e isómeros $\alpha$ , $\beta$ y $\delta$ )

Los hexaclorociclohexanos (HCH) son insecticidas de amplio espectro utilizados en los cultivos de frutas, verduras y forestales. Están disponibles en dos formulaciones comerciales. El HCH de calidad técnica es una mezcla de isómeros que contienen en su mayoría 64% de  $\alpha$ -HCH, 10% de  $\beta$ -HCH, 13% de  $\gamma$ -HCH, 9% de  $\delta$ -HCH y 1% de  $\epsilon$ -HCH. La otra formulación comercial contiene más del 99% de  $\gamma$ -HCH (lindano). Michael Faraday descubrió los HCHs en 1825. El HCH de calidad técnica se ha producido comercialmente desde 1947. La vida media del  $\beta$ -HCH en la sangre es de 7 años, mientras que el  $\gamma$ -HCH (lindano) tiene una vida media de solo 20 horas (Oscan et al., 2011).

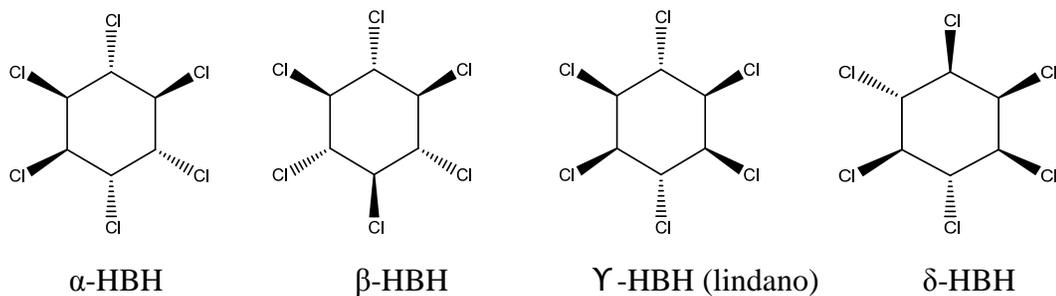


Figura 6. Pesticidas organoclorados tipo hexaclorociclohexano (Patnaik, 2007).

#### 6.2.8.1 Toxicidad

Los pesticidas organoclorados en el ambiente acuático pueden afectar el desarrollo de los organismos e inclusive la salud humana. En los peces los efectos se presentan generalmente durante el ciclo reproductivo, además de esto algunos ocasionan daños en diferentes órganos como el hígado, riñón, cerebro, branquias, músculo, intestino y gónadas. En el caso del ser humano existen diversas fuentes de exposición, que provocan que estos sean incorporados en el cuerpo humano una vez adentro son acumulados en el tejido graso donde suelen ser inactivos. En las épocas de nutrición deficiente, los depósitos adiposos se movilizan y los pesticidas organoclorados se liberan, pasando al torrente sanguíneo, con posibilidad de producir efectos tóxicos si la concentración alcanza un nivel suficientemente elevado (Calva y Torres, 1998).

Para el año 2012 se ha estudiado la relación del cáncer de mama con algunos de los pesticidas organoclorados como el p,p-DDT y su metabolito p,p-DDE, el dieldrin, endrin, clordano y heptacloro cuyo metabolito epóxido de heptacloro se acumula en la glándula mamaria alterando los hepatocitos e induciendo carcinoma hepatocelular (Parvathaneni, Ferro y Patel, 2012). Pesticidas como el p,p-DDT, p,p-DDE, aldrin, dieldrin, endrin, clordano, metoxicloro y endosulfan han sido identificados como productos químicos que alteran el sistema endocrino, por lo que se les conoce como disruptores endocrinos (Hernández, Parron, Requena, Alarcón. y López-Guarnido, 2013). En animales de laboratorio, el endosulfan ha demostrado ser tóxico para el hígado, riñón, sistema nervioso y los órganos reproductivos, mientras que durante el desarrollo de las ratas el endosulfan

induce la disminución del número de espermatozoides (Wallace, Casabar, Das, DeKrey, Gardiner, Cao y Rose, 2010).

Debido a todos los efectos negativos producidos en la salud de las personas, hay un gran número de pesticidas organoclorados que forman parte de la llamada “docena sucia”, la cual está comprendida por 12 contaminantes orgánicos persistentes, entre ellos el endrin, dieldrin, aldrin, clordano, DDT, heptacloro, mirex y toxafeno (El-Shahawi, Hamz, Bashammakh y Al-Saggaf, 2010).

## **6.3 ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EN AGUAS**

### **6.3.1 Etapas previas a la determinación de pesticidas**

#### **6.3.1.1 Toma y preservación de la muestra**

Las concentraciones de pesticidas en muestras medioambientales son generalmente próximos a los límites de determinación de los métodos analíticos más sensibles. Por ello, la pérdida de analito o la contaminación de las muestras que pueden tener lugar a lo largo de todo el proceso de análisis adquieren especial relevancia, por lo que se debe tener suma precaución para evitar estos efectos indeseables.

En general para la toma de muestras son más aconsejables los recipientes de vidrio, provistos con tapón esmerilado. No es aconsejable el uso de material plástico, pues puede absorber cantidades importantes de pesticidas, además de contaminar la muestra con trazas de compuestos orgánicos. Para limpiar la botella de muestreo se recomienda usar agua destilada seguida de un proceso de secado en la estufa a temperatura entre 70 °C y 105 °C. Luego que el envase se ha enfriado, es enjuagado con acetona, metanol u otro solvente volátil. Finalmente, el envase debe ser sellado con papel aluminio para evitar contaminación. Debido a que los análisis de las muestras se realizan lejos del sitio de colección, es recomendable seguir ciertos protocolos para evitar alteraciones de ellas durante su transporte. Se recomienda en primer lugar, sellar bien la tapa de la botella de manera de evitar derrames accidentales. Luego, la botella se introduce en la hielera (4 °C -5 °C) para ser inmediatamente transportada al laboratorio y almacenada hasta su extracción (Mejías y Jerez, *s. f.*). El tiempo de almacenamiento no debe sobrepasar los 7 días. Cuando sea posible, extraer inmediatamente en el laboratorio y almacenar el extracto a 4 °C hasta su análisis, en un plazo no máximo de 15 días (Eaton et al., 1998).

#### **6.3.1.2 Extracción del pesticida**

Proceso de separación del pesticida de otros componentes de la muestra. Se trata de una etapa laboriosa y lenta que suele introducir un elevado número de errores como consecuencia de la pérdida del analito durante todo el proceso, de su posible degradación, de la contaminación de la muestra, entre otros (Ravelo, 2009). El concepto básico de un método de preparación de la muestra es la de convertir una matriz real en una muestra con un formato que es adecuado para una separación u otra técnica analítica (Smith, 2003).

Además, la elección y optimización de una etapa adecuada de preparación de la muestra no suele ser sencilla, especialmente cuando se trata de matrices muy complejas como fluidos biológicos o muestras medioambientales. De hecho, cualquier tratamiento de la muestra depende de la naturaleza de la misma y de la técnica analítica que se vaya a emplear (Ravelo, 2009).

Algunas de las técnicas utilizadas para la extracción de pesticidas organoclorados en muestras de agua son: la extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase sólida (SPME), y diferentes modos de microextracción líquido-líquido (LLME) denominados como microextracción en fase líquida (LPME), microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME), dos de las cuales son descritas a continuación (Oscan et al., 2011).

#### **6.3.1.2.1 Extracción líquido-líquido (LLE)**

La LLE se basa en la distribución de los componentes de la muestra entre dos disolventes inmiscibles en los que la matriz y analito tiene diferentes solubilidades, de manera que la eficiencia como, la selectividad del proceso dependen de la naturaleza de ambos disolventes. En este procedimiento, la muestra de agua conteniendo los plaguicidas se coloca en un embudo de decantación y se extrae sucesivamente, generalmente tres veces, con un disolvente orgánico inmiscible con el agua, para proceder posteriormente a su determinación. Un problema que presenta LLE es la aparición de emulsiones, especialmente en aguas residuales que contienen tensioactivos o grasas; otra desventaja importante de la LLE es el empleo de grandes volúmenes de disolventes orgánicos (Ravelo, 2009).

Existen dos disolventes ampliamente utilizados para la extracción de pesticidas: hexano y diclorometano. La extracción con diclorometano se puede usar para la determinación de plaguicidas organofosforados (OP), organonitrados (ON) y N-metilcarbamatos. También es eficaz para triazinas. La extracción con hexano o mezclas hexano-éter etílico, se suele usar para la determinación de plaguicidas organoclorados y piretroides en agua (Ravelo, 2009).

#### **6.3.1.2.2 Microextracción en fase sólida (SPME).**

Con la técnica SPME (figura 7), los analitos de baja o media polaridad son extraídos de muestras acuosas o gaseosas en una fibra de sílice fundida, recubierta de una fase sólida adsorbente, generalmente polimérica, comercialmente estas fibras incluyen Polidimetilsiloxano (PDMS) como el más popular adsorbente, poliacrilatos, copolímeros de PDMS con divinilbenceno y copolímeros de polietilenglicol con divinilbenceno (Vidal, Cortada, Pastor, Santiago y Canals 2009).

El proceso de SPME se puede ver afectado por una serie de variables experimentales que pueden ser modificadas para incrementar la eficacia de los procesos de extracción y desorción. Entre estas variables se encuentran la agitación de la muestra, que aumenta la difusión de los analitos desde la matriz a la fibra, el tiempo y la temperatura de extracción, que se deben de controlar de manera rigurosa para alcanzar una buena reproducibilidad, el

tipo y volumen de disolvente de desorción (si la desorción es por disolvente orgánico), o bien la temperatura y el tiempo de desorción (si la desorción es térmica) (Sereshti, Shegefti, y Sadami, 2010). En lo que respecta a la desorción de los analitos, esta se realiza de acuerdo al proceso de análisis que se llevará a cabo. En el caso de la Cromatografía de gases, la desorción es un proceso sencillo basado en el calentamiento de la fibra en el puerto de inyección del cromatógrafo, mientras que en HPLC la desorción requiere una pequeña cantidad de disolvente en una cámara de desorción adecuada (Buchberger y Zaborsky, 2007). En el año 2015, se estudió el empleo de corcho como un sustituto de los polímeros en las fibras de la SPME, el corcho es un biosorbente, renovable y, al ser un material natural es biodegradable, mientras que durante el proceso de extracción los resultados obtenidos son similares a los que se obtienen con fibras comerciales; por esta razón, es un método aplicable en técnicas de extracción (Carasek, Neves, Simão y Merib, 2015).

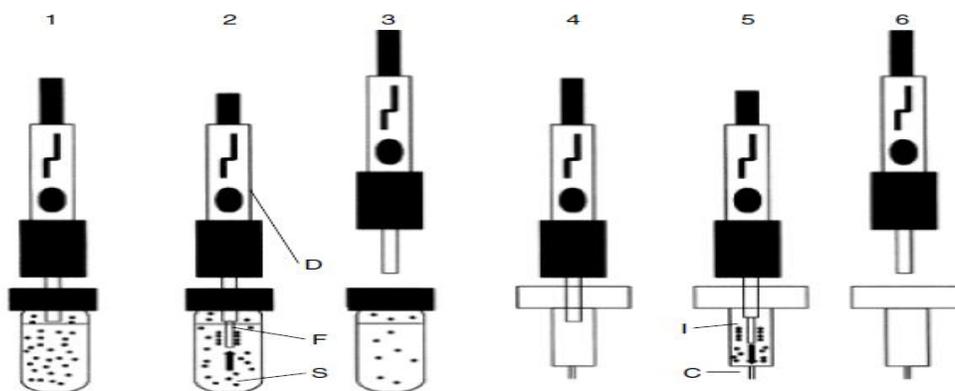


Figura 7. Principio de la SPME. 1: introducción de la aguja de la jeringa del dispositivo de SPME (D) en el vial de muestra (S). 2: movimiento de la fibra (F) en posición fuera de la jeringa y la muestra (extracción). 3: introducción de la fibra dentro de la jeringa y transferencia subsiguiente del dispositivo al puerto inyector del cromatógrafo de gases (I). 4: penetración del tabique con la aguja de la jeringa. 5: movimiento de la fibra fuera de la jeringa (desorción). 6: introducción de la fibra dentro de la jeringa y retiro de la aguja del tabique (Wells, 2003).

### 6.3.2 Técnicas para análisis de pesticidas organoclorados

#### 6.3.2.1 Cromatografía de gases (CG)

En cromatografía de gases, una fase móvil (gas portador) y una fase estacionaria (relleno de la columna o recubrimiento en una columna capilar) se utilizan para separar los compuestos individuales de una mezcla. El gas portador puede ser nitrógeno, argón, helio o hidrógeno. La longitud, el diámetro de la columna, la temperatura del horno, flujo del gas portador y el tipo de detector son las variables controlables. Cuando la solución de la muestra se introduce en la columna los compuestos orgánicos son vaporizados y movidos a través de la columna por el gas portador. Ellos viajan a través de la columna a diferentes velocidades,

dependiendo de las diferencias en el coeficiente de reparto entre la fase móvil y la fase estacionaria

Hay varios detectores disponibles para su uso con sistemas de cromatografía de gases:

- a) Detector de conductividad electrolítica, se utiliza en el análisis de pesticidas, herbicidas, productos farmacéuticos y nitrosaminas,
- b) Detector de Captura de Electrones (ECD, por sus siglas en inglés) se utiliza generalmente para el análisis de compuestos que tienen altas afinidades de electrones como los plaguicidas clorados y sus metabolitos y
- c) Detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés)

Las concentraciones de los solutos eluidos son proporcionales al área de los picos bajo los máximos registrados. Las integraciones electrónicas en los instrumentos de cromatografía de gases imprimen las áreas de los máximos y generalmente también sus tiempos de retención. El método de adiciones de estándar es una técnica útil para efectuar calibraciones, en especial para muestras ocasionales. A una o más alícuotas de la muestra se les mezcla con una concentración conocida del estándar, y el incremento en el área del máximo es proporcional a la cantidad del estándar. Este método tiene la ventaja de verificar que el tiempo de retención del analito desconocido sea igual al del estándar.

Una de las principales razones por las que se usa ampliamente la CG en los análisis es la sensibilidad conseguida. El FID fácilmente mide nanogramos ( $10^{-9}$ g) y los detectores más selectivos como el ECD y el PID alcanzan los picogramos ( $10^{-12}$ g). Debido a esta sensibilidad, la CG es un método preferido para el análisis de trazas, particularmente de plaguicidas, herbicidas y contaminantes orgánicos del aire y del agua (Vega, 2007). Análisis de trazas de pesticidas organoclorados o sus metabolitos en agua por lo general se llevan a cabo por cromatografía de gases (CG) equipado con detector de captura de electrones (ECD) (Eaton, 1998).

## **6.4 VALIDACIÓN DEL MÉTODO**

### **6.4.1. Definición e importancia de la validación en medidas químicas**

La validación es un proceso para establecer las características y limitaciones de un método analítico y para identificar las influencias que pueden modificar esas características y en qué medida (Sandoval, 2010).

Para que los resultados de la validación sean confiables, los diseños empleados deben ajustarse a algunas de las guías y/o documentos técnicos emitidos por instituciones, comités y/o publicaciones reconocidas internacionalmente. En el campo de análisis de agua (industrial, de consumo humano y aguas residuales) las referencias documentales más utilizadas tratan el tema de una manera más general, sin profundizar en el mismo. Es de señalar que, sin estar vinculadas a un campo de análisis en específico, las guías de EURACHEM y de IUPAC consideran las situaciones que en general pueden presentarse en un laboratorio de ensayo (Crubellati y di Risio, 2009).

## 6.4.2 Parámetros medidos en una validación

### 6.4.2.1 Límite de detección y límite de cuantificación

Cuando las mediciones se realizan a niveles trazas, es importante conocer la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado, este parámetro recibe el nombre de límite de detección (LD). En segundo lugar, es adicionalmente importante establecer el nivel más bajo en el cual el desempeño es aceptable para una aplicación típica, a este, se le llama límite de cuantificación (LC) (Morillas, 2016). El límite de detección y cuantificación del instrumento se obtiene a partir de medidas directas en el instrumento de blanco, blanco fortificado o blancos de muestra, mientras que para la determinación del límite de detección y cuantificación del método es necesario el análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de tratamiento, antes de inyectarse en el instrumento. Usualmente la guía EURACHEM recomienda como mínimo 10 réplicas en condiciones de repetibilidad.

En la práctica, el LD se calcula como la desviación estándar obtenida de mediciones realizadas a niveles bajos del analito multiplicada por 3.3 y el LC se obtiene multiplicando la desviación estándar por un factor 10, tal como se muestran en las siguientes ecuaciones (Morillas, 2016).

$$LD = 2t_{(1-\alpha; v)} \times S \quad LD = 3.3 \times S$$

$$LC = 10 \times S$$

Donde:

S = desviación estándar de las repeticiones

LD = límite de detección

LC=límite de cuantificación

### 6.4.2.2 Linealidad

La linealidad se define como la relación lineal entre la señal y la concentración del analito. Para los métodos cuantitativos es necesario conocer el rango en el cual un método presenta linealidad. En el extremo inferior del rango de concentración, los factores limitantes son los límites de detección o cuantificación. El extremo superior está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad (Sandoval, 2010). Como criterio de aceptabilidad de la linealidad se utiliza el coeficiente de correlación, en el cual,  $r \geq 0.98$  (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2010).

### 6.4.2.3 Exactitud

La exactitud expresa la proximidad de un resultado al valor verdadero. (Sandoval, 2010).

Una determinación práctica del sesgo se basa en la comparación del promedio del método candidato con un valor de referencia adecuado ( $x_a$ ). Existen tres enfoques generales: a) análisis de materiales de referencia, b) experimentos de recuperación utilizando muestras

adicionadas y c) comparación con resultados obtenidos mediante otro método. Los estudios de sesgo deben cubrir el alcance del método y, por lo tanto, pueden recurrir al análisis de diferentes tipos de muestra y/o diferentes niveles del analito (Morillas, 2016). El sesgo puede expresarse en términos absolutos como:

$$S = x - x_a$$

Donde:

S = sesgo

x = lectura obtenida o valor promedio de las lecturas obtenidas

$x_a$  = valor asignado, valor del material de referencia o valor esperado

Recuperación: la fortificación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original. Por lo cual, la recuperación esta intrínsecamente relacionada a las características de la matriz de la muestra. Se calcula de la siguiente manera:

$$\%R = \frac{C_e - C}{C_a} \times 100$$

Donde:

% R = porcentaje de recuperación

$C_e$  = concentración del analito de la muestra enriquecida

C = concentración del analito en la muestra sin adicionar patrón

$C_a$  = concentración del analito adicionado a la muestra enriquecida

#### **6.4.2.4 Precisión**

La precisión podrá establecerse en términos de la repetibilidad y reproducibilidad.

a) Repetibilidad: es la precisión bajo las condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método en ítems de análisis idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador utilizando el mismo equipo dentro de intervalos cortos de trabajo. Se puede determinar registrando a lo menos 6 mediciones bajo las mismas condiciones (Morillas, 2016).

b) Reproducibilidad: grado de concordancia entre los resultados de mediciones del mismo mensurando efectuadas bajo condiciones de medición modificadas. Es el caso de realizar diversas réplicas en diversos días cambiando instrumento, analista e incluso el laboratorio. Se evalúa realizando medidas por duplicado, durante 6 a 15 días diferentes. (Morillas, 2016).

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 Materiales, reactivos y equipos instrumentales**

#### Reactivos

- Estándares de endrin: marca Sigma-Aldrich, pureza 99.1%
- Hexano: marca Fisher chemical, grado HPLC
- Gas de arrastre: nitrógeno
- Agua destilada

#### Materiales

- Frascos de vidrio color ámbar con capacidad de 1 L, provistos de tapón de vidrio esmerilado.
- Material de vidrio: beaker, probetas, pipetas graduadas de 1 mL, balones volumétricos de 10 mL, balones para rotavaporar, embudos de separación y embudos de vidrio.
- Otros materiales: hieleras, frascos lavadores, aros metálicos, pinza de sostén, pinza de extensión, micropipetas de 100 µL y micrespátulas de metal.

#### Equipos instrumentales

- Cromatógrafo de gases GC-2014 SHIMADZU, equipado con detector de captura de electrones (ECD), un autoinyector y una columna capilar HP 1 de 30 metros x 0.32 mm x 0.25 µm.
- Balanza analítica
- Rotavapor

### **7.2 Procedimiento experimental**

#### **7.2.1 Preparación de soluciones**

- Solución madre 1000 mg/L de endrin: se pesó 0.01 gramos de estándar de endrin en un balón volumétrico de 10 mL al cual se le añadió 2 mL de hexano y se agitó hasta disolver el endrin. Una vez disuelto se procedió a aforar con hexano.
- Solución intermedia de 2 mg/L: se tomaron 20 µL de la solución de 1000 mg/L, se depositó en un balón volumétrico de 10 mL y se aforó con hexano.
- Solución de 20 µg/L: se tomaron 250 µL de la solución de 2 mg/L, se depositó en un balón volumétrico de 25 mL y se aforó con hexano.

#### Preparación de curva de calibración del endrin

- Para la preparación de la curva de calibración se tomaron diversos volúmenes de la solución de 20 µg/L, los cuales son detallados en la tabla 6.

Tabla 6. Datos de la curva de calibración utilizada para la cuantificación del endrin por CG/ECD

Punto	Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )	Volumen de solución tomado (mL)
1	0.50	0.25
2	2.50	1.25
3	5.00	2.50
4	7.50	3.75

### 7.2.2 Análisis cromatográfico

Las mediciones de áreas del endrin utilizadas para el proceso de validación y análisis de muestras se llevó a cabo mediante cromatografía de gases con ECD, cuyas condiciones cromatográficas son detalladas en la tabla 7.

Tabla 7. Condiciones cromatográficas a utilizar en la determinación de Endrin en muestras de agua por CG/ECD

Condiciones cromatográficas	Valores
Volumen inyectado en el cromatógrafo	1 $\mu\text{L}$
Temperatura del inyector	280 $^{\circ}\text{C}$
Temperatura del detector	320 $^{\circ}\text{C}$
Gas portador	Nitrógeno
Caudal del gas portador	2.5 mL/min

Para el horno del cromatógrafo se trabajó con una programación de temperatura como la que se muestra en la figura 8.

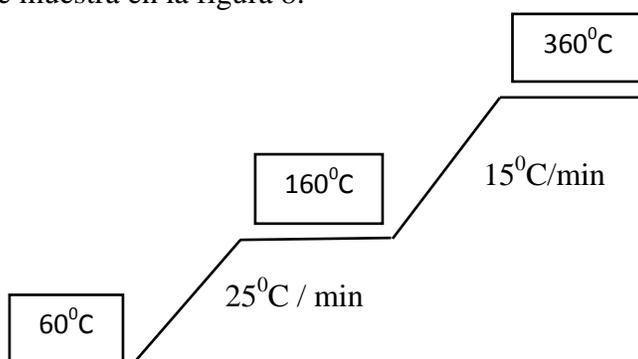


Figura 8. Programación de temperatura utilizada en el horno

### Determinación del tiempo de retención del endrin

Se tomó 1  $\mu\text{L}$  de la solución de 20  $\mu\text{g/L}$  de endrin y se inyectó en el cromatógrafo de gases, registrando el tiempo de retención del pico a los 10.26 minutos.

### 7.2.3 Validación del método

#### 7.2.3.1 Determinación de la linealidad.

- Se inyectó 1 µL de solución de cada punto de la curva de calibración y se determinó el área producida por las soluciones a diferentes concentraciones. Cada punto de la curva de calibración se inyectó por lo menos 2 veces y se determinó el promedio de las medidas realizadas.
- Con el promedio de las mediciones realizadas fueron construidas 2 curvas de calibración.
- Se determinaron los coeficientes de correlación a cada una, comparándolos con el criterio de aceptación establecido en la Guía de validación fisicoquímica del Organismo Salvadoreño de Acreditación en su versión 2010.
- Con los datos obtenidos mediante la medición de las 2 curvas de calibración se procedió a comparar la variabilidad entre estas, mediante el empleo de ANOVA de un factor.

#### 7.2.3.2 Determinación de la exactitud.

La evaluación de la exactitud se realizó mediante la utilización del porcentaje de recuperación, midiendo para tal fin señales producidas por muestras y muestras fortificadas:

- Muestra: se extrajo 100 mL de muestra utilizando extracción líquido- líquido, se concentró a 10 mL y se inyectó 1 µL en el Cromatógrafo de gases. Se realizaron 3 medidas.
- Muestra fortificada: se fortificó 100 mL de muestra con una solución de 2.5 µg/L de endrin, se extrajo, se concentró a 10 mL y se midió en el Cromatógrafo de gases. Se realizaron 3 medidas.
- Con los datos obtenidos a partir de las mediciones de muestra y muestra fortificada se determinó el porcentaje de recuperación para cada día de medición, utilizando la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{C_e - C}{C_a} \times 100$$

Donde:

% R = porcentaje de recuperación

C<sub>e</sub> = concentración del analito de la muestra enriquecida

C = concentración del analito en la muestra sin adicionar patrón

C<sub>a</sub> = concentración del analito adicionado a la muestra enriquecida

- El mismo procedimiento fue realizado durante 6 días diferentes, determinando para cada día un porcentaje de recuperación.
- Los criterios de aceptación se evaluaron tomando como referencia los porcentajes de recuperación establecidos por la AOAC a la concentración de fortificación utilizada

### 7.2.3.3 Determinación de la reproducibilidad

- Se tomó 100 mL de muestra y se fortificó con una solución de 5µg/L de endrin, posterior a ello esta fue concentrada hasta aproximadamente 10 mL y se inyectó 1µL en el Cromatógrafo de gases.
- Con los datos obtenidos a partir de los 9 días de mediciones se determinó si existe diferencia significativa entre grupos de medida, para lo cual se utilizó el ANOVA de un factor.

### 7.2.3.4 Determinación de la repetibilidad

- Para la evaluación de la repetibilidad se realizaron 12 mediciones de una muestra fortificada con solución de 5µg/L de endrin.
- A partir de los datos obtenidos se determinó el coeficiente de variación y se comparó con el coeficiente de variación de Horwitz a la concentración de fortificación utilizada. El criterio de aceptación para la repetibilidad a utilizar en este trabajo establece que, el coeficiente de variación obtenido debe ser menor o igual que la mitad del coeficiente de variación de Horwitz, es decir  $\% CV \leq \% CV_H / 2$  (Sandoval, 2010).

Definiéndose el coeficiente de variación de Horwitz como:

$$\% CV_H = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

Donde:

C = Concentración de fortificación del analito

$\% CV_H$  = Coeficiente de variación de Horwitz

### 7.2.3.5 Determinación del límite de detección y límite de cuantificación

- Para la determinación del límite de detección y el límite de cuantificación se utilizaron 12 medidas de blanco fortificado con una solución de 2.5µg/L. Por lo general, en cromatografía es utilizada una concentración lo suficientemente cercana a cero para la evaluación del límite de detección y límite de cuantificación (Morillas, 2016), tomando como base las concentraciones del orden de µg/L con las que se ha trabajado, es aceptable tomar las medidas producidas al evaluarse cualquiera de los 3 niveles de fortificación empleados en una validación, sin embargo, debido a la falta de hexano al momento de la validación del método únicamente se evaluó un nivel de fortificación de 2.5µg/L para la determinación de los límites de detección y cuantificación.
- A partir de las medidas registradas se calculó la desviación estándar la cual, al ser multiplicada por un factor de 3.3 y 10 se obtienen el límite de detección y el límite de cuantificación respectivamente, tal como se describe en las siguientes ecuaciones:

$$LD = 3.3 S_{BF} \quad LC = 10 S_{BF}$$

Donde:

LD = límite de detección

S = desviación estándar de las mediciones de muestra fortificada

LC = límite de cuantificación

#### 7.2.4 Toma de muestras

Se realizó una primera toma muestras el día 27 de abril de 2017, en el cual se recolectaron 10 muestras de agua de pozos artesanales cuya descripción se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Descripción de la primera toma de muestras de agua, en pozos artesanales del municipio de San Luis Talpa

Número de muestra	Ubicación del lugar de toma de muestra	Descripción y utilización del agua
1	Tecualuya	Pozo artesanal: para lavado y beber
2	Colonia El Establo, cantón Amatecampo	Pozo artesanal: para lavado y beber
3	Colonia Amatecampo, cantón Amatecampo	Pozo artesanal: para lavado
4	Colonia Amatecampo, cantón Amatecampo	Pozo artesanal: para beber después de pasar por filtro de carbón.
5	Caserío Esmeralda, cantón Zambombera	Pozo artesanal: para lavado y consumo.
6	Caserío Los Guidos, cantón Zambombera	Pozo artesanal: agua no filtrada para lavado. Agua filtrada con carbón para beber.
7	Unidad de Salud, Hacienda Santa Clara	Agua de chorro.
8	El Herbedor, cantón San Francisco Amatepe	Pozo artesanal: agua no filtrada para lavado. Agua filtrada con carbón para beber.
9	El Anono, cantón San Francisco Amatepe	Pozo artesanal: agua no filtrada para lavado. Agua filtrada con carbón para beber.
10	Lagarteros, cantón San Francisco Amatepe	Pozo artesanal: agua no filtrada para lavado. Agua filtrada con carbón para beber.

La segunda toma de muestras se llevó a cabo el día 13 de julio de 2017 en el cual se recolectaron 12 muestras de agua utilizadas para consumo de los pobladores, cuya ubicación y descripción es mostrada en la tabla 9.

Tabla 9. Descripción del segundo muestreo de agua, proveniente de pozos artesanales del municipio de San Luis Talpa

<b>Número de muestra</b>	<b>Ubicación del lugar de toma de muestra</b>	<b>Fuente de agua</b>
1	Cantón Santo Tomás	Agua de pozo artesanal, sin tratamiento, que abastece a todo el cantón.
2	Cantón Santo Tomás Escuela	Muestra de agua de pozo artesanal
3	Unidad de salud Santa Lucía, Valle Nuevo	Agua de chorro
4	Hacienda Santa Lucía, calle Cañera	Agua de pozo artesanal
5	Hacienda Santa Lucía	Agua de chorro proveniente de pozo que abastece al caserío
6	El Chaguitón, calle Central frente a la escuela	Agua de chorro proveniente de pozo que abastece al caserío
7	El Chaguitón, final calle Central, la ceiba	Agua de chorro proveniente de pozo que abastece al caserío
8	El Chaguitón, calle Central	Pozo artesanal
9	El Chaguitón, calle Central	Pozo artesanal
10	El Chaguitón frente al portón de la comunidad El Chaguitón	Pozo artesanal
11	Nuevo Edén, calle Nuevo Edén	Agua de chorro proveniente de pozo que abastece al caserío
12	Unidad de salud de San Luis Talpa	Agua de chorro

- Se extrajeron muestras de agua de pozos artesanales e inmediatamente se midieron parámetros como temperatura, pH y conductividad eléctrica.
- Los frascos a utilizar en el muestreo fueron enjuagados tres veces con la respectiva muestra a almacenar.
- Se midieron 1L de cada muestra y se almacenaron en la hielera para ser transportadas al laboratorio.

### **7.2.5 Proceso de extracción de las muestras**

- Se filtró la muestra a través de un embudo de vidrio, para la eliminación de partículas sólidas.
- Se tomaron 100 mL de muestra filtrada y se depositaron en un embudo de separación.
- Se tomaron 10 mL de hexano y se añadieron al embudo de separación. Se agitó el embudo conteniendo muestra más hexano y se dejó reposar durante 10 minutos para la completa separación de las 2 capas formadas.

- Las 2 capas formadas fueron separadas en depósitos diferentes, a la fase acuosa se le adicionó nuevamente 10 mL de hexano y se procedió a repetir el proceso de extracción. Este procedimiento fue realizado en 3 ocasiones,
- Los 30 mL de fase orgánica fueron concentrados en un rotavapor hasta un volumen de aproximadamente 10 mL. Este volumen fue depositado en un balón volumétrico de 10 mL y, en caso de ser necesario se procedió aforar con hexano.

### 7.3 Comparación de los resultados en muestras de agua

- Los datos obtenidos fueron evaluados respecto al límite máximo permisible establecido en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable, a través de la utilización de un contraste de significancia en la cual se compara la media experimental de cada muestra con un valor ya conocido (Miller y Miller, 2002), tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$$t_{cal} = \frac{(x - \mu) \sqrt{n}}{s}$$

Donde:

$\bar{X}$  = Media experimental

$\mu$  = Valor conocido (límite máximo permisible del endrin)

n = Número de repeticiones

s = Desviación estándar de las mediciones

La hipótesis planteada es la siguiente,  $H_0$ : No existe diferencia estadísticamente significativa entre la media experimental y el límite máximo permisible del endrin

Para la evaluación de  $H_0$  se tomó en consideración el siguiente planteamiento, si  $t_{cal} > t_{crit}$  a un nivel de confianza del 95% se rechaza  $H_0$  por lo tanto, se puede afirmar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media experimental de cada muestra y el límite máximo permisible del endrin.

La utilización de la prueba de significancia para la comparación de una media experimental con un valor ya conocido, da la certeza que en este trabajo de investigación las concentraciones de endrin encontradas en las muestras analizadas son lo suficientemente bajas para ser tomadas como posibles desencadenantes de intoxicaciones en los pobladores del área de estudio.

## 8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 8.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

#### a) Evaluación de la linealidad

Las ecuaciones de regresión lineal obtenidas a partir de las mediciones de 2 curvas de calibración del endrin junto a sus respectivos coeficientes de determinación y correlación son mostradas en la tabla 10. Tomando en consideración los valores de los coeficientes de correlación ( $r$ ) de cada curva de calibración que presentaron un  $r$  mayor a 0.99 se puede afirmar que estos cumplen con el criterio de aceptación en el cual  $r \geq 0.98$ , para el establecimiento de la linealidad (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2010), por lo tanto el método empleado presenta linealidad en el rango de concentraciones estudiado en el que se incluye el límite máximo permisible del endrin.

Tabla 10. Resumen de curvas de calibración y sus correspondientes coeficientes de correlación

Número de curva de calibración	Ecuación	Coefficiente de determinación $r^2$	Coefficiente de correlación $r$
1	$Y = 1307.3X + 710.81$	0.9883	0.9941
2	$Y = 1676.8X + 292.09$	0.9995	0.9997

En la tabla 11 se muestra un resumen de las mediciones realizadas durante la evaluación de la linealidad tomando como base la construcción de 2 curvas de calibración medidas en diferentes días y con cuatro puntos cada una, a su vez se obtienen los valores de la curva de calibración promedio, los cuales son usados para la obtención del coeficiente de correlación promedio mostrado en la figura 9.

Tabla 11. Valores de la curva de calibración promedio del endrin

Nivel	Concentración $\mu\text{g/L}$	Áreas de la curva 1	Áreas de la curva 2	Promedio
1	0.5	1035.75	1111.50	1073.63
2	2.5	4184.33	4425.00	4304.67
3	5.0	7756.67	8847.00	8301.84
4	7.5	10129.00	12774.67	11451.83

De acuerdo al gráfico de la curva de calibración promedio mostrado en la figura 9 se puede observar que mediante la aplicación de mínimos cuadrados se obtiene un coeficiente de determinación de 0.9966, lo cual establece un coeficiente de correlación bastante bueno con un valor de 0.9982, valor superior al indicado como criterio de aceptación para la linealidad establecido por el Organismo Salvadoreño de Acreditación.

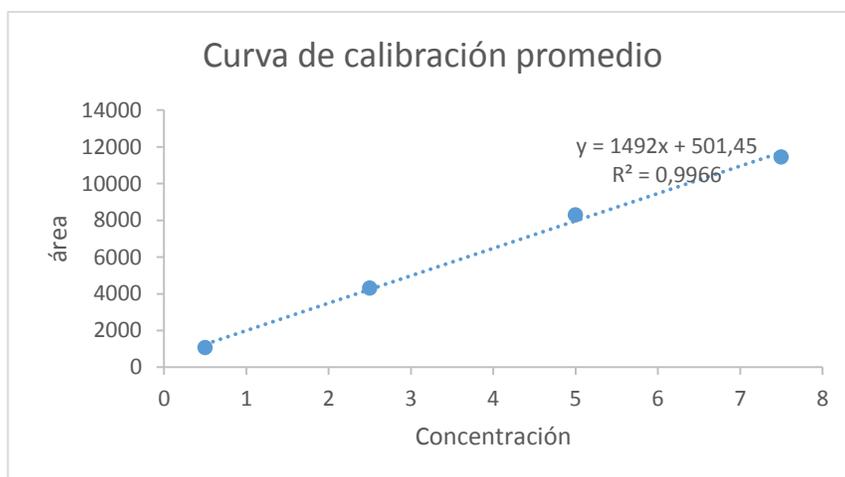


Figura 9. Gráfico de la curva de calibración promedio del endrin

### b) Análisis de variabilidad entre curvas de calibración usando ANOVA

Para la evaluación de la variabilidad entre las 2 curvas de calibración del endrin se utilizaron como base los datos mostrados en la tabla 11, cuyo análisis se realizó a partir de la aplicación de ANOVA de un factor, obteniendo los resultados mostrados en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis de varianzas para regresión lineal

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	2052760.44	1	2052760.44	0.0979362	5.9873776
Dentro de los grupos	125761098	6	20960183.11		
Total	127813859	7			

La hipótesis planteada fue  $H_0$ : a un 95 % de confianza no existe diferencia estadísticamente significativa entre las 2 curvas de calibración.

Como  $F_{cal} < F_{crit}$  a un 95 % de confianza se acepta  $H_0$ , por lo que se puede asegurar que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las curvas de calibración, lo cual indica que independientemente de la utilización de cualquiera de las 2 curvas de calibración en un análisis para la obtención de concentraciones a partir de las áreas medidas, no habrá diferencia significativa en los resultados.

### c) Evaluación de la exactitud

En la tabla 13 se muestran las áreas con sus respectivas concentraciones obtenidas a partir de las mediciones de muestras y muestras fortificadas con solución de 2.5  $\mu\text{g/L}$  de endrin, datos que son utilizados en el cálculo de porcentajes de recuperación para 6 días de mediciones diferentes y cuyos resultados son mostrados en la tabla 14.

Tabla 13. Resultados obtenidos para evaluación de la exactitud

Sustancias medidas	N° de test	Resultados por día					
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
Área de muestra sin fortificar	Test 1	1822	1165	1082	1538	654	666
	Test 2	1940	1204	1171	1337	670	688
Concentración de muestra sin fortificar (C)	Test 1	0.93	0.47	0.41	0.73	0.10	0.11
	Test 2	1.02	0.49	0.47	0.51	0.11	0.13
Área de muestra fortificada	Test 1	4273	4194	3767	4137	3630	3376
	Test 2	4677	4131	3799	4098	3511	3669
Concentración de muestra fortificada (C <sub>e</sub> )	Test 1	2.67	2.61	2.31	2.57	2.21	2.03
	Test 2	2.96	2.57	2.33	2.55	2.13	2.24
C <sub>e</sub> - C	Test 1	1.74	2.15	1.90	1.84	2.11	1.92
	Test 2	1.94	2.08	1.86	1.96	2.01	2.11

La Asociación Oficial de Químicos Analíticos AOAC establece que, el porcentaje de recuperación para una concentración de analito añadido (C<sub>a</sub>) que se encuentre entre el intervalo de  $1 \leq C_a < 10 \mu g/L$  puede presentar un porcentaje de recuperación entre el 60% y el 120% (Organismo Salvadoreño de Acreditación, 2010), por lo cual el valor promedio del porcentaje de recuperación de 79 % obtenido a partir de 6 días de mediciones por duplicado mostrado en la tabla 14 es aceptable para el nivel de concentración medido en la matriz analizada, valor que indica exactitud en el método empleado.

Días	1	2	3	4	5	6	Promedio
Recuperación	70	86	76	74	84	77	79%
	78	83	75	78	81	85	

Tabla 14. Porcentajes de recuperación obtenidos

#### d) Evaluación de la reproducibilidad

Resultados por triplicado de 9 días de mediciones en áreas y concentraciones de muestras fortificadas con una solución de 5  $\mu g/L$  de endrin para la evaluación de la reproducibilidad son mostrados en la tabla 15.

Tabla 15. Resultados experimentales de mediciones de muestra fortificada con solución de 5 µg/L de endrin.

N° de test	Descripción	Resultados por día								
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Test 1	Área	5094	7322	7433	6756	7327	7530	7082	7009	6583
	Concentración	2.86	4.19	4.26	4.43	4.20	4.32	4.05	4.01	3.75
Test 2	Área	7527	7377	7548	6323	7464	6868	6901	6742	6560
	Concentración	4.31	4.23	4.33	4.15	4.28	3.92	3.99	3.85	3.74
Test 3	Área	7969	8078	7594	6584	7463	7951	7600	6634	6758
	Concentración	4.52	4.64	4.35	4.31	4.28	4.57	4.36	3.88	3.61

Para la evaluación de la reproducibilidad durante los 9 días de medición de muestra fortificada fue empleado ANOVA de un factor, cuyos resultados de su aplicación son mostrados en la tabla 16.

Tabla 16. Análisis de varianza para evaluación de la reproducibilidad

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos	1.37390	8	0.17174	1.42044	2.51016
Dentro de los grupos	2.17627	18	0.12090		
Total	3.55016	26			

La hipótesis planteada es  $H_0$ : a un 95% de confianza no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos

Como  $F_{cal} < F_{crit}$  a un nivel de confianza del 95% se acepta  $H_0$ . Es decir, se puede asegurar que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, por lo tanto, si cumple lo requerido y el método empleado es reproducible en el rango de tiempo evaluado.

#### e) Evaluación de la repetibilidad

Para la evaluación de repetibilidad se tomó como criterio de aceptación la comparación entre el porcentaje del coeficiente de variación calculado a partir de las mediciones realizadas y el porcentaje del coeficiente de variación de Horwitz a la concentración de fortificación empleada, criterio de aceptación que establece que el coeficiente de variación

obtenido para las mediciones realizadas tiene que ser menor o igual a la mitad del coeficiente de variación de Horwitz es decir  $\% CV \leq \% CV_H / 2$  (Sandoval, 2010).

$$\% CV_H / 2 = 2^{(1-0.5 \log C)} / 2 = 2^{(1-0.5 \log 5 \times 10^{-9})} / 2 = 17.76$$

Como el porcentaje del coeficiente de variación obtenido a partir de las 10 medidas de muestra fortificada con solución de 5 µg/L de endrin presentadas en la tabla 17 es menor que la mitad del coeficiente de variación de Horwitz calculado, se dice que el método cumple con el criterio de aceptación establecido para la repetibilidad.

Tabla 17. Medidas de muestras fortificadas con solución de 5 µg/L de endrin para evaluación de repetibilidad

Descripción	Medidas de muestras fortificadas									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Áreas	7433	7548	7594	7268	7570	7432	7837	7788	7377	7464
Concentración	4.26	4.33	4.35	4.20	4.34	4.26	4.50	4.59	4.23	4.28
<b>Xm</b>	<b>4.33</b>									
<b>S</b>	<b>0.13</b>									
<b>% CV</b>	<b>2.96 %</b>									

#### f) Evaluación del límite de detección y cuantificación

Para la obtención del límite de detección y de cuantificación se evaluó la señal producida por un blanco fortificado con solución de 2.5 µg/L de endrin hechas por duplicado durante 6 días diferentes, obteniendo como resultado un límite de detección de 0.33 µg/L y un límite de cuantificación de 1.01 µg/L, tal como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Medidas para la evaluación del límite de detección y cuantificación

	Concentraciones en µg/L hechas por día						
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	
<b>Blanco fortificado</b>	1.86	2.11	1.86	2.01	2.00	2.17	
	2.04	1.95	1.96	2.10	2.05	1.89	
<b>Xm</b>	1.99	2.01	2.00	2.04	2.03	2.03	1.99
<b>S (precisión)</b>	0.13	0.11	0.07	0.07	0.04	0.20	0.10
<b>% CV</b>	6.67	5.49	3.38	3.37	1.71	9.62	5.03
<b>LD</b>	<b>0.33 µg/L</b>						
<b>LC</b>	<b>1.01 µg/L</b>						

A pesar que los datos sobre la evaluación de la reproducibilidad realizadas a partir de los 11 días de haber elaborado la solución de 5 µg/L de endrin muestran que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se puede observar que la señal producida a partir de la medición de la solución ha disminuido (tabla 15) con respecto a la señal reportada en la medición de las curvas de calibración las cuales fueron realizadas a los 2 y 4

días después de haber sido elaboradas y almacenadas. Cabe señalar que durante el día 8 y 9 ha habido una disminución en la señal y por ende una disminución en la concentración. De igual manera para la evaluación de la exactitud, límite de detección y límite de cuantificación ha sido utilizada una concentración de 2.5 µg/L de endrin, la cual fue medida a partir de los 17 días de haber elaborado la solución reflejando en las medidas realizadas una disminución de aproximadamente 0.5 µg/L de endrin respecto a la concentración reportada.

Debido a tales variaciones en las concentraciones utilizadas para la fortificación de las muestras se realizaron nuevas medidas de la solución de 2.5 µg/L de endrin durante 3 días diferentes con el objetivo de evaluar la variabilidad entre estas con respecto al tiempo y la utilización de material de vidrio diferente al usado en ensayos anteriores. Obteniéndose en promedio 2.48 µg/L, 2.59 µg/L y 1.9 µg/L, en el segundo, cuarto y décimo día de evaluación respectivamente. Cuyo resultado del décimo día refleja una disminución de 0.6 µg/L en comparación a la concentración teórica.

Con la información obtenida a partir de la segunda evaluación de la variabilidad de la concentración de 2.50 µg/L de endrin se confirma una pérdida significativa del analito en solución, descartándose la degradación de este a endrin cetona o endrin aldehído, tomando como base la ausencia de picos pertenecientes a los productos de degradación mostrados en el cromatograma de la figura 10. Se descarta a su vez una posible absorción del analito en el material de vidrio utilizado, reportándose únicamente la absorción en material plástico (Eaton et al. 1998). Tomando en consideración la baja presión de vapor del endrin de  $2 \times 10^{-7}$  torr (Patnaik, 2007) se pensaría que este no se encuentra presente en el aire, sin embargo se han detectado liberaciones significativas en varios estados de Estados Unidos (EPA, 1999), así como también se han identificado concentraciones del endrin en zonas de cultivo de diversas ciudades de Ecuador (Montaño, Resabala y Cadena, 2012), por lo que en este trabajo se ha relacionado cierta pérdida de analito en solución con la volatilización presentada.

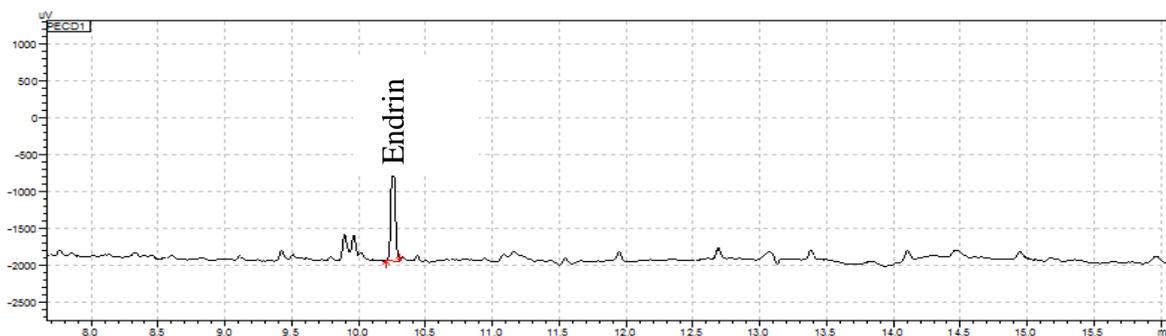


Figura 10. Cromatograma de solución 2.5µg/L de endrin

## 8.2 ANÁLISIS DE MUESTRAS Y PARÁMETROS MEDIDOS IN SITU

Los resultados de los parámetros de la calidad fisicoquímica del agua evaluada en la primera toma de muestra (tabla 19) reflejan que el agua tiene un comportamiento casi neutro, encontrándose con un pH mínimo de 6.49 y un máximo de 7.61 (Ministerio de salud, 2009), mientras que la conductividad eléctrica presenta valores aceptables en cuanto al agua utilizada para consumo humano (Gallardo, 2009).

Tabla 19. Parámetros medidos en muestras de agua (muestreo 1).

N° de muestra	Parámetros medidos								
	Conductividad eléctrica (μS/cm)			pH			Temperatura (°C)		
	Medidas		Promedio	Medidas		Promedio	Medidas		Promedio
<b>1</b>	360	360	360.0	6.5	6.5	6.5	30.5	30.5	30.5
<b>2</b>	290	284	287.0	6.7	6.6	6.6	29.0	29.3	29.2
<b>3</b>	425	434	429.5	6.8	6.8	6.8	30.0	29.9	29.9
<b>4</b>	426	426	426.0	7.6	7.6	7.6	29.0	29.0	29.0
<b>5</b>	446	432	439.0	6.7	6.7	6.7	30.4	30.0	30.2
<b>6</b>	405	407	406.0	6.5	6.5	6.5	30.0	29.7	29.9
<b>7</b>	283	287	285.0	6.7	6.7	6.7	31.1	30.3	30.7
<b>8</b>	460	455	457.5	7.3	7.3	7.3	30.9	30.2	30.6
<b>9</b>	345	325	335.0	7.3	7.3	7.3	29.7	30.5	30.1
<b>10</b>	296	297	296.5	6.6	6.5	6.5	29.4	28.5	28.9

Durante la medición de parámetros fisicoquímicos evaluados en la segunda toma de muestras (tabla 20), se encontró que el pH se mantiene entre valores de 5.97 y 7.59, mientras que la mayor conductividad eléctrica la presentan el agua del pozo 6 y el pozo 9, con valores de 1,491.5 μS/cm y 979.5 μS/cm respectivamente. Reflejando valores que se incluyen dentro de los intervalos establecidos como aceptables en agua para beber establecidos en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:99 (Gallardo, 2009).

Tabla 20. Parámetros medidos en muestras de agua (muestreo 2).

N° de muestra	Parámetros medidos					
	Conductividad eléctrica (μS/cm)			pH		
	Medidas		Promedio	Medidas		Promedio
<b>1</b>	329	334	331.5	6.3	6.3	6.3
<b>2</b>	297	286	291.5	6.1	6.2	6.2
<b>3</b>	245	240	242.5	5.9	5.9	5.9
<b>4</b>	503	500	501.5	5.9	6.0	6.0
<b>5</b>	207	197	202.0	5.8	6.7	6.3
<b>6</b>	1483	1500	1491.5	7.6	7.6	7.6
<b>7</b>	688	681	684.5	6.4	6.4	6.4
<b>8</b>	672	675	673.5	6.7	6.7	6.7

Continuación tabla 20

<b>9</b>	976	983	979.5	6.5	6.5	6.5
<b>10</b>	344	343	343.5	6.2	6.3	6.3
<b>11</b>	377	380	378.5	6.4	6.5	6.5
<b>12</b>	302	295	298.5	6.2	6.3	6.3

La tabla 21 ilustra los resultados obtenidos en las mediciones de la primera toma de muestras, pudiéndose observar que los pozos 1, 4, 7 y 8 carecen de concentraciones detectadas de endrin, mientras que en los pozos restantes se han obtenido concentraciones muy bajas del analito medido.

Tabla 21. Resultados del análisis de muestras de agua (muestreo 1).

N° de muestra	Resultados						
	Área 1	Concentración (µg/L)	Área 2	Concentración (µg/L)	Área 3	Concentración (µg/L)	Promedio
<b>1</b>	263	No detectado	155	No detectado	197	No detectado	No detectado
<b>2</b>	475	0.109	394	0.061	424	0.079	0.083 ± 0.024
<b>3</b>	467	0.104	477	0.110	409	0.069	0.095 ± 0.022
<b>4</b>	389	0.057	417	0.075	460	0.100	0.078 ± 0.021
<b>5</b>	426	0.079	460	0.100	487	0.116	0.099 ± 0.019
<b>6</b>	103	No detectado	64	No detectado	75	No detectado	No detectado
<b>7</b>	67	No detectado	71	No detectado	63	No detectado	No detectado
<b>8</b>	260	No detectado	278	No detectado	234	No detectado	No detectado
<b>9</b>	305	0.007	322	0.018	385	0.055	0.027 ± 0.020
<b>10</b>	337	0.027	313	0.013	309	0.010	0.016 ± 0.09

Los resultados obtenidos en las mediciones de la segunda toma de muestras reflejan concentraciones detectadas únicamente en el pozo 9, careciendo de señales producidas por el endrin en los pozos restantes (tabla 22).

Tabla 22. Resultados del análisis de muestras de agua (muestreo 2).

Número de muestra	Resultados en áreas y concentraciones						
	Área 1	Concentración (µg/L)	Área 2	Concentración (µg/L)	Área 3	Concentración (µg/L)	Promedio
1	141	No detectado	124	No detectado	145	No detectado	No detectado
2	232	No detectado	187	No detectado	205	No detectado	No detectado
3	134	No detectado	133	No detectado	129	No detectado	No detectado
4	92	No detectado	119	No detectado	82	No detectado	No detectado
5	104	No detectado	93	No detectado	72	No detectado	No detectado
6	113	No detectado	97	No detectado	98	No detectado	No detectado
7	240	No detectado	223	No detectado	167	No detectado	No detectado
8	95	No detectado	79	No detectado	140	No detectado	No detectado
9	316	0.0364	496	0.0880	435	0.0852	0.069 ± 0.029
10	141	No detectado	103	No detectado	107	No detectado	No detectado
11	69	No detectado	60	No detectado	75	No detectado	No detectado
12	89	No detectado	85	No detectado	74	No detectado	No detectado

Los resultados obtenidos a partir de las mediciones realizadas a muestras de agua recolectadas en el muestreo 1 y 2 (tabla 21 y 22) reflejan que cada media experimental es significativamente menor respecto a la concentración de 0.6 µg/L de endrin, concentración establecida como el límite máximo permisible registrado en la Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable, cuya evaluación se realizó a través de un contraste de significancia entre la media experimental con un valor conocido, aplicando una prueba t (Miller y Miller, 2002), tal como se describe a continuación:

$$t_{cal} = \frac{(x - \mu) \sqrt{n}}{s}$$

La hipótesis planteada es  $H_0$ : la media experimental no es significativamente menor que  $0.6 \mu\text{g/L}$  de endrin.

Como el valor de  $t_{\text{cal}} > t_{\text{crit}}$  a un nivel de significancia del 95 %, se rechaza  $H_0$ ; por lo tanto la media experimental de cada muestra es significativamente menor que  $0.6 \mu\text{g/L}$  de endrin. Resultados completos de la aplicación del contraste de significancia a cada media experimental son presentados en el anexo 2

## 9. CONCLUSIONES

Las concentraciones de endrin encontradas en las muestras de agua analizadas se ubican por debajo del límite máximo permisible establecido en la Norma Salvadoreña obligatoria NSO 13.07.01:08 sobre agua potable, el cual es de 0.6 µg/L de endrin. Sin embargo, tomando en consideración el límite de detección del equipo de 0.33 µg/L no es posible afirmar la completa ausencia de dicho pesticida en el agua analizada, solamente reportar que no se encuentran concentraciones por arriba del límite de detección.

Durante las evaluaciones del muestreo 1, se identificaron en los cromatogramas la presencia de pequeños picos al minuto 9.98 pertenecientes al dieldrin, sin embargo no fue posible su cuantificación debido a la inestabilidad de la señal producida por las soluciones estándares.

Al evaluar los resultados obtenidos durante las mediciones de los parámetros en el proceso de validación del método, se obtuvieron valores aceptables en cuanto a los criterios de aceptación establecidos por el Organismo Salvadoreño de acreditación (OSA) y la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC). Por lo tanto, el método utilizado en la cuantificación del endrin ofrece confiabilidad en las medidas realizadas.

A pesar que los porcentajes de recuperación obtenidos en la evaluación de la exactitud cumplen con el criterio de aceptación establecido por la AOAC, estos pueden mejorar significativamente si las mediciones de muestra y muestra fortificada son realizadas en un intervalo de tiempo de aproximadamente 6 días a partir del segundo día de haber elaborado las soluciones de estándares utilizadas para la fortificación, tiempo en el cual se ha identificado una estabilidad en la señal producida.

## 10. RECOMENDACIONES

Se recomienda el almacenamiento no prolongado de las soluciones de endrin para evitar la contaminación del material utilizado.

Luego de cada uso del material de vidrio este tiene que ser descontaminado mediante la utilización de mezcla sulfocrómica o calentamiento en mufla a temperaturas superiores a los 245 °C, temperatura de descomposición del endrin (Patnaik, 2007).

Tomando como base la pérdida de analito en solución se recomienda realizar el proceso de validación completo en un intervalo de tiempo de 6 días a partir del segundo día de haber elaborado las soluciones de estándares, con el fin de evitar variaciones significativas en la señal producida.

Debido a la falta de evidencia que demostrara la presencia de endrin en el agua que consumen los pobladores del municipio de San Luis Talpa, se vuelve de suma importancia una amplia medición de analitos relacionados con la insuficiencia renal no solamente en matrices acuosas sino también en muestras de suelo y fluidos corporales, cuya área de estudio incluya todos los cantones y caseríos del municipio.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

Abdollahi, M. y Mostafalou, S. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268, 157-177.

Alcaldía municipal de San Luis Talpa. (2016). Alcaldía municipal de San Luis Talpa, La Paz. Recuperado de [www.sanluistalpa.org](http://www.sanluistalpa.org)

Arrazcaeta, L. (2002). Contaminación de las aguas por plaguicidas químicos. *Fitosanidad*, 3(6), 55-62.

Buchberger, W. y Zaborsky, P. (2007). Sorptive Extraction Techniques for Trace Analysis of Organic Pollutants in the Aquatic Environment. *Acta Chim. Slov.*, 54, 1-13.

Calva, L. G., Torres, M. R. (1998). Plaguicidas organoclorados. *Contactos*, 30, 35-46.

Carasek, E., Neves, A., Simão, V., y Merib, J. (2015). Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas Chromatography-electron capture detection. *Talanta*, 134, 409- 414.

Cuellar, N. (2001). La contaminación del agua en El Salvador: Desafíos y respuestas institucionales. *Prisma*, 43, 1- 16.

Crubellati, R y di Risio, C. (ed.). (2009). *Aspectos prácticos de la validación e incertidumbre en medidas químicas* (1.<sup>a</sup> ed.). Buenos Aires.

Eaton, A., Clesceri, L. y Greenberg, A. (Eds.). (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20<sup>th</sup> ed. Washington, D.C

El-Shahawi, M. S., Hamza, A., Bashammakh, A.S., y Al-Saggaf, W. (2010). An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. *Talanta*, 80, 1587-1597.

Fernández N., Pujol E. y Maher S. (2012). *Los plaguicidas aquí y ahora* (1.<sup>a</sup> ed.). Buenos Aires: McGraw-Hill Interamericana.

Fondo de la Iniciativa para las Américas El Salvador y Universidad Centroamericana José Simeón Cañas. (2008). *Determinación de la contaminación por plaguicidas en agua, suelo, sedimentos y camarones en los cantones Salinas del Potrero y Salinas de Sisiguayo en la Bahía de Jiquilisco*. Recuperado de [http://www.uca.edu.sv/investigacion/documentos/DocumentoUCA\\_FIAES.pdf](http://www.uca.edu.sv/investigacion/documentos/DocumentoUCA_FIAES.pdf)

Gallardo, C. (2009). *Determinación de la calidad del agua que abastece a cuatro comunidades del cantón el almendro del municipio de Jucuaran, Usulután* (Trabajo de fin de master). Universidad de El Salvador, El Salvador.

Hernández, A., Parron, T., Requena, M., Alarcón, R. y López-Guarnido, O. (2013). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human Health. *Toxicology*, 307, 136-145.

Mejías, J. y Jerez, J. (s. f.). *Guía para la toma de muestras de residuo de plaguicidas*. Recuperado de <http://www.sag.cl/sites/default/files/GUIA/PLAGUICIDAS.pdf>

Miller, J. N. y Miller, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. (4<sup>a</sup> ed.). Madrid: Pearson educación.

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2000). *Plaguicidas autorizados para su comercialización y uso y, plaguicidas prohibidos en El Salvador*. San Salvador: Autor.

Ministerio de Salud. (2009). *Norma salvadoreña obligatoria*. (NSO 13.07.01:08). San Salvador, El Salvador: Autor.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2012). *Estrategia nacional de saneamiento ambiental*. Recuperado de <http://www.marn.gob.sv/descargas/Documentos/2016/05/EstrategiaNacionalAmbiental.pdf>

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2014). *Informe de la calidad del agua de los ríos. El Salvador*. San Salvador, El Salvador: Autor.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2015). *Plan Nacional de Gestión Integrada del Recurso Hídrico de El Salvador, con énfasis en zonas prioritarias*. San Salvador, El Salvador: Autor.

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2013). *Primer y segundo informe de evaluación ambiental por potencial contaminación de plaguicidas en suelos y agua de pozos en la ex planta formuladora QUIMAGRO y sus alrededores* (Informe N° 1). Recuperado de <http://www.marn.gob.sv/marn-realiza-segundo-muestreo-en-comunidad-cercana-a-explanta-quimagro/7>. Pdf

Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales y Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2012). *Plan de implementación sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)*. San Salvador, El Salvador: Autor.

Montaño, M., Resabala, C. y Cadena, J. (2012). *Línea base de los contaminantes orgánicos persistentes en la matriz aire del Ecuador*. Ecuador: Ministerio del medio ambiente.

Morillas, p. (ed.). (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos-una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados* (1.<sup>a</sup> ed.)

Organismo Salvadoreño de Acreditación. (2010). *Validación de métodos analíticos fisicoquímicos*. El Salvador.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2013). *Afrontar la escasez del agua: Un marco de acción para la agricultura y la seguridad alimentaria* (Informe N° 38). Recuperado de <http://www.unesco.org/new/es/natural-sciences/environment/water/wwap.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. (2016). *Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo*

2016: *agua y empleo*. Recuperado de <http://www.unesco.org/new/es/natural-sciences/environment/water/wwap/>. Pdf

Oscan, S., Tor, A., y Emin. M. (2011). Analytical methods for viable and rapid determination of organochlorine pesticides in water and soil samples. En M., Stoytcheva (ed.), *Pesticides, strategies for pesticides analysis* (p. 59-82).Turquía.

Parvathaneni, N., Ferro R., y Patel S. (2012). Pesticides and Breast Cancer. *Advances in Breast Cancer Research*, 1, 30-35.

Patnaik, P. (2007). *A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances* (3<sup>th</sup> ed.). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Ravelo, M. L. (2009). *Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios* (Tesis doctoral). Universidad de la Laguna.

Roig, B., Mnif, W., Hadj, A., Bouaziz, A., Bartegi, A. y Thomas, O. (2011). Effect of Endocrine Disruptor Pesticides. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 8, 2265-2303. doi: 10.3390/ijerph8062265

Sandoval S. (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre validación de métodos*. Recuperado de [http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento\\_tecnico/2010/12/.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/.pdf)

Sereshti, H., Shegefti, S., y Sadami, S. (2010). Determination of Endosulfan in water samples using dispersive liquid-liquid micro-extraction and experimental design for optimization. *Int. J. Environ. Res.*, 4(2), 237-246.

Simal-Gándara, J., Arias-Esteves, M., López-Periago, E., Mejuto, J., García- Ríos, L. (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture ecosystems & environment*, 123, 247-260.

Smith, R. (2003). Before the injection modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 1000, 3-27.

Tiryaki, O., Temur, C. (2010). The fate of pesticide in the environment. *J. BIOL. ENVIRON. SCI.*, 4(10), 29-38

Vega de Kuyper, J. (2007). *Química del medio ambiente* (2.<sup>a</sup> ed.). México: Alfaomega.

Vidal, L., Cortada, C., Pastor, R., Santiago, N., y Canals, A. (2009). Determination of organochlorine pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas Chromatography mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 649, 218-221.

Wallace, A., Casabar, R., Das, P., DeKrey, G., Gardiner, C., Cao, Y., y Rose, R. (2010). Endosulfan induces CYP2B6 and CYP3A4 by activating the pregnane X receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 335-343.

Wells, M. J. (2003). Principles of extraction and the extraction semivolatiles from liquid. En J. D. Winefordner (Ed.), *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry* (p. 37-131). Tennessee.

# ANEXOS

## Anexo 1. Proceso de tratamiento de la muestra

**Paso 1. Filtración**



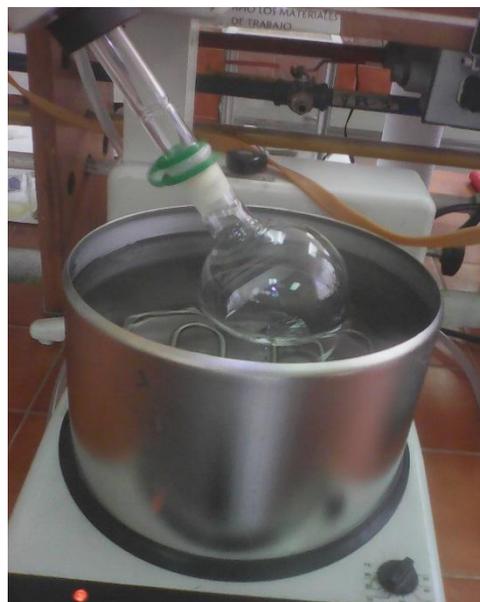
**Paso 2. Extracción**



**Paso 4. Inyección**



**Paso 3. Concentración**



### Sistema utilizado para concentración de extractos



### Cromatógrafo de gases utilizado en mediciones



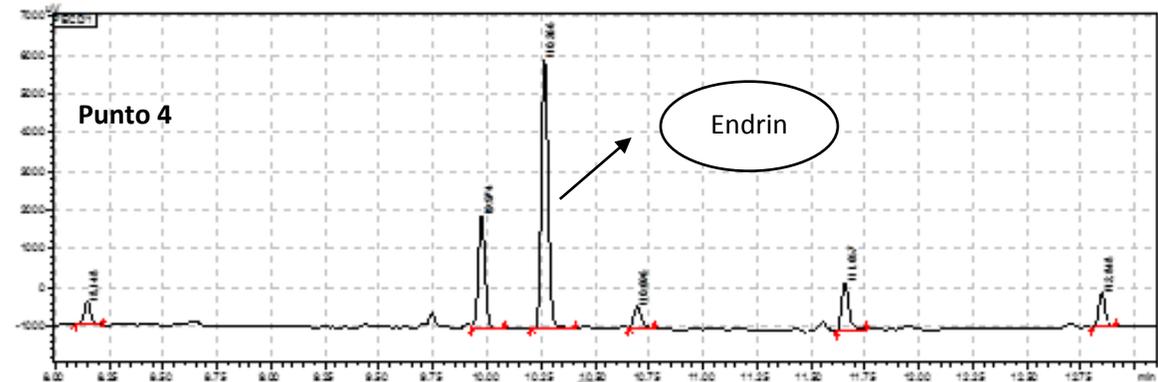
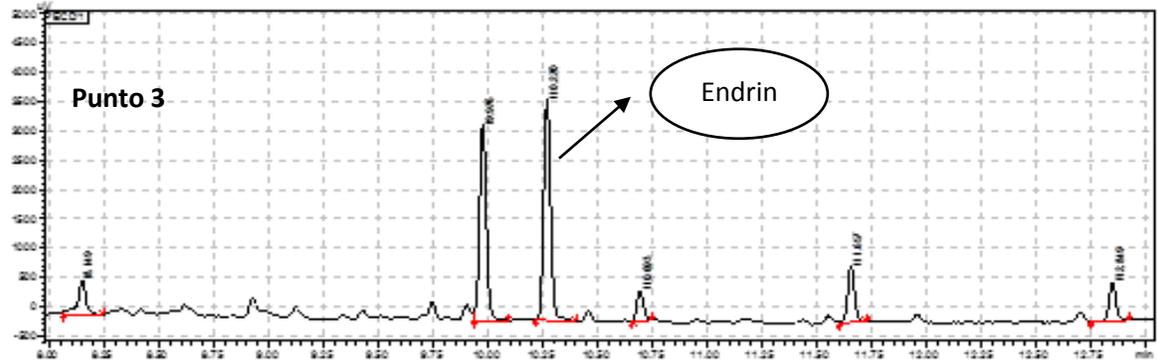
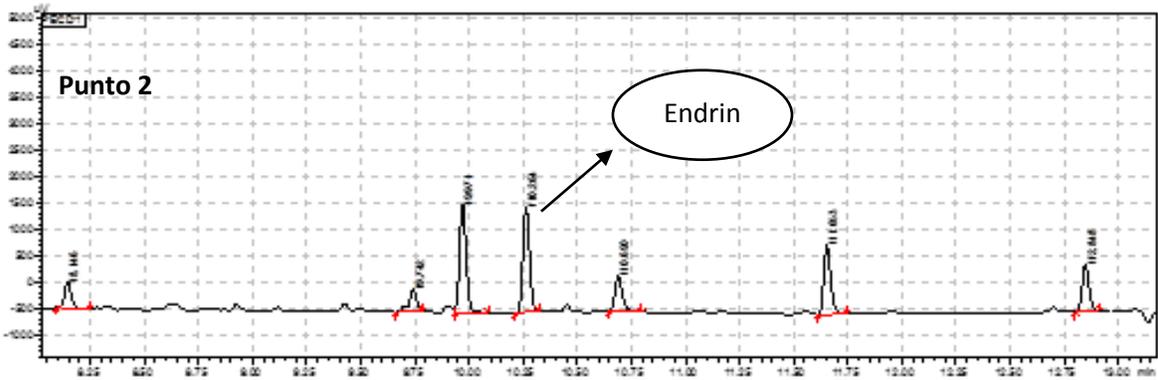
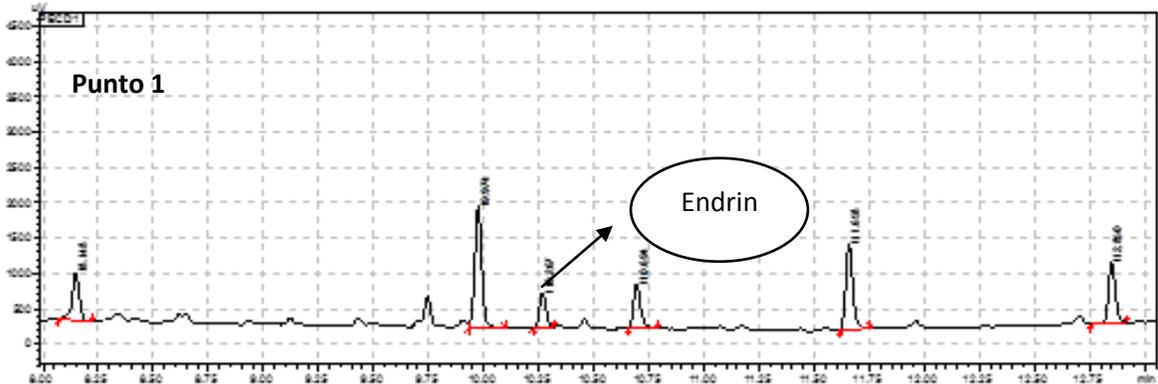
## Anexo 2. Comparación de la media experimental con límite máximo permisible del

### Endrin

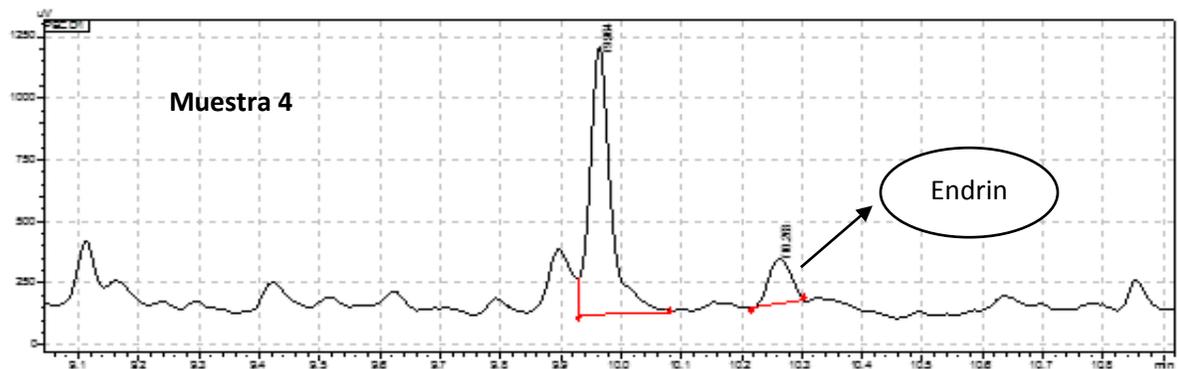
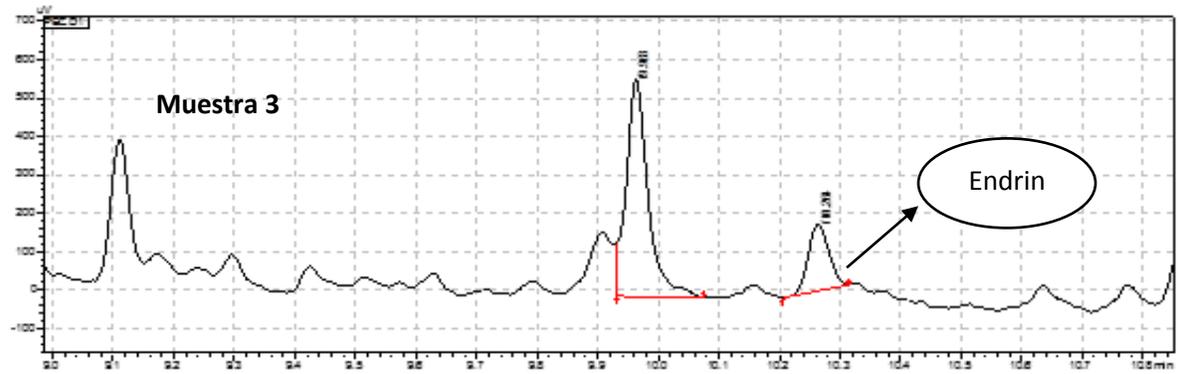
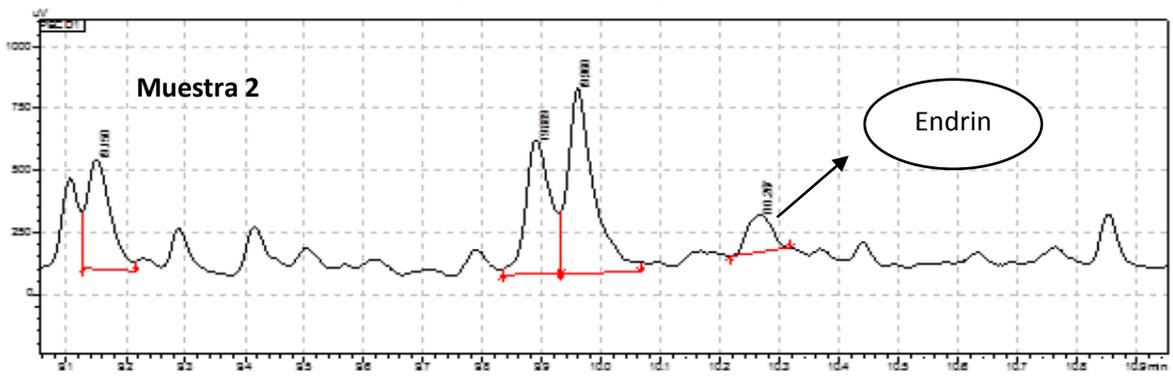
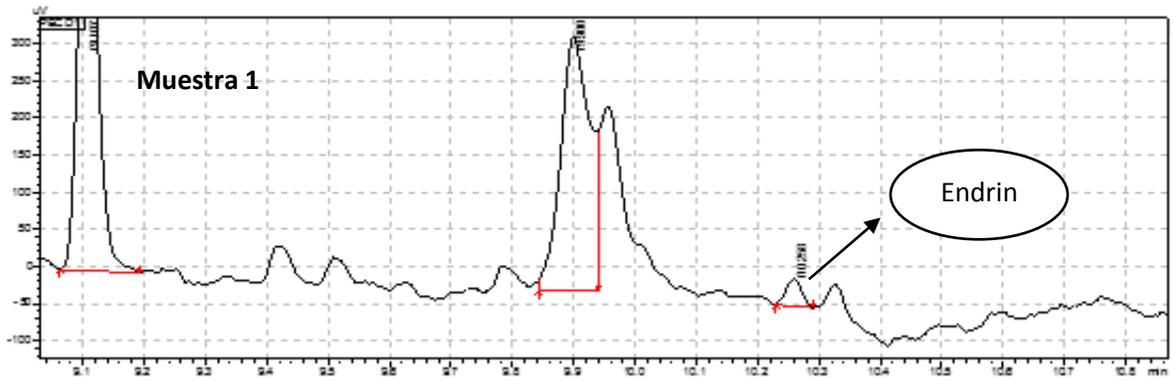
N° muestra	M1	M2	M3	Xm	$\mu$	n	s	t calculado	t crit. (95%)	¿Hay diferencia significativa?
<b>Muestreo 1</b>										
1	No detectado									
2	0.11	0.06	0.08	0.08	0.60	3	0.02	36.93	2.92	SÍ
3	0.10	0.11	0.07	0.09	0.60	3	0.02	39.55	2.92	SÍ
4	0.06	0.08	0.10	0.08	0.60	3	0.02	42.82	2.92	SÍ
5	0.08	0.10	0.12	0.10	0.60	3	0.02	46.83	2.92	SÍ
6	No detectado									
7	No detectado									
8	No detectado									
9	0.01	0.02	0.06	0.03	0.60	3	0.03	40.09	2.92	SÍ
10	0.03	0.01	0.01	0.02	0.60	3	0.01	111.35	2.92	SÍ
<b>Muestreo 2</b>										
1	No detectado									
2	No detectado									
3	No detectado									
4	No detectado									
5	No detectado									
6	No detectado									
7	No detectado									
8	No detectado									
9	0.04	0.09	0.09	0.07	0.60	3	0.03	31.64	2.92	SÍ
10	No detectado									
11	No detectado									
12	No detectado									

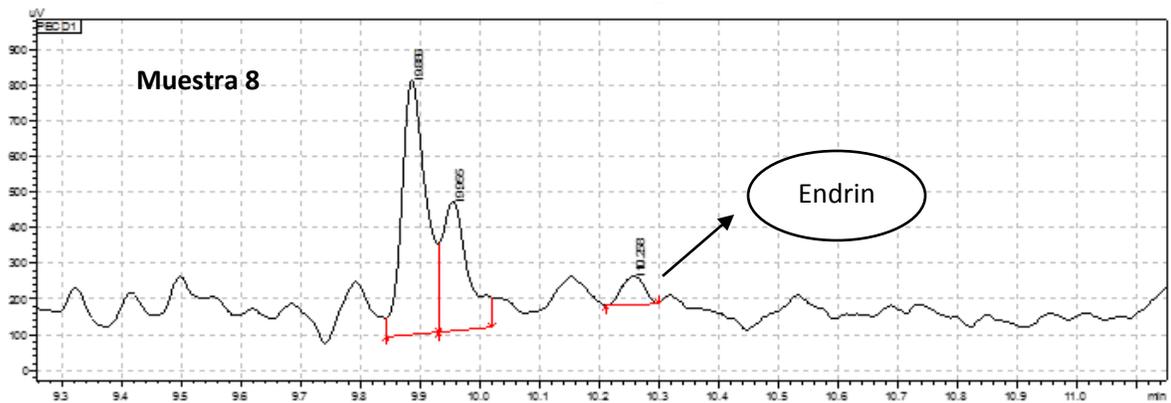
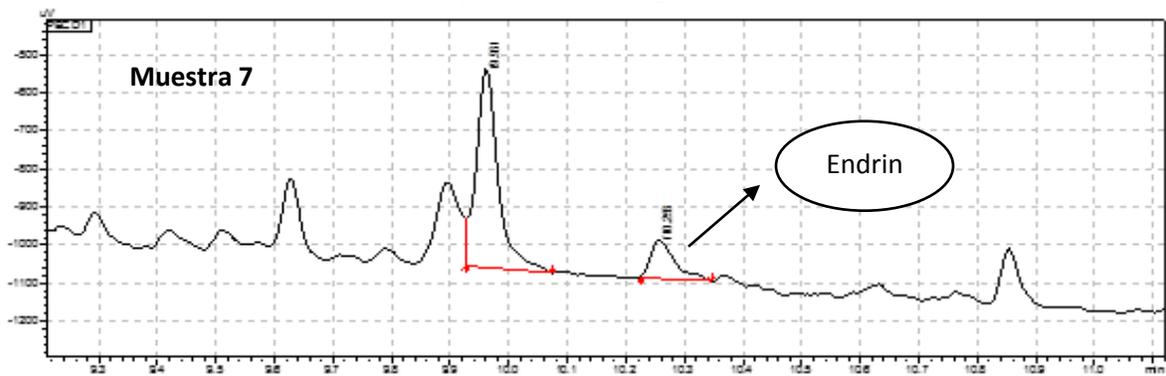
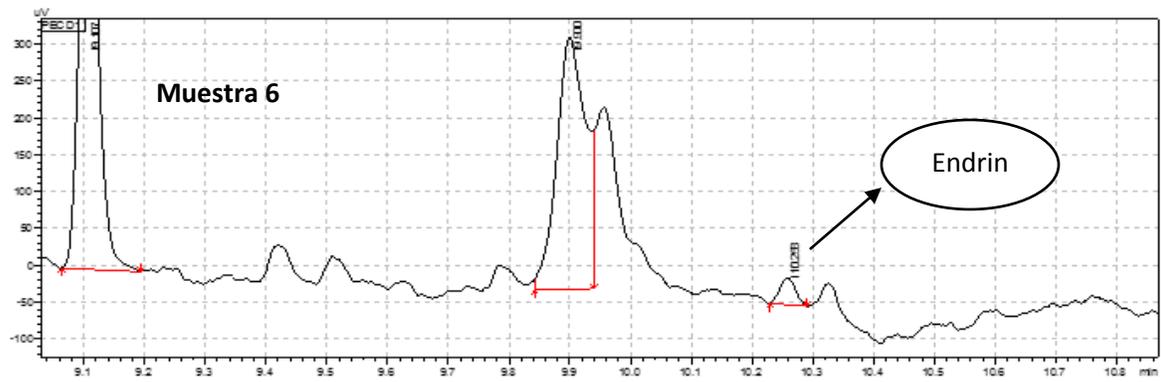
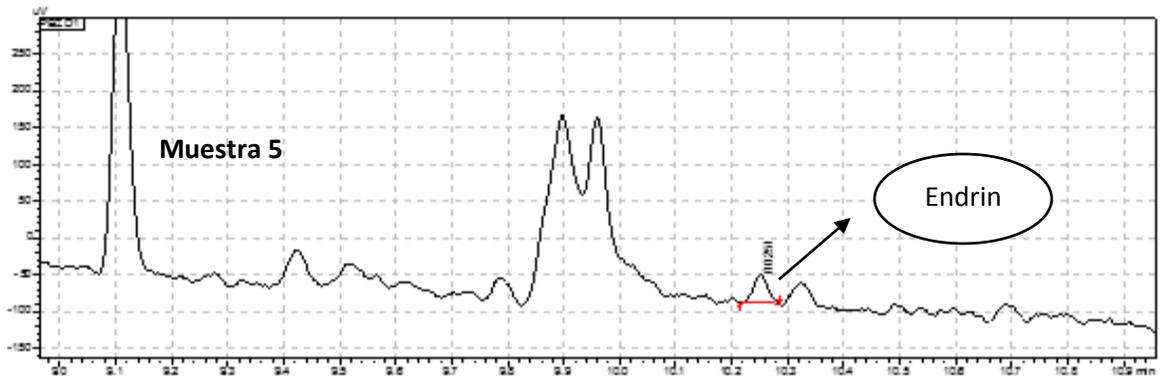
### Anexo 3. Cromatogramas

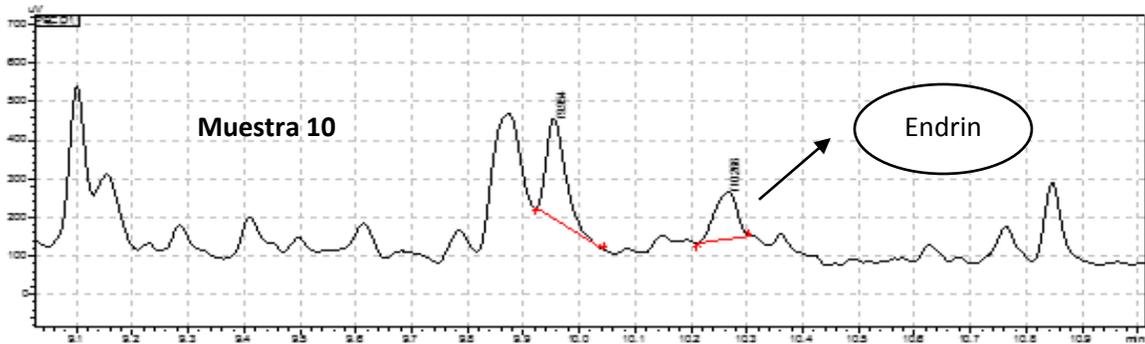
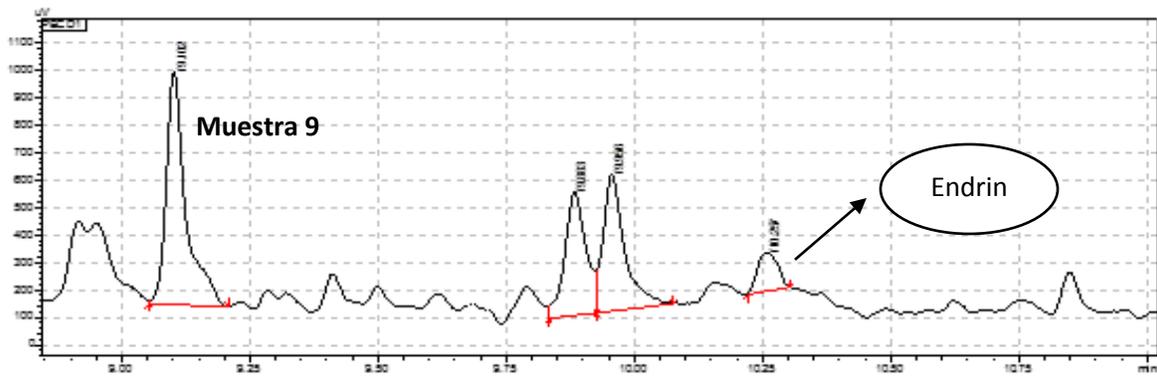
#### a) Cromatogramas de la curva de calibración 1



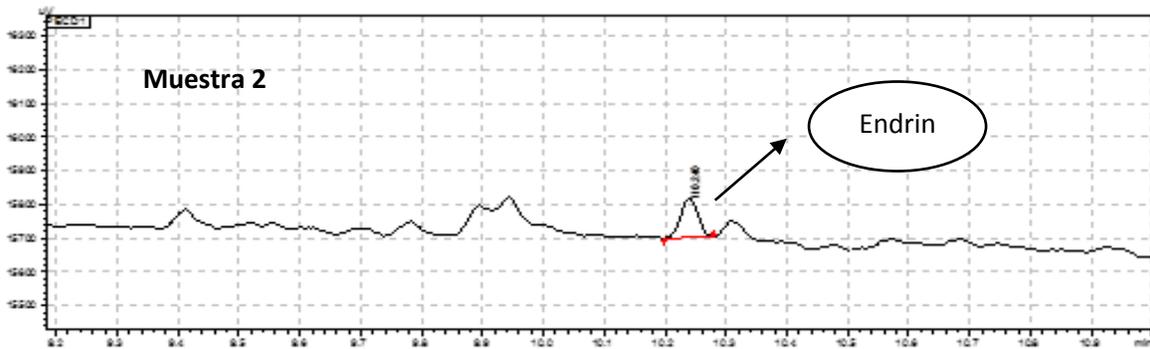
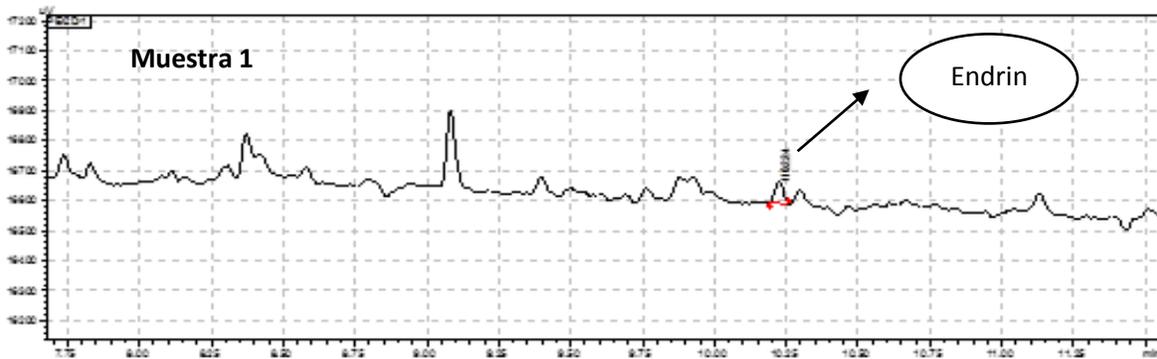
**b) Cromatograma de muestras de San Luis Talpa, muestreo 1**

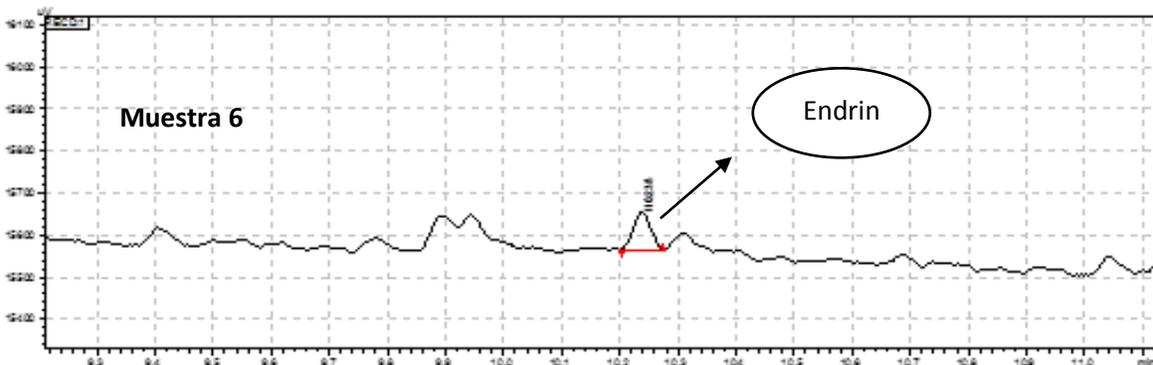
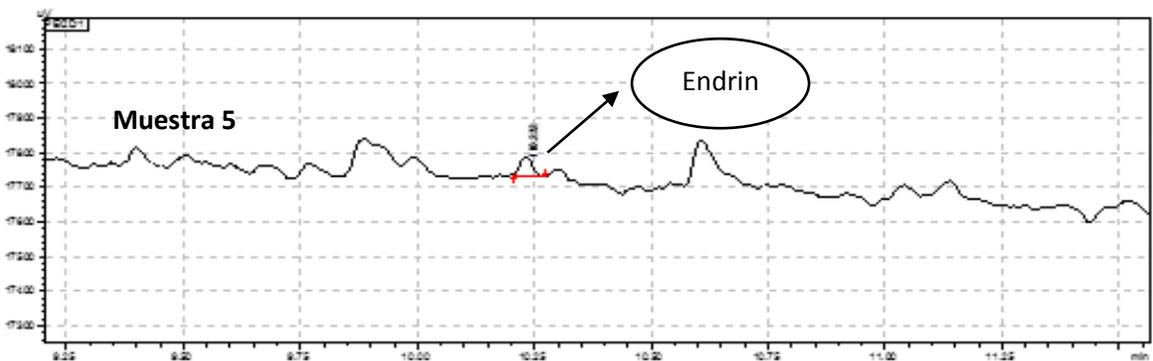
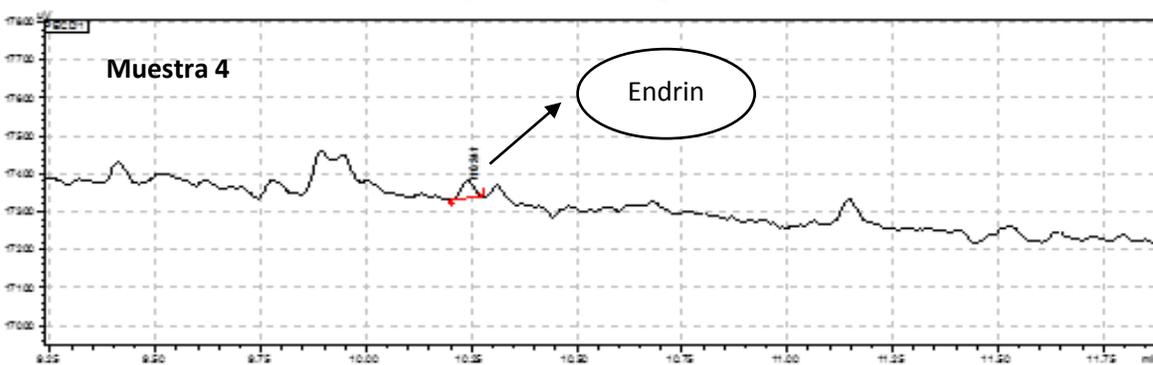
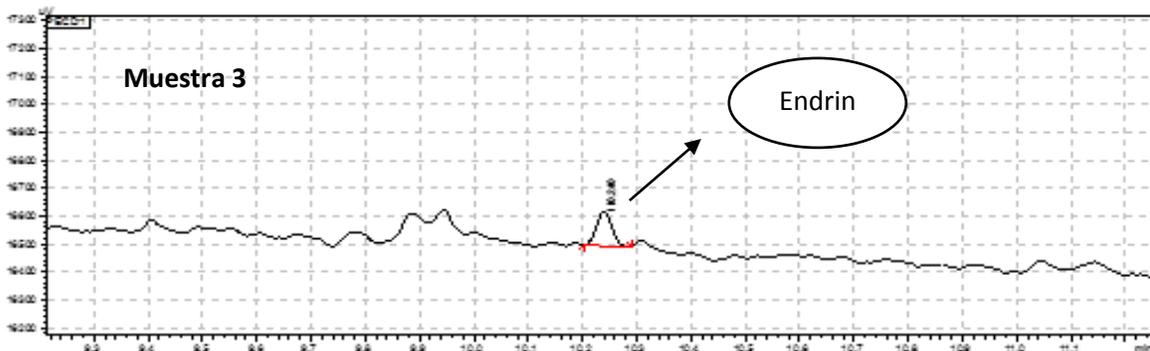


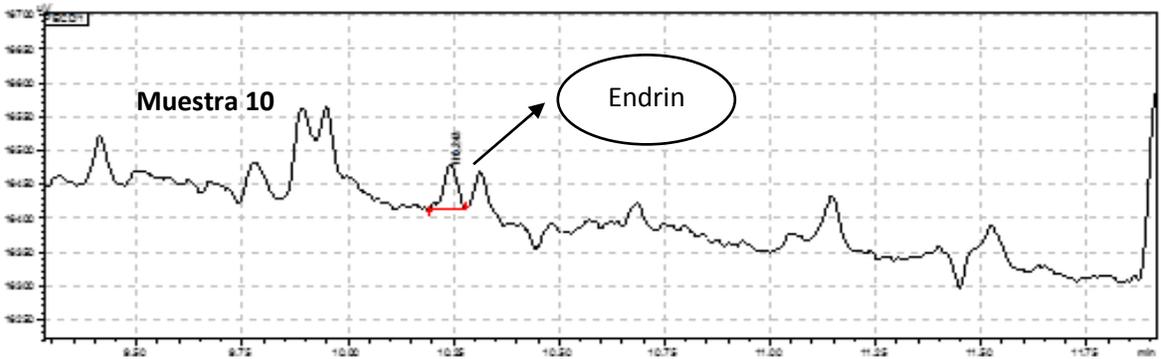
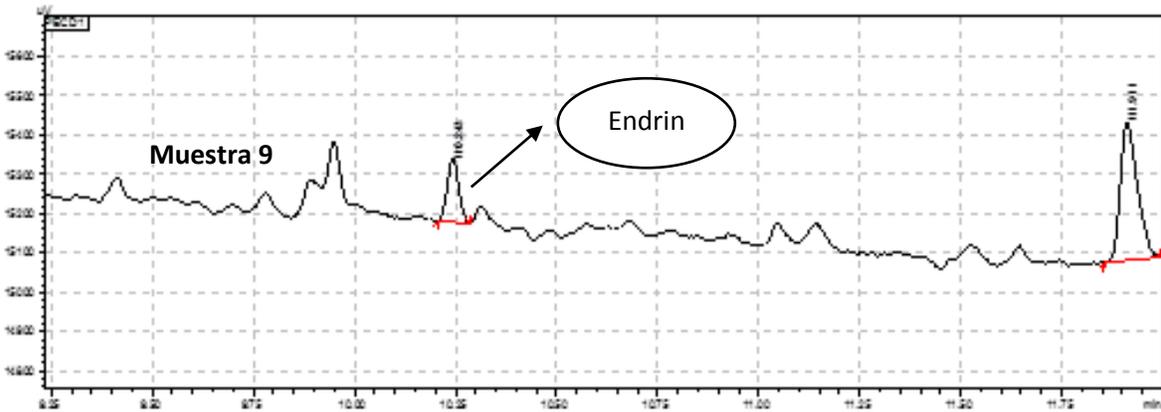
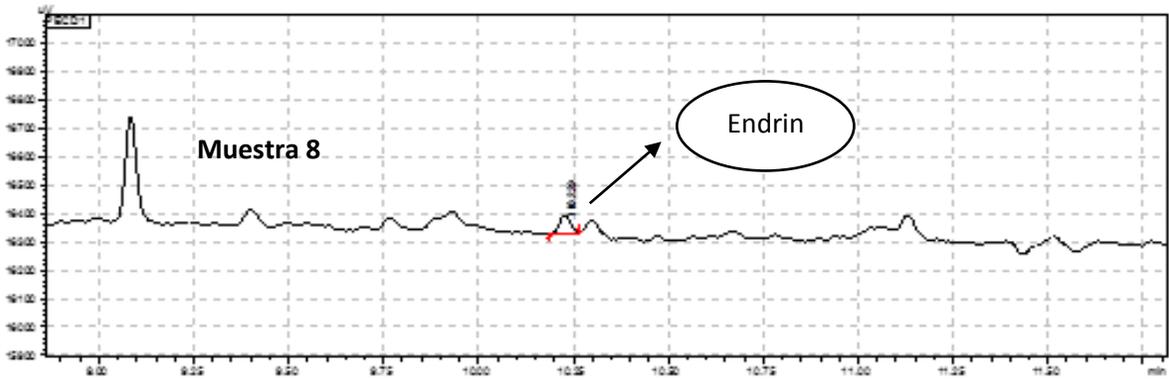
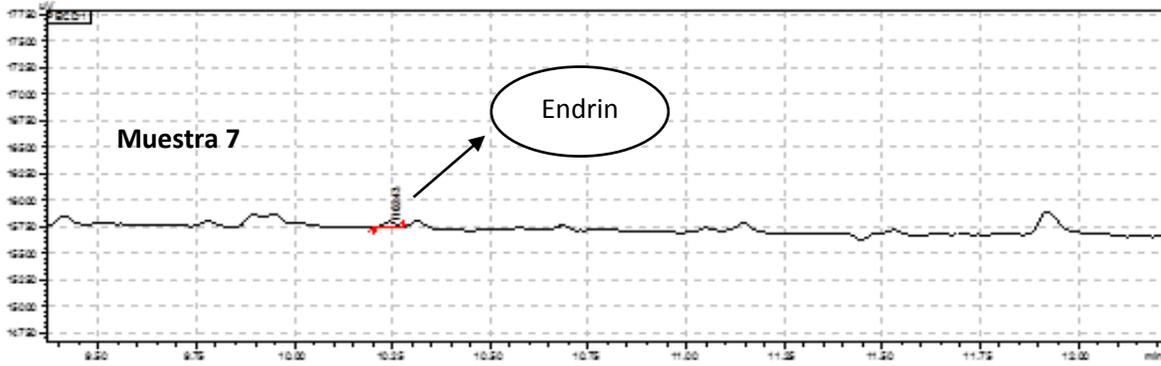


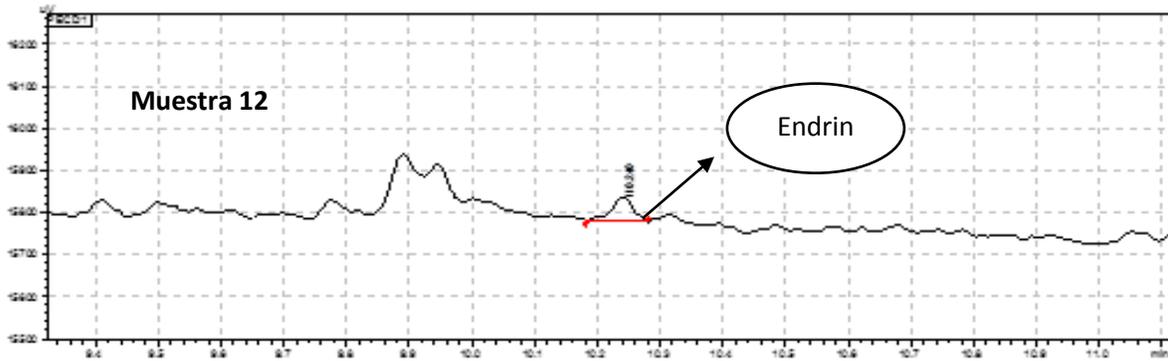
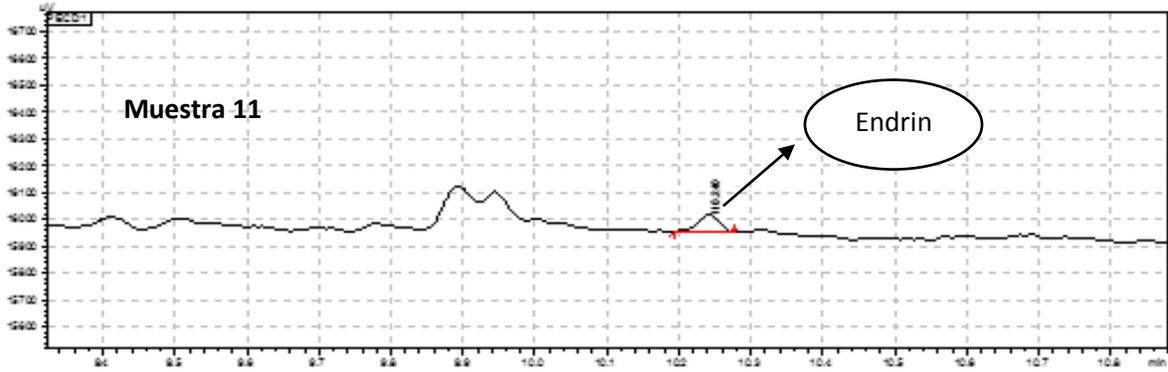


**c) Cromatogramas de muestras de San Luis Talpa, muestreo 2**

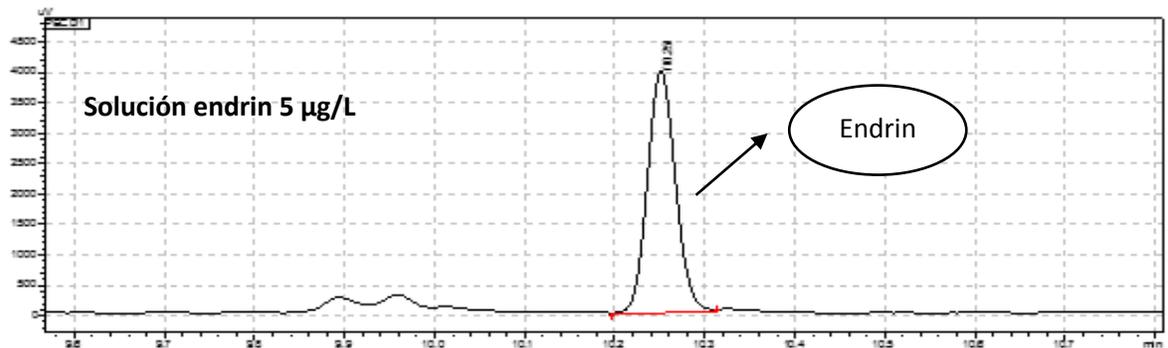
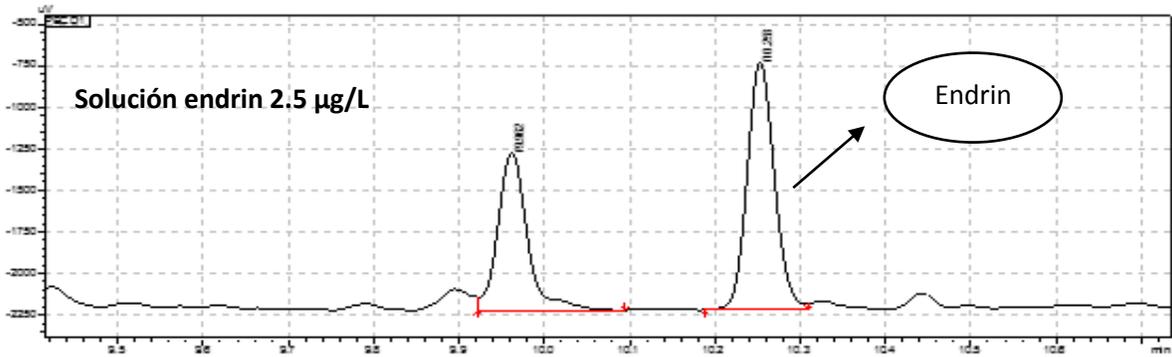








**c) Muestras fortificadas con solución de endrin**



#### Anexo 4. Tablas de referencia AOAC

##### Criterios de aceptación para porcentaje de recuperación

Concentración del Analito	Intervalo
100%	98 % - 101 %
10%	95 % - 102 %
1%	92 % - 105 %
0.1%	90 % - 108 %
0.01 %	85 % - 110 %

##### Criterios de aceptación para porcentaje de recuperación

Concentración del Analito	Intervalo
$\geq 100 \mu\text{g/kg}$ ó $\mu\text{g/L}$ (ppb)	80 % - 110 %
$\geq 10 < 100 \mu\text{g/kg}$ ó $\mu\text{g/L}$ (ppb)	70 % - 110 %
$\geq 1 < 10 \mu\text{g/kg}$ ó $\mu\text{g/L}$ (ppb)	60 % - 120 %
$\leq 1 \mu\text{g/kg}$ ó $\mu\text{g/L}$ (ppb)	50 % - 120 %

### Anexo 5. Ecuaciones utilizadas

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

$$\% CV = \frac{S}{X} \times 100$$

$$S = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X)^2}{n - 1}$$

Estructura de una tabla ANOVA de un factor

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados (SS)</b>	<b>v</b>	<b>Cuadrado medio (MS)</b>	<b>F calculado</b>	<b>F crítico</b>
Entre grupos	SS <sub>e</sub>	p-1	MS <sub>e</sub> = SS <sub>e</sub> / p-1	MS <sub>e</sub> / MS <sub>i</sub>	
Intra grupos (residuales)	SS <sub>i</sub>	N-p	MS <sub>i</sub> = SS <sub>i</sub> / N-p		
Total	SS <sub>total</sub> = SS <sub>e</sub> + SS <sub>i</sub>	N-1			