

# 8089UY

## Determinación de plaguicidas en aguas naturales

Extracción Líquido-Líquido y determinación  
por Cromatografía Gaseosa (GC) con detector  
de  $\mu$ ECD



---

Elaborado - L. Diana, J. López

---

Modificado - C. Capeci

---

Revisado - A. Mangarelli, Jefe Departamento de Análisis Instrumental

---

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental

---



## 1. APLICACIÓN

1.1. Esta normativa técnica es aplicable para la determinación de 43 plaguicidas en muestras de aguas naturales, en los rangos de trabajo especificados:

Tabla 1- Listado de plaguicidas validados para la presente metodología analítica

Name	Nombre	Número CAS	Rango de trabajo (µg/L)	Límite de cuantificación (µg/L)
Diuron	Diuron	330-54-1	0,008-0,2	0,008
Atrazine deisopropyl	Atrazina desisopropil	1007-28-9	0,1-0,60	0,1
Atrazine desethyl	Atrazina desetil	6190-65-4	0,02-0,60	0,02
Trifluralin	Trifluralina	1582-09-8	0,004-0,02	0,004
Simazine	Simazina	122-34-9	0,2-1,2	0,2
Hexachlorobenzene	Hexaclorobenceno	118-74-1	0,002-0,01	0,002
Atrazine	Atrazina	1912-24-9	0,05-1,2	0,05
Lindane	Lindano	58-89-9	0,0004-0,01	0,0004
Diazinon	Diazinon	333-41-5	0,004-0,08	0,004
Parathion methyl	Metil Paratión	298-00-0	0,002-0,04	0,002
Chlorpyrifos methyl	Clorpirifós metil	277-011-5	0,0008-0,02	0,0008
Alachlor	Alacloro	15972-60-8	0,002-0,04	0,002
Heptachlor	Heptacloro	76-44-8	0,004-0,02	0,004
Malathion	Malatión	121-75-5	0,01-0,06	0,01
Aldrin	Aldrin	309-00-2	0,0008-0,02	0,0008
Heptachlor epoxide (isomer B)	Heptacloro epóxido (isómero B)	1024-57-3	0,0008-0,02	0,0008
Captan	Captan	133-06-2	0,002-0,04	0,002
Fipronil	Fipronil	120068-37-3	0,0008-0,02	0,0008
Chlordane (Trans)	Clordano (Trans)	5103-74-2	0,0008-0,02	0,0008
o,p' DDE	o,p' DDE	3424-82-6	0,0008-0,02	0,0008
Alpha Endosulfan	Endosulfan alfa	959-98-8	0,0008-0,02	0,0008
Chlordane (Cis)	Clordano (Cis)	5103-71-9	0,0008-0,02	0,0008
Dieldrin	Dieldrin	60-57-1	0,0008-0,02	0,0008
p,p' DDE	p,p' DDE	72-55-9	0,004-0,02	0,004
o,p' DDD	o,p' DDD	53-19-0	0,0008-0,02	0,0008
Endrin	Endrin	72-20-8	0,0008-0,02	0,0008
Beta Endosulfan	Endosulfan beta	33213-65-9	0,0008-0,02	0,0008
p,p' DDD	p,p' DDD	72-54-8	0,0008-0,02	0,0008
o,p' DDT	o,p' DDT	789-02-6	0,0008-0,02	0,0008
Ethion	Etión	563-12-2	0,002-0,04	0,002
Endosulfan sulfate	Endosulfan sulfato	1031-07-8	0,0008-0,02	0,0008
p,p' DDT	p,p' DDT	50-29-3	0,0008-0,01	0,0008
Trifloxystrobin	Trifloxiestrobina	141517-21-7	0,004-0,02	0,004
Fluroxypyr (methylheptyl ester)	Fluroxipir (éster metilheptil)	69377-81-7	0,008-0,04	0,008
Methoxychlor	Metoxiclor	72-43-5	0,004-0,02	0,004
Mirex	Mirex	2385-85-5	0,0008-0,02	0,0008
Lambda-Cyhalothrin	Lambda-Cialotrina	91465-08-6	0,002-0,04	0,002
Permethrin	Permetrina	52645-53-1	0,002-0,04	0,002
Cyfluthrin	Ciflutrina	68359-37-5	0,002-0,04	0,002
Cypermethrin	Cipermetrina	52315-07-8	0,002-0,04	0,002
Deltamethrin	Deltametrina	52918-63-5	0,002-0,04	0,002
Azoxystrobin	Azoxiestrobina	131860-33-8	0,003-0,08	0,003

## 2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico - Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.4. Carpeta de funcionamiento y mantenimiento de equipos – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.5. Instructivo de uso del cromatógrafo de gases HP 6890 (INE 67)
- 2.6. Procedimiento de preparación de soluciones de referencia, para el análisis multiresiduos de plaguicidas (PGC 22)
- 2.7. Instructivos de uso de balanzas (según corresponda INE 06, INE 07, INE 93 o INE 115)
- 2.8. Ruta de análisis de plaguicidas en aguas naturales (RIN 44)
- 2.9. Registro de Identificación y confirmación de plaguicidas en muestras (RIN 50)
- 2.10. Registro de curva de calibración para análisis de plaguicidas por L-L GC (RIN 52)
- 2.11. Registro de controles de calidad para análisis de plaguicidas por L-L GC (Scope acotado) (RIN 53-A)
- 2.12. Registro de controles de calidad para análisis de plaguicidas por L-L GC (Scope completo) (RIN 53-B)
- 2.13. Instructivo de uso de la bomba de vacío Gast (INE 02)
- 2.14. Instructivo de uso centrifuga Eppendorf 5810 (Rotor A-4-81) (INE 124)
- 2.15. Instructivo de uso de rotavapores (INE 114)
- 2.16. Instructivo de uso de concentrador de muestras Labconco modelo RapidVap (INE 127)
- 2.17. Instructivo de uso de desionizador Milli-Q (INE 121)
- 2.18. Instructivo de uso de baño de agua con ultrasonido (INE 108)
- 2.19. Instructivo de uso Agitador orbital (INE 117)
- 2.20. Instructivo de uso de mufla (INE 27)
- 2.21. Instructivo de uso de estufa (INE 107, INE 101)
- 2.22. Especificaciones mínimas de calidad para reactivos y agua utilizada en el Laboratorio Ambiental de DINAMA (ES 01)

## 3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. Los plaguicidas son extraídos de la matriz agua utilizando acetato de etilo como solvente extractante. El proceso es asistido por agitación mecánica y mediante ultrasonido. La separación de fases es favorecida por el uso de centrifugación. El extracto es concentrado inicialmente mediante destilador rotatorio con vacío y posteriormente en un bloque calefactor a 30 °C bajo corriente de N<sub>2</sub>. El extracto obtenido es tratado con sulfato de sodio para eliminar restos de agua del proceso.
- 3.2. Los analitos se determinan por cromatografía de gases con detector de micro captura electrónica (GC- $\mu$ ECD).
- 3.3. La identificación de los plaguicidas presentes en las muestras, se realiza por comparación de los tiempos de retención, entre el cromatograma de la muestra y el correspondiente al estándar inyectado en la misma serie de análisis.
- 3.4. Para la confirmación de los mismos, se emplea una segunda columna de distinta polaridad.
- 3.5. La cuantificación de cada plaguicida, se realiza por interpolación del área de la señal cromatográfica, en la curva de calibración correspondiente.

## 4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Usar túnica, guantes y lentes para la manipulación de la muestra.
- 4.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud, la exposición a los mismos debe ser minimizada.
- 4.3. Todos los reactivos se deben manipular bajo campana de extracción de gases.

## 5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Otros compuestos extraídos de la muestra que posean en su estructura átomos electronegativos (halógenos, oxígeno, nitrógeno, azufre) son detectados por el detector de captura electrónica y pueden coincidir total o parcialmente con las señales de interés. En dichos casos, y para minimizar esta interferencia, se realiza la confirmación cromatográfica por una segunda columna de distinta polaridad.
- 5.2. Ésteres de ftalatos: se debe evitar la utilización de materiales plásticos ya que los ftalatos son usados frecuentemente como plastificantes y son fácilmente extraídos durante el procesamiento de la muestra. Éstos interfieren en la determinación cromatográfica.
- 5.3. Restos de jabón (dodecil sulfato de sodio): genera un pH básico en la superficie del material de vidrio, el cual puede degradar parcialmente algunos analitos (especialmente aldrin y heptaclor).
- 5.4. El DDT y Endrin son muy susceptibles a la degradación debido a contaminación en el inyector.
- 5.5. La utilización de lana de vidrio en el liner favorece la degradación de algunos compuestos tales como DDT y Aldrin, por lo cual se deberán emplear únicamente liners sin lana de vidrio en el inyector del equipo.

## 6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en una botella de 1 L de vidrio ámbar, previamente enjuagada con hexano y acetona, con contratapa de teflón enjuagada con acetona (o papel aluminio).
- 6.2. Preservar las muestras a  $\leq 6$  °C ( $>0$  °C). El tiempo máximo de almacenamiento son 7 días para la extracción y 40 días para la determinación.

## 7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Cromatógrafo de gases marca HP, modelo 6890, equipado con:
  - Columna cromatográfica HP-1, 30 m; 0,25 mm id; 0,25  $\mu$ m film o similar
  - Columna cromatográfica HP-5 (5% fenilo), 30 m; 0,25 mm id; 0,25  $\mu$ m film o similar
  - Detector de micro captura electrónica ( $\mu$ ECD)
  - Inyector split/splitlessEn caso de utilizar otro cromatógrafo, el mismo deberá contar con características similares, que permita las prestaciones aquí establecidas.
- 7.2. Balanza de resolución 0,001 g (IN 594 ó IN 20).
- 7.3. Balanza de resolución 0,00001 g (FQ 416 ó IN 19).
- 7.4. Viales de vidrio ámbar de 2 mL con precinto o tapa rosca, con septo de PTFE.
- 7.5. Insertos cónicos de vidrio de 300  $\mu$ L, compatibles con viales de 2 mL.
- 7.6. Microjeringas de vidrio de 10, 50, 250 y 1000  $\mu$ L.
- 7.7. Dispensador de botella para volúmenes de 1-10 mL adecuado para solventes (IN 642), unido a frasco tipo Schott de borosilicato de 1L.
- 7.8. Desionizador Milli-Q (FQ 605).
- 7.9. Frascos tipo SCHOTT de borosilicato de 250 mL con tapa rosca y contratapa de PTFE.
- 7.10. Agitador orbital (IN 601).
- 7.11. Baño de agua con ultrasonido (IN 554, IN 614).
- 7.12. Pipetas Pasteur de vidrio y bulbos de goma correspondientes.
- 7.13. Centrífuga con adaptadores para frascos de 250 mL (MB 609).
- 7.14. Balón de vidrio, fondo redondeado o tipo pera, con capacidad mínima de 100 mL, adecuado para rotavapor.
- 7.15. Equipo de destilación rotatorio (rotavapor compuesto por baño de agua, ajuste de temperatura variable, condensador, balón recolector de solvente, trampa de agua para vacío y refrigeración del condensador o equipo similar) (IN 454, FQ 555).
- 7.16. Bomba de vacío marca Gast-Motor GM (IN 247, IN 592 o similar).
- 7.17. Concentrador de muestras por evaporación con arrastre de  $N_2$  (IN 610).
- 7.18. Tubos de vidrio con fondo cónico para concentrador de muestras por evaporación con arrastre de  $N_2$ .
- 7.19. Estufa de secado (FQ 549, FQ 492).

- 7.20. Mufla (FQ 146).
- 7.21. Agitador recíprocante (IN794).
- 7.22. Micro-jeringa de 100µL

## 8. REACTIVOS

- 8.1. Hexano libre de plaguicidas  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$  Nro. CAS 110-54-3 (marca Baker, Mallinckrodt o similar).
- 8.2. Acetona libre de plaguicidas  $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  Nro. CAS 67-64-1 (Baker, Mallinckrodt o similar).
- 8.3. Acetato de etilo grado plaguicidas  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$  Nro. CAS 141-78-6 (Baker, Mallinckrodt o similar).
- 8.4. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente).
- 8.5. Sulfato de sodio anhidro  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  Nro. CAS 7757-82-6 (Merck, Mallinckrodt o similar). Previo a su uso, secar en estufa a 105 °C durante 1 hora. Limpiar inicialmente con mufla 4 horas a 440°C, luego conservar en desecador.
- 8.6. Lana de vidrio previamente enjuagada con hexano y acetona.
- 8.7. Materiales de referencia certificados correspondientes a cada plaguicida listados en la **Tabla 1** del presente documento.
- 8.8. **Solución stock de cada plaguicida (concentración aproximada 1000 mg/L):** se prepara según lo establecido en el punto 5.1 del PGC 22.
- 8.9. **Solución stock mix de plaguicidas (concentración aproximada de cada plaguicida 0,5 mg/L):** se prepara según lo establecido en el punto 5.2 del PGC 22.
- 8.10. **Solución de fortificación de plaguicidas (concentración aproximada de cada plaguicida 0.4 µg/L):** A partir de la solución 8.9, realizar diluciones adecuadas a fin de obtener una solución que posea una concentración aproximada de 0,4 µg/L. Dicha solución se prepara en acetona y para realizar la toma, se emplea una jeringa (7.6) adecuada. Esta solución, debido a la volatilidad de la acetona, se prepara el mismo día en que se realiza la extracción del fortificado. La información relativa a la misma se registra en el RIN 44.
- 8.11. **Solución de fortificación de plaguicidas (concentración aproximada de cada plaguicida 2 µg/L):** A partir de la solución 8.9, realizar diluciones adecuadas a fin de obtener una solución que posea una concentración aproximada de 2 µg/L. Esta solución se prepara en acetona y para realizar la toma, se emplea una jeringa (7.6) adecuada. Debido a la volatilidad de la acetona, dicha solución se prepara el mismo día en que se realiza la extracción del fortificado. La información relativa a la misma se registra en el RIN 44.
- 8.12. **Solución estándar para control de veracidad de la determinación:** se prepara según lo establecido en el punto 5.3 del PGC 22.
- 8.13. Nitrógeno alta pureza (5.0 o  $\geq 99,999\%$ )
- 8.14. Nitrógeno (pureza 99,9%)

## 9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Evitar la contaminación cruzada de las muestras durante la manipulación.
- 9.2. Todo el material de vidrio que será utilizado, tanto para la toma de muestra como para la etapa de extracción, debe enjuagarse previo a su uso con hexano y acetona, libres de plaguicidas. Siempre que sea posible trabajar con material descartable.
- 9.3. Las soluciones de descarte contaminadas con plaguicidas deben disponerse en envases destinados para tal fin y debidamente rotulados.

### Puntos críticos en el análisis de muestras

- 9.4. Evitar evaporar a sequedad en el proceso de concentración del extracto mediante rotavapor.
- 9.5. En la etapa de concentración por evaporación con arrastre de  $\text{N}_2$ , es importante interrumpir el proceso de concentración inmediatamente después de que la muestra llegue a sequedad.

## 10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. La calibración se realiza mediante una curva preparada en matriz (Matrix Match Calibration) a fin de compensar el efecto de la misma sobre los plaguicidas de interés. Realizar la extracción de al menos 5 porciones de una matriz blanco en forma análoga a las muestras. En la etapa de reconstitución del extracto final se agrega la cantidad correspondiente de solución mix de plaguicidas o una dilución, empleando jeringas de vidrio (7.6), de manera de obtener distintas concentraciones que cubran todo el rango lineal. En todos los casos se mantiene el volumen final de 200  $\mu$ L. Registrar su preparación en el RIN 44. En el caso de preparar diluciones de la solución mix, estas deben ser preparadas al momento de ser utilizadas.
- 10.2. Analizar dichas soluciones utilizando el mismo método cromatográfico que se emplea para las muestras y determinar la curva de calibración para cada plaguicida, según 12.1. Las soluciones estándar en matriz deberán prepararse para cada batch de análisis.
- 10.3. La identificación de los plaguicidas en la solución mix (8.7.2) se realiza a partir de los tiempos de retención de los estándares individuales, para determinadas condiciones cromatográficas.

## 11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

### Toma de muestra y extracción

- 11.1. Homogeneizar la muestra.
- 11.2. Realizar una toma de aproximadamente 100 mL registrando el peso en el RIN 44; esta toma debe realizarse en un frasco tipo SCHOTT (7.9), utilizando la balanza 7.2.
- 11.3. Agregar 40 mL de acetato de etilo y agitar en un agitador orbital (7.10) durante 15 minutos, a una velocidad de 300 rpm.
- 11.4. A continuación, colocar el batch en un baño de agua con ultrasonido (7.11) durante 5 minutos.
- 11.5. Posteriormente colocar el batch en una centrífuga (7.13), a 2000 rpm durante 10 minutos. Para evitar la ruptura de frascos en esta etapa, la diferencia entre los pares de frascos opuestos en la centrífuga no deberá exceder 1 g. De lo contrario, agregar acetato de etilo a la muestra de menor peso, hasta obtener una diferencia adecuada.
- 11.6. Extraer la capa orgánica a un balón de vidrio adecuado para rotavapor (7.14), empleando para ello una pipeta Pasteur (7.12). Evitar el pasaje de fase acuosa.
- 11.7. Agregar una segunda fracción de 30 mL de acetato de etilo, al frasco conteniendo la muestra.
- 11.8. Agitar en un agitador orbital durante 15 minutos a 300 rpm y luego colocar en un baño de agua con ultrasonido durante 5 minutos.
- 11.9. Centrifugar la muestra a 2000 rpm durante 10 minutos.
- 11.10. Extraer nuevamente la capa orgánica y transferirla al balón conteniendo la primera fracción de acetato de etilo.
- 11.11. Empleando el equipo de destilación rotatorio 7.15 (temperatura del baño a 30°C y la velocidad de rotación a 45 rpm), concentrar el contenido del balón hasta un volumen aproximado de 4 mL. Es muy importante en esta etapa que el extracto no llegue a sequedad.
- 11.12. Preparar para cada muestra, una columna de secado de extracto. Para ello colocar lana de vidrio (8.6) en la parte inferior de una pipeta Pasteur y agregar a continuación aproximadamente 4 g de sulfato de sodio anhidro (8.5).
- 11.13. Hacer pasar el volumen de extracto remanente en el balón por la columna de secado y recoger en un tubo de fondo cónico (7.18), eluyendo por gravedad.
- 11.14. Enjuagar el balón con dos fracciones de aproximadamente 1 mL de acetato de etilo. Hacer pasar dicho volumen por la columna de secado y recoger en el tubo correspondiente a la muestra.
- 11.15. Concentrar el extracto en un bloque calefactor a 30 °C bajo corriente de N<sub>2</sub> (7.17) hasta sequedad.
- 11.16. Agregar 200  $\mu$ L de acetato de etilo con jeringa de vidrio, al tubo cónico correspondiente a la muestra. Sonicar durante un minuto.
- 11.17. Transferir el extracto a un vial de vidrio ámbar de 2 mL con inserto (7.5) e inyectar en el cromatógrafo de gases (7.1).

**Análisis cromatográfico**

11.18. Prender el cromatógrafo de gases HP 6890, según INE 67. Seleccionar el método PLAGUICIDASTOTAL-HP5 y verificar que las condiciones del mismo sean las descritas a continuación:

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Inyector:</b> (verificar que el liner no tenga lana de vidrio para evitar la degradación en el inyector)</li> </ul>	Temperatura: 290 °C Modo de inyección: splitless, con apertura de Split a los 0.50 min, flujo de purga 70 mL/min			
	Condiciones del inyector automático: Volumen inyección: 2 µL FAST plunger Viscosity delay: 2 segundos Solvente A y B: Acetato de etilo			
	<b>Washes</b>	<b>Pre injection</b>	<b>Post injection</b>	
	Sample	1	---	
	Solvent A	2	3	
	Solvent B	2	0	
	Pumps	3	---	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Horno:</b></li> </ul>	Programa de gradiente de temperatura:			
	<b>Rampa</b>	<b>°C/min</b>	<b>°C</b>	<b>Hold time(min)</b>
	Inicial	-	120	0
	Rampa 1	10	150	2
	Rampa 2	2.3	220	0
	Rampa 3	0.5	223	0
	Rampa 4	8	305	1.5
	Tiempo total de corrida: 53,2 minutos			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Columna:</b></li> </ul>	HP-5 (5% fenilo), 30 m; 0,25 mm id; 0,25 µm film Flujo del gas carrier (N <sub>2</sub> ) constante: 0.9 mL/min			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Detector µECD:</b></li> </ul>	Temperatura: 300 °C Make-up: N <sub>2</sub> 30,0 mL/min			

Para estas condiciones cromatográficas, el orden de elución es el siguiente:

Compuesto	tR (min)*
Diuron	4,50
Atrazina desisopropil	11,34
Atrazina desetil	11,75
Trifluralina	12,37
Hexaclorobenceno	13,35
Simazina	14,16
Atrazina	14,53
Lindano	14,92
Diazinon	16,42
Metil Paratión/ Clorpirifós metil	19,31
Heptacloro	19,53
Alacloro	19,90
Aldrin	21,85
Malatión	22,31
Heptacloro epóxido (B)	24,77
Captan	25,46
Fipronil	26,24
Clordano (Trans)	26,48
o,p' DDE	27,14
Endosulfan alfa	27,30
Clordano (Cis)	27,60
Dieldrin	29,20
p,p' DDE	29,52
o,p' DDD	30,07
Endrin	30,71
Endosulfan beta	31,45
p,p' DDD	32,57
o,p' DDT	32,71
Etión	33,26
Endosulfan sulfato	34,66
p,p' DDT	35,28
Trifloxiestrobina	36,31
Fluroxipir (éster metilheptil)	37,17
Metoxiclor	40,47
Mirex	42,73
Lambda-Cialotrina	44,86
Permetrina	46,83
Ciflutrina	47,90/48,10/48,24/48,33
Cipermetrina	48,47/48,68/48,80/48,88
Deltametrina	51,23
Azoxiestrobina	51,66

\*Los tiempos de retención pueden cambiar por la realización de tareas de mantenimiento instrumental.

*Nota 6: Las condiciones cromatográficas definidas anteriormente, pueden ser modificadas de manera de mantener la resolución y sensibilidad adecuada para el análisis.*

## 11.19. Método de confirmación

Sustituir la columna utilizada (HP-5) por una columna HP-1 (o de similares características). Seleccionar el método PLAGUICIDASTOTALCONF-HP1 y verificar que las condiciones del método sean las establecidas a continuación:

• <b>Inyector:</b>	Los parámetros del inyector son los mismos a los establecidos para el método PLAGUICIDASTOTAL-HP5.			
	Condiciones del inyector automático: Volumen inyección: 2 µL FAST plunger Viscosity delay: 2 segundos Solvente A y B: Acetato de etilo			
• <b>Horno:</b>	Programa de gradiente de temperatura:			
	<b>Rampa</b>	<b>°C/min</b>	<b>°C</b>	<b>Hold time(min)</b>
	Inicial	-	150	1
	Rampa 1	3	190	1
	Rampa 2	0.7	212	0
	Rampa 3	2	215	0
	Rampa 4	45	280	0
	Rampa 5	1.5	290	0
	Tiempo total de corrida: 56.4 minutos			
• <b>Columna:</b>	HP-1 (100% Dimethylpolysiloxane), 30 m; 0,25 mm id; 0,25 µm film Gradiente de flujo del gas carrier (N <sub>2</sub> ):			
	Rampa	mL/min por min	mL/min	Hold time(min)
	Inicial	-	0.9	31
	Rampa 1	0.5	1.3	10
	Rampa 2	2	1.8	16
• <b>Detector µECD:</b>	Temperatura: 300 °C Make-up: N <sub>2</sub> 30,0 mL/min			

En caso de no disponer de una columna tipo HP-1 (100% Dimethylpolysiloxane), se podrá utilizar otra columna de similar polaridad, ajustando las condiciones cromatográficas de manera tal que sea posible resolver las señales de los analitos de interés.

Para estas condiciones cromatográficas, el orden de elución es el siguiente:

Compuesto	tR (min)*
Diuron	3,59
Atrazina desisopropil	7,92
Atrazina desetil	8,27
Trifluralina	9,35
Simazina	9,93
Hexaclorobenceno	10,10
Atrazina	10,27

Lindano	10,65
Diazinon	11,94
Metil Paratión	13,75
Clorpirifós metil	13,96
Alacloro	14,54
Heptacloro	14,71
Malatión	16,14
Aldrin	16,77
Captan	18,35
Heptacloro epóxido (isómero B)	19,08
Fipronil	19,92
Clordano (Trans)	20,75
o,p' DDE	21,50
Endosulfan alfa	21,83
Clordano (Cis)	22,16
Dieldrin	24,05
p,p' DDE	24,37
o,p' DDD	24,72
Endrin	25,69
Endosulfan beta	25,96
p,p' DDD	27,97
o,p' DDT	28,87
Etion	29,10
Endosulfan sulfato	30,35
p,p' DDT	32,46
Trifloxiestrobina	33,52
Fluroxipir (éster metilheptil)	34,99
Metoxiclor	38,75
Mirex	42,70
Lambda-Cialotrina	46,84
Permetrina	49,53
Ciflutrina	50,11/50,23/50,32/50,40
Cipermetrina	50,45/50,60/50,68/50,75
Deltametrina/Azoxiestrobina	52,61

#### 11.20. Secuencia de análisis

La secuencia de análisis a ser utilizada debe estar diseñada de la siguiente manera: inicialmente se incluyen los blancos de reactivo y matriz, luego la curva en matriz, control de veracidad, control de especificidad, muestras, duplicados y fortificados. Se incluyen un control continuo de calibración cada 10 inyecciones y uno al finalizar la secuencia.

## 12. ANÁLISIS DE DATOS

### Cuantificación analítica

12.1. A partir de las soluciones estándar en matriz, se grafica para cada plaguicida, su área en función de la concentración empleando el RIN 52. Para el rango lineal definido, la curva de mejor ajuste corresponde a una recta de la forma  $y = ax + b$ , donde "y" es el área del plaguicida y "x" la concentración de dicho plaguicida en la solución estándar, en  $\mu\text{g/L}$ .

- 12.2. Se evalúa la linealidad de la curva de calibración de cada plaguicida, a partir del cálculo de residuales. Se considera un ajuste adecuado, si se obtienen valores de residuales menores al 20%.
- 12.3. Se comparan las señales de la muestra y el estándar, para identificar coincidencias en los tiempos de retención. Se admite una tolerancia máxima de  $\pm 0.1$  minuto, respecto a los tiempos de retención obtenidos para la curva de calibración en la misma secuencia de análisis. En los casos afirmativos, se registran las áreas correspondientes para cada plaguicida (RIN 50).
- 12.4. La concentración de cada plaguicida en el **extracto**, se calcula interpolando su área, en la curva de calibración correspondiente.

$$C_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}} (\mu\text{g/L}) = \frac{(\text{Área}_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}}) - b}{a}$$

Siendo  $i$ =Diuron, Atrazina desisopropil, Atrazina desetil, Trifluralina, Simazina, Hexaclorobenceno, Atrazina, Lindano, Diazinon, Metil Paratión, Clorpirifós metil, Alacloro, Heptacloro, Malatión, Aldrin, Heptacloro epóxido (isómero B), Captan, Fipronil, Clordano (Trans); o,p' DDE; Clordano (Cis), Endosulfán alfa, Dieldrin; p,p' DDE; o,p' DDD; Endrin, Endosulfán beta; p,p' DDD; o,p' DDT; Etión, Endosulfán sulfato; p,p' DDT; Trifloxystrobina, Fluroxipir, Metoxiclor, Mirex, Lambda-Cialotrina, Permetrina, Ciflutrina, Cipermetrina, Azoxiestrobina.

- 12.5. La concentración de cada plaguicida en la muestra, en  $\mu\text{g/L}$ , se calcula según:

$$C_{\text{plaguicida } i, \text{ muestra}} (\mu\text{g/L}) = \frac{C_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}} \times V_{\text{final}}}{T_{\text{muestra}}}$$

donde:

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ extracto}}$ : es la concentración de cada plaguicida, en  $\mu\text{g/L}$ , calculada según 12.3

$V_{\text{final}}$ : volumen final del extracto, en mL.

$T_{\text{muestra}}$ : toma de muestra, en g.

Se asume que la densidad de las muestras es de 1 g/mL.

### Confirmación analítica

- 12.6. Para aquellos plaguicidas en los cuales las señales obtenidas sean mayores al límite de cuantificación, es necesario realizar la confirmación cromatográfica por una segunda columna de distinta polaridad. Verificar que las áreas de los plaguicidas confirmados sean comparables con los valores obtenidos en la etapa de cuantificación.
- 12.7. Para los casos en que no se logre una buena resolución de señales, es posible intercambiar las columnas en cuanto a su uso para cuantificación y confirmación.
- 12.8. La recuperación de la fortificación se calcula según:

$$\% \text{ de recuperación}_{\text{plaguicida } i} = 100 \times \frac{(C_{\text{plaguicida } i, \text{ M AD}} - C_{\text{plaguicida } i, \text{ M}}) \times V_{\text{final}}}{[(V_{\text{Std Fort}} \times C_{\text{Std fort, plaguicida } i}) / V_{\text{final}}] \times T_{\text{muestra}}}$$

donde:

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ M AD}}$ : concentración de cada plaguicida en la muestra adicionada, en  $\mu\text{g/L}$ , calculada según 12.4

$C_{\text{plaguicida } i, \text{ M}}$ : concentración de cada plaguicida en la muestra sin adicionar, en  $\mu\text{g/L}$

$V_{\text{Std Fort}}$ : volumen del estándar de fortificación 8.7.3 adicionado a la muestra, en  $\mu\text{L}$

### 13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

Los datos correspondientes a los controles de calidad del batch se registran en el RIN 53-A o RIN 53-B (según los parámetros a analizar), correspondiente a la ruta de análisis.

#### 13.1. Control de blancos:

En cada batch de extracción, se analiza un blanco de reactivos y un blanco de matriz, extraídos ambos en las mismas condiciones que las muestras analizadas. Se utilizará agua desionizada (8.4) como blanco de reactivos y una muestra blanco de agua superficial. Verificar que los cromatogramas no contengan señales significativas, que interfieran con los compuestos de interés.

#### 13.2. Control de recuperación de fortificaciones:

Se evalúa la recuperación de todos los analitos de interés, realizando el análisis de dos fortificados (a dos niveles distintos), cada 10 muestras y como mínimo 1 de cada nivel por batch. Los niveles que se evalúan son los correspondientes a los LOQ del scope (dilución del mix a 0.4 ppb y a 2 ppb).

Para ello, fortificar una muestra con la solución 8.10 u 8.11, según corresponda, de tal forma que la concentración final corresponda al límite de cuantificación. Calcular la recuperación de la adición según 12.8, la cual debe estar dentro del rango 60-140 % del valor adicionado, o de existir gráficos de control, los rangos serán fijados a partir de éstos. En caso de no cumplimiento, evaluar la posibilidad de informar utilizando límites de reporte.

#### 13.3. Control de veracidad de la determinación:

Evaluar la veracidad de la determinación (verificación inicial de la calibración del instrumento), utilizando un material de referencia certificado. Dicho control se prepara en forma análoga a los puntos de curva en matriz y a una concentración incluida dentro del rango de calibración. Se incluye como mínimo un control de veracidad por batch de extracción.

De ser posible, el material de referencia deberá incluir la totalidad de los plaguicidas a analizar. En los casos en que esto no sea posible, se evaluará la posibilidad de complementar el control de veracidad, con material de referencia de distinto origen al empleado en la curva de calibración.

La concentración obtenida para cada plaguicida debe estar en el rango 60-140% o de existir los gráficos de control correspondientes, el rango será fijado a partir de éstos.

Cuando el resultado no se encuentre dentro de los límites permitidos, se debe revisar el procedimiento analítico y evaluar la repetición del análisis del batch.

#### 13.4. Control continuo de calibración del equipo:

El control de calibración es utilizado para poder identificar posibles cambios de sensibilidad durante la determinación analítica. Para ello se incluye un punto de curva de concentración intermedia cada 10 inyecciones y al final de la secuencia. Se acepta hasta un 20% de variación de la sensibilidad. Si se obtiene una diferencia de señal mayor al 20% respecto a la primera inyección del estándar (durante el análisis la curva en matriz), evaluar la repetición parcial o total del análisis cromatográfico.

#### 13.5. Control de precisión:

Se debe realizar el análisis de un duplicado cada 10 muestras y como mínimo 1 por batch de muestras. Los límites de aceptación de los duplicados, surgen a partir de los gráficos de control correspondientes. En caso de no contar con éstos, se aceptan dispersiones entre los duplicados (como rangos normalizados) menores al 30%, para cada plaguicida.

#### 13.6. Control de especificidad:

El control de especificidad es utilizado para permitir la visualización de los analitos de interés y corresponde a un punto de curva en solvente.

### 14. BIBLIOGRAFÍA

- 14.1. EPA Method 8081B Organochlorine Pesticides by Gas Chromatography, Revisión 2, Febrero de 2007.
- 14.2. EPA Method 3510C Separatory funnel liquid-liquid extraction, Revisión 3, Diciembre de 1996.
- 14.3. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed (Documento SANTE/11312/2021).

