



Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Química Inorgánica y Analítica

Laboratorio de Bioquímica y Química de Suelos

EVALUACIÓN DE LA MOVILIDAD DE CLORPIRIFOS A TRAVÉS
DEL PERFIL DE SUELO POR EFECTO DE LA MATERIA ORGÁNICA
DISUELTA PRESENTE EN ENMIENDAS ORGÁNICAS

Memoria para optar al Título de Químico
NICOLE ALEJANDRA CAMPOS ESCOBAR

Patrocinante y Director de memoria:
DRA. TATIANA INÉS GARRIDO REYES

Santiago de Chile
2016

ABREVIATURAS

CP	Clorpirifos.
CPO	Clorpirifos Oxon.
DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva.
ECD	Detector de captura electrónica.
GC	Cromatografía gaseosa.
IS	Estándar interno.
K_{ow}	Coefficiente de reparto octanol/agua.
LC	Límite de cuantificación.
LD	Límite de detección.
MOD	Materia orgánica disuelta.
OPs	Compuestos organofosforados.
PCB	Bifenilo policlorado.
R	Coefficiente de correlación.
RSD	Desviación estándar relativa.
SD	Desviación estándar.
SPE	Extracción en fase sólida.
μECD	Detector de micro captura electrónica.

RESUMEN

El suelo constituye un componente fundamental de los recursos de la tierra, del desarrollo agrícola y la sustentabilidad ecológica. En la industria agrícola, una de las principales problemáticas son las plagas, haciéndose necesario el uso de plaguicidas para combatirlas. Dentro de los plaguicidas más utilizados a nivel internacional, se encuentran los compuestos organofosforados (OPs), entre los cuales destaca el Clorpirifos [O,O-dietil O-(3,5,6-tricloropiridin-2-il) fosforotioato], insecticida de clase II o moderadamente tóxico, cuyo comportamiento a través del perfil de suelo depende del contenido de materia orgánica disuelta (MOD) presente. En este estudio se pretende evaluar la movilidad del compuesto Clorpirifos a través del perfil de suelo, determinando la influencia asociada a la MOD.

Para el desarrollo de esta investigación, en una primera etapa, se optimizaron y compararon las técnicas de extracción en fase sólida (SPE) y microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) para la separación del Clorpirifos desde matriz acuosa, cuantificándolo por medio de un cromatógrafo gaseoso con detector de micro captura electrónica (GC- μ ECD). Posteriormente, sobre la base de los parámetros analíticos determinados para cada una de las técnicas, se seleccionó la metodología más adecuada para calcular la movilidad del analito en las soluciones eluidas del suelo fortificado y no fortificado del sector de La Farfana, Maipú, Región Metropolitana.

Las condiciones cromatográficas establecidas permitieron la separación efectiva entre Clorpirifos (CP) y el metabolito Clorpirifos Oxon (CPO) con un coeficiente de resolución de 2,3. Adicionalmente, para Clorpirifos los límites de detección y cuantificación de la técnica fueron 3,2 y 6,8 µg/L, respectivamente. Estas condiciones permitieron la identificación y cuantificación de Clorpirifos en las muestras de suelos del estudio.

Respecto a los rangos analíticos obtenidos con ambas metodologías de extracción para Clorpirifos desde matriz acuosa, con la técnica SPE se logró un 87,7% de recuperación, con un LD de 13,1 µg/L y un LC de 13,4 µg/L; mientras que con la técnica DLLME se recuperó entre un 63 y 150% del insecticida, con un LD y LC de 18,3 y 22,4 µg/L, respectivamente. De acuerdo a la interacción del analito con la MOD a través del perfil de suelo, se consiguió un 0,9% de Clorpirifos movilizado, no siendo posible establecer diferencias significativas al comparar los resultados entre los suelos fortificados y no fortificados.

Se pudo evidenciar a través de este estudio que el Clorpirifos presenta una baja movilidad a través del perfil de suelo, y que la aplicación de enmiendas orgánicas como el Humex, no facilita su transporte, a diferencia del metabolito Clorpirifos Oxon que fue movilizado tanto en suelos con y sin adición de enmiendas, aumentando la probabilidad de una posterior contaminación de las aguas subterráneas.

SUMMARY

EVALUATION OF CHLORPYRIFOS MOBILITY THROUGH SOIL PROFILE DUE TO THE EFFECT OF DISSOLVED ORGANIC MATTER IN ORGANIC AMENDMENTS

The soil is a fundamental component of land resources, agricultural development and ecological sustainability. In the agricultural industry, one of the main problems are the plagues, becoming necessary the use of pesticides to avoid them. Organophosphorus compounds are between the most utilized plaguicides in the world, amongst which the Chlorpyrifos [O,O-dietil O-(3,5,6-tricloropiridin-2-il) fosforotioato] stands out. It is a moderately toxic insecticide (class II), whose behavior through the soil profile depends on the content of dissolved organic matter (MOD). In this study, the mobility through the soil profile of the Chlorpyrifos compound was evaluated, determining the influence of the MOD.

For developing this research, in a first stage, two techniques for separating the Chlorpyrifos compound from the aqueous matrix were optimized and compared: solid phase extraction (SPE) and dispersive liquid-liquid micro-extraction (DLLME), which were quantified using gaseous chromatography with micro-electron capture detector (GC- μ ECD). Later, based on the analytic parameters determined for both techniques, the most appropriate methodology was selected for calculating the mobility of the analyte in the eluted solutions of fortified and non-fortified soils of La Farfana, Maipú, Metropolitan Region.

Chromatographic conditions allowed for the effective separation between Chlorpyrifos (CP) and Chlorpyrifos Oxon metabolite (CPO), with a coefficient of resolution of 2.3. Additionally, the limits of detection and quantification of the technique for chlorpyrifos were 3.2 and 6.8 µg/L, respectively. These conditions allowed the identification and quantification of Chlorpyrifos in soil samples of the study.

In relation to the analytic ranges obtained with both extraction methodologies of Chlorpyrifos from the aqueous matrix, an 87.7% of recovery was reached with the SPE technique, with a LD of 13.1 µg/L and a LC of 13.4 µg/L; whereas a 63-150% of recovery was obtained with the DLLME technique, with LD and LC of 18.3 µg/L and 22.4 µg/L, respectively. According to the interaction between analyte and MOD through the soil profile, a 0.9% of mobilized Chlorpyrifos was obtained, not being possible to establish significant differences when the results of the fortified and non-fortified soils are compared.

Through this study, it was shown that Chlorpyrifos has low mobility through the soil profile, and that the application of organic amendments based on commercial humic acids, not facilitate transport of this compound, unlike Chlorpyrifos Oxon, which was mobilized in soils with and without addition of organic amendments, increasing the probability of further contamination of groundwater.

I ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción.....	1
1.1 El suelo y la materia orgánica.....	1
1.2 Los plaguicidas	3
1.3 Clorpirifos: un plaguicida organofosforado	4
1.4 Cuantificación de contaminantes	7
1.5 Los plaguicidas y su movilidad	11
2. Hipótesis	13
3. Objetivos	13
3.1 Objetivo general.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. Materiales y reactivos	14
4.1 Materiales e instrumentos.....	14
4.2 Reactivos	15
5. Métodos	17
5.1 Selección del suelo.....	17
5.1.1 Determinación del contenido de Carbono Orgánico.....	18
5.1.2 Determinación del pH.....	18
5.1.3 Textura del suelo.....	18
5.1.4 Determinación de la capacidad de intercambio catiónico	20
5.1.5 Preparación del suelo fortificado	21
5.2 Obtención de la materia orgánica disuelta desde HUMEX	22
5.2.1 Extracción de MOD	22
5.2.2 Determinación del Carbono Orgánico en muestra de MOD	22
5.2.3 Preparación de la solución de MOD.....	23

5.3 Metodología de análisis para Clorpirifos	23
5.3.1 Condiciones cromatográficas	23
5.3.2 Curva de calibración para Clorpirifos	24
5.4 Metodología de extracción.....	25
5.4.1 Extracción en fase sólida	25
5.4.2 Microextracción líquido–líquido dispersiva	27
5.4.3 Parámetros analíticos.....	28
5.5 Experimentos en columna	29
5.5.1 Movilidad de la MOD	29
5.5.2 Movilidad de analitos Clorpirifos y Clorpirifos Oxon	30
5.6 Análisis e interpretación de los resultados.....	33
6. Resultados y discusión	34
6.1 Caracterización del suelo	34
6.2 Contenido de Carbono Orgánico en muestra de MOD.....	36
6.3 Análisis cromatográfico para Clorpirifos	37
6.3.1 Curva de calibración Clorpirifos.....	37
6.3.1.1 Límites de Detección y Cuantificación de la Técnica	42
6.4 Resultados de la evaluación de las metodologías de extracción	43
6.4.1 Extracción en fase sólida	43
6.4.1.1 Límites de Detección y Cuantificación del Método.....	45
6.4.2 Microextracción líquido–líquido dispersiva	47
6.4.2.1 Límites de Detección y Cuantificación del Método.....	49
6.5 Resultados de experimentos en columnas	53
6.5.1 Movilidad de la MOD	53
6.5.2 Movilidad de analitos Clorpirifos y Clorpirifos Oxon	55

7. Conclusiones.....	59
8. Bibliografía.....	60
Anexos	66

II ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: (a) Clorpirifos. (b) Clorpirifos Oxon	5
Figura 5-1: Mapa del sector de la toma de muestras.....	17
Figura 5-2: Triángulo textural	20
Figura 5-3: Esquema de la preparación de suelo fortificado.....	21
Figura 5-4: Cartucho C ₁₈ Sep-Pak, Waters, utilizado para el proceso de SPE	25
Figura 5-5: Manifold y cartuchos utilizados para el proceso de SPE	26
Figura 5-6: Tubo empleado en el proceso DLLME	28
Figura 5-7: Esquema de las columnas de suelo utilizadas para la determinación de la movilidad de la MOD	30
Figura 5-8: Esquema de las columnas de suelo utilizadas para evaluar la movilidad de CP y CPO.....	31
Figura 5-9: Mini Turbo Vap utilizado para secar las muestras con N ₂ a 40°C.....	33
Figura 6-1: Curva de calibración utilizada para la determinación del contenido de C. Orgánico presente en muestras de MOD	36
Figura 6-2: Curva de calibración obtenida para CP, analizada por GC- μ ECD	38
Figura 6-3: Cromatogramas de la curva de calibración de CP obtenida a distintas concentraciones del analito a través del GC- μ ECD	39
Figura 6-4: Cromatograma empleado para determinar el parámetro R _s	40
Figura 6-5: Curva de calibración obtenida para CPO, analizada por GC- μ ECD	41
Figura 6-6: Cromatograma de muestra blanco empleado para determinar el LD y LC del método SPE	46
Figura 6-7: Tiempo de agitación vs. Recuperación CP para el proceso de DLLME	48
Figura 6-8: Cromatogramas obtenidos por DLLME para los tiempos de agitación de 5, 15 y 30 min. realizados por GC- μ ECD.....	49
Figura 6-9: Cromatograma de muestra blanco empleado para determinar el LD y LC del método DLLME.....	51

Figura 6-10: Curva de calibración utilizada para la determinación del contenido de C. Orgánico, obtenida a través del Espectrómetro UV/Visible.....	53
Figura 6-11: Relación Área CP/Área IS para cada tipo de suelo en estudio de acuerdo a las etapas de elución analizadas por GC- μ ECD.....	55

III ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Características químicas y propiedades del Clorpirifos	5
Tabla 5-1: Condiciones cromatográficas optimizadas para la cuantificación de CP por GC- μ ECD	24
Tabla 5-2: Programa de temperatura empleado para la cuantificación de CP por GC- μ ECD	24
Tabla 6-1: Contenido de metal de los suelos muestreados en el sector La Farfana, Región Metropolitana	34
Tabla 6-2: Características fisicoquímicas de los suelos de La Farfana.....	35
Tabla 6-3: Lecturas de absorbancia y concentración de Carbono Orgánico para las muestras de MOD de Humex	37
Tabla 6-4: Resultados de las inyecciones de n-hexano para determinar el LD y LC de la técnica por GC- μ ECD.....	42
Tabla 6-5: LD y LC de la técnica determinados para CP y CPO por GC- μ ECD.....	43
Tabla 6-6: Resultados de las muestras CP 250 μ g/L por SPE analizadas por GC- μ ECD (Primera prueba).....	44
Tabla 6-7: Resultados de las muestras CP 250 μ g/L por SPE analizadas por GC- μ ECD (Segunda prueba)	44
Tabla 6-8: Resultados de las muestras blanco para la determinación del LD y LC del método SPE por GC- μ ECD.....	45
Tabla 6-9: LD y LC del método determinados para SPE.....	45
Tabla 6-10: Resultados de las muestras CP 25 μ g/L por SPE analizadas por GC- μ ECD	46
Tabla 6-11: LD y LC de la técnica determinados para SPE.....	47
Tabla 6-12: Resultados muestras sometidas a DLLME analizadas por GC- μ ECD	47
Tabla 6-13: Resultados de las muestras blanco para determinar el LD y LC del método DLLME por GC- μ ECD	50
Tabla 6-14: LD y LC del método determinados para DLLME	50

Tabla 6-15: LD y LC del método para CP usando GC- μ ECD	52
Tabla 6-16: Absorbancia y concentración de C. Orgánico para las soluciones de suelo ..	54
Tabla 6-17: Concentración de CP movilizado a través de la columna de suelo	56
Tabla 6-18: Concentración de CPO movilizado a través de la columna de suelo	57

IV ÍNDICE DE TABLAS DE LA SECCIÓN ANEXOS

Tabla 9-1: Resultados cromatográficos para la curva de calibración CP desde el GC- μ ECD	66
Tabla 9-2: Resultados de las inyecciones de n-hexano para determinar el LD y LC de la técnica por GC- μ ECD.....	66
Tabla 9-3: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (250 μ g/L) desde el GC- μ ECD (Primera prueba).....	67
Tabla 9-4: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (250 μ g/L) desde el GC- μ ECD (Segunda prueba).....	67
Tabla 9-5: Resultados cromatográficos de las muestras blanco por SPE desde el GC- μ ECD	67
Tabla 9-6: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (25 μ g/L) desde el GC- μ ECD	68
Tabla 9-7: Tiempo y área obtenidos para las muestras DLLME desde GC- μ ECD	68
Tabla 9-8: Resultados cromatográficos para las muestras blanco por DLLME desde el GC- μ ECD	68
Tabla 9-9: Lectura de las absorbancias para las muestras de suelo	69
Tabla 9-10: Tiempo y área obtenidos desde el GC- μ ECD para la evaluación de movilidad	69

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EL SUELO Y LA MATERIA ORGÁNICA

El suelo corresponde a la capa superficial que recubre la corteza terrestre, producto de la meteorización física y química de rocas preexistentes. Se subdivide en horizontes, cuya profundidad, composición y propiedades son variables; y está compuesto de material mineral y orgánico. Se considera un sistema de tres fases: sólida, líquida y gaseosa, donde la fase sólida abarca al menos el 50% del volumen total (Adams, 1995).

La fase sólida del suelo está compuesta por material orgánico e inorgánico. El material orgánico se divide en materia orgánica viva (10-15%) y materia orgánica muerta (90-85%); donde la primera está compuesta por residuos de plantas y animales, incluyendo las raíces, mientras que la segunda está constituida de residuos y humus. Por otra parte, el material inorgánico se compone de arena, limo y arcilla (Adams, 1995).

El humus corresponde a los residuos resistentes a la degradación y los productos sintetizados por los microorganismos; y se compone de Ácido Fúlvico, Ácido Húmico y Huminas, moléculas complejas de alto peso molecular (Núñez, 1985). La degradación biológica del suelo se relaciona con la disminución de su materia orgánica, y se mide de acuerdo a la disminución anual de humus. Al disminuir la cantidad de humus, se modifican las propiedades físicas, químicas y

biológicas del suelo, disminuyendo la disponibilidad de nutrientes y generando su deterioro (Adams, 1995).

La materia orgánica es compleja y puede ser subdividida según su polaridad o solubilidad. La materia orgánica disuelta (MOD) corresponde a una mezcla heterogénea de macromoléculas de material orgánico, definida operacionalmente como aquella capaz de atravesar un filtro de membrana con tamaño de poro 0,45 μm (Santos y col., 2010).

El suelo constituye un componente fundamental de los recursos de la tierra, del desarrollo agrícola y la sustentabilidad ecológica; siendo la base para la producción de alimentos, fibras y para muchos servicios ecosistémicos esenciales. Sin embargo, es un recurso finito, lo que implica que su pérdida y degradación no son reversibles a escala humana (Scherr y Yadav, 1996; Pimentel y Kounang, 1998).

La superficie natural de suelos productivos es limitada y se encuentra sometida al aprovechamiento para fines agrícolas, forestales, pastorales y de urbanización. Se estima que el suelo agrícola constituye cerca del 12% de la superficie terrestre y que más de su quinta parte está degradado por el mal uso, reduciendo así su productividad (Valverde y Cano-Santana, 2005). Entre los distintos tipos de degradación, se encuentra la provocada por la contaminación a causa de productos químicos (Andreu y Picó, 2004; Arias-Estévez y col., 2008), generada por la acumulación de sustancias que pueden repercutir negativamente en el ciclo biogeoquímico del suelo, disminuyendo el crecimiento de microorganismos,

contaminando aguas superficiales y freáticas, y afectando el rendimiento de cultivos (Silva y Correa, 2009).

1.2 LOS PLAGUICIDAS

En la industria agrícola, una de las principales problemáticas en los suelos, son las plagas, la cual se define como “cualquier organismo capaz de disminuir la disponibilidad o calidad de los cultivos, aumentando los costos de producción y/o reduciendo el valor de la cosecha” (Cano y col., 2004). Es por esto que resulta necesario combatirlas, siendo el uso de productos químicos (plaguicidas) la técnica más difundida en el mundo (García, 1998). En Chile, por ejemplo, ya en el año 2005 se tenían registrados 350 principios activos y aproximadamente 850 formulaciones de plaguicidas (AChS, 2005).

Por otro lado, el Decreto Supremo N°157-2005 define plaguicida como “cualquier sustancia, mezcla de ellas o agente destinado a ser aplicado en el medio ambiente, animales o plantas, con el objeto de prevenir, controlar o combatir organismos capaces de producir daños a personas, animales, plantas, semillas u objetos inanimados, como la madera” (AChS, 2005). El término plaguicida agrupa a un conjunto de compuestos con características químicas y actividades biológicas heterogéneas, los cuales se pueden clasificar en: herbicidas, insecticidas, molusquicidas, fungicidas y rodenticidas (Cavieres, 2004). Pese a que los plaguicidas mejoran la calidad de los productos agrícolas, existe preocupación

sobre sus potenciales efectos en la salud humana y su impacto sobre la vida silvestre (Damalas y Eleftherohorinos, 2011).

El comportamiento de los plaguicidas en el medio ambiente está determinado por los procesos físicos, químicos y biológicos que regulan su movilidad y degradación (Arias-Estévez y col., 2008). Estos procesos son función tanto de las características fisicoquímicas del medio ambiente como del propio plaguicida, destacando la importancia de su solubilidad sobre la toxicidad residual en los suelos (Kulkarni y col., 2000).

1.3 CLORPIRIFOS: UN PLAGUICIDA ORGANOFOSFORADO

Dentro de los plaguicidas de mayor uso agrícola a nivel internacional, se encuentran los compuestos organofosforados (OPs), debido a su bajo costo y gran efectividad (Ramírez y Lacasaña, 2001). Son insecticidas utilizados para el control de plagas en los cultivos, ya que además de eliminar directamente a los insectos, estos compuestos son absorbidos por la especie vegetal, volviéndola tóxica para dichos organismos (Muñoz Quezada, 2011). Entre los compuestos organofosforados destaca el Clorpirifos [O,O-dietil O-(3,5,6-tricloropiridin-2-il) fosforotioato] (Figura 1-1) por ser ampliamente utilizado a nivel nacional (RAPAL, 2006); éste corresponde a un sólido cristalino de color blanco. Algunas de sus propiedades más relevantes se describen en la Tabla 1-1.

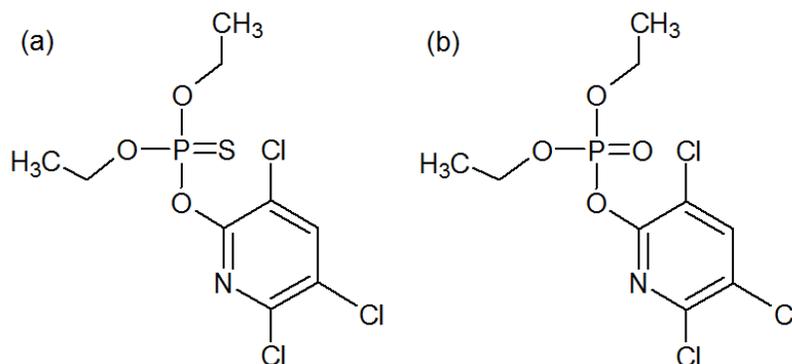


Figura 1-1: (a) Clorpirifos. (b) Clorpirifos Oxon, uno de los metabolitos del compuesto Clorpirifos, producto de su oxidación.

Tabla 1-1: Características químicas y propiedades del Clorpirifos (Watts, 2012).

Fórmula molecular	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Masa molecular	350,6 g/mol
Solubilidad en agua a 20°C	0,39-1,05 mg/L
Log K _{ow} a 20°C	4,7-5,11
Punto de ebullición	145-160°C
Punto de fusión	42-43°C

K_{ow}: Coeficiente de reparto octanol/agua.

El Clorpirifos es un insecticida de amplio uso en viviendas y agricultura, donde se emplea para el control de moscas, mosquitos, plagas domésticas, larvas acuáticas y diversas plagas de cultivos presentes en el suelo o en las hojas (OMS, 2009). Se aplica de forma directa a las cosechas, debido a que posee una alta adherencia a las partículas del suelo, particularmente en aquellos con alto contenido orgánico. Una vez en el medio ambiente, se degrada por la luz solar, bacterias u otros procesos químicos (ATSDR, 1997). Se ha reportado que su persistencia en suelo varía entre algunos días hasta 4 años, mientras que en vegetales oscila entre 3 y 60 días, aproximadamente (Márquez y col., 2010; Watts, 2012). Por otro lado, este compuesto ha sido detectado en muestras de aguas subterráneas, superficiales y potables (Martínez y col., 2000; Lambropoulou y col., 2002). De

acuerdo al modelo de distribución de Clorpirifos sugerido por Mackay (2001), el 49,64% de este compuesto se encuentra en suelos, el 46,33% en sedimentos y el 2,29% en agua; sin embargo, estos rangos son dependientes de la tasa de aplicación, el tipo de ecosistema y factores ambientales como la radiación solar.

El Clorpirifos se clasifica como un insecticida de clase II o moderadamente tóxico (EPA, 2011), es decir, que puede afectar al sistema nervioso central interfiriendo los impulsos, debido a su efecto inhibitor de la enzima acetilcolinesterasa, encargada de transmitirlos (Lazic y col., 2012). El Clorpirifos es altamente tóxico tanto para peces como para organismos invertebrados (Giesy y col., 1999). Para los humanos, respirar o ingerir este compuesto puede ocasionar desde dolor de cabeza, visión borrosa y salivación, hasta convulsiones, coma e incluso la muerte (ATSDR, 1997), dependiendo de la cantidad, concentración y el tiempo de exposición.

En particular, en Chile se ha detectado Clorpirifos en innumerables productos comestibles, principalmente en verduras y hortalizas (INIA, 2012; PAF, 2008; Muñoz, 2014). El Servicio Agrícola Ganadero (SAG), responsable de establecer las directrices para la fiscalización, uso, manejo y comercio de plaguicidas y fertilizantes, ha establecido los límites máximos permitidos para el Clorpirifos, que van desde 0,01 hasta 2 mg/kg para distintos tipos de alimentos (MINSAL, 2011), basándose en el CODEX ALIMENTARIUS. Por motivos de salud pública, en algunos países el Clorpirifos ha sido añadido al agua de consumo para controlar la presencia de larvas acuáticas, donde el límite máximo permitido es de 30 µg/L

(OMS, 2006). En humanos expuestos al Clorpirifos se establece que el nivel de toxicidad dermal y oral es de 5 mg/kg y de 1 mg/kg de peso corporal al día, respectivamente (Aragro, 2007).

1.4 CUANTIFICACIÓN DE CONTAMINANTES

Un factor clave en cualquier estudio de movilidad de contaminantes en el medio ambiente es la metodología para su cuantificación, donde la preparación de muestras constituye uno de los pasos críticos en el proceso de análisis. En consecuencia, es necesario evaluar permanentemente el desempeño de las distintas técnicas de extracción analítica, con el objetivo de idear métodos alternativos que permitan obtener resultados satisfactorios, emplear sustancias químicas menos peligrosas, disminuir la cantidad de disolventes y residuos químicos, reducir el consumo de energía y tiempo, y disminuir los costos económicos.

Para llevar a cabo la extracción de Clorpirifos desde matriz acuosa, se pueden emplear diferentes técnicas, donde las más habituales son la extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE) y microextracción en fase sólida (SPME) (Ravelo, 2009); en este estudio se empleó la técnica de SPE, que purifica y enriquece una muestra mediante el uso de un soporte sólido que retiene selectivamente al analito, permitiendo eluirlo con un disolvente adecuado. Entre sus ventajas destacan: baja manipulación de la muestra, alto poder de concentración, ausencia de emulsiones, posibilidad de automatización, obtención de extractos

purificados con altas recuperaciones y versatilidad en el tipo de adsorbentes utilizados. Entre los adsorbentes de extracción se encuentran los discos, jeringas y cartuchos. Los primeros se emplean para concentrar grandes volúmenes de muestra (entre 2 y 4L, con escasa resistencia al paso de muestra); mientras que las jeringas y cartuchos, además de poder ser integrados en línea con el sistema de medición, permiten una mínima manipulación de la muestra. Uno de los cartuchos más utilizados en esta técnica es el C₁₈ (octadecilsilano), cuya estructura es –Si-(CH₂)₁₇-CH₃ y corresponde a un adsorbente de fase reversa, donde interaccionan los grupos funcionales no polares del soporte sólido con los analitos de la muestra, por medio de fuerzas Van der Waals (Peña, 2011).

El proceso de concentración de la muestra a través de la técnica SPE consta de las siguientes etapas (Canosa, 2008):

- (1)** Acondicionamiento de la fase estacionaria: se hace pasar a través del cartucho un disolvente o mezcla de disolventes con el objetivo de eliminar las impurezas, hidratar la fase estacionaria y facilitar la transferencia de materia con la muestra.
- (2)** Carga de la muestra: paso de la muestra a través del material adsorbente, con el objetivo de retener cuantitativamente el analito con cierto grado de selectividad.
- (3)** Lavado: se hace pasar a través del cartucho un disolvente con gran afinidad por las interferencias.

(4) Elución: empleando un disolvente apropiado, se recupera el analito de la fase adsorbente.

Pese a las ventajas mencionadas, al aplicar este método existe la posibilidad de bloqueo en el sistema y de pérdida de analitos volátiles (Luque de Castro y col., 1993).

Con el objetivo de disminuir la cantidad de disolventes empleados, se desarrolló la microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) para pre-concentrar analitos orgánicos desde matrices acuosas, siendo aplicada a matrices alimenticias, fluidos biológicos y muestras sólidas (Rezaee y col., 2006; Rezaee y col., 2010). Esta técnica integra en una sola etapa la extracción y concentración de los analitos, empleando dos fases líquidas inmiscibles: una acuosa (muestra) y otra orgánica (disolvente orgánico) (Martins y col., 2012).

La técnica DLLME consta de las siguientes etapas:

(1) Adición de un disolvente extractante (apolar) y un disolvente dispersante (polar) a una muestra acuosa que contiene el analito. Tras la adición se forma una dispersión de microgotas de extractante que asegura una gran superficie de contacto entre el analito y la fase extractante, favoreciendo y acelerando el proceso de transferencia de masa (Rezaee y col., 2006; Zang y col., 2009; Bosch y col., 2009) y alcanzando el equilibrio en forma rápida, que es la principal ventaja de este método (Martins y col., 2012).

(2) Posteriormente, la dispersión se centrifuga, permitiendo que las microgotas de extractante se agrupen y depositen formando solo una gota en el fondo del tubo, la cual es recolectada a través de una jeringa para su posterior análisis cromatográfico.

Las ventajas de esta técnica son su simplicidad, rapidez, bajo costo, bajo consumo de muestra y disolventes orgánicos, versatilidad, buenas recuperaciones, alta selectividad y altos factores de concentración (Herrera-Herrera y col., 2010). Por otro lado, su mayor desventaja consiste en la necesidad de cierta destreza para la manipulación y recuperación de la gota.

La eficacia de la DLLME depende de varias variables tales como: a) tipo y volumen de ambos disolventes (extractante y dispersante), b) la fuerza iónica, c) los tiempos de extracción y centrifugación, d) el control de pH y, e) la adición de reactivos para llevar a cabo la extracción de los compuestos de interés. Los disolventes de extracción más utilizados son el clorobenceno, diclorometano y tetracloruro de carbono; mientras que los disolventes de dispersión empleados con mayor frecuencia son la acetona, acetonitrilo, metanol y etanol (García, 2013). Los valores de Log K_{ow} para el clorobenceno y para el diclorometano son 2,98 y 1,25, respectivamente (Gorsuch y col., 1991; Wuebing y col., 2016); mientras que para la acetona y el metanol son -0,24 y -0,77, respectivamente (Van Leeuwen y Hermens, 1995); evidenciando que los disolventes de extracción tienen un carácter hidrofóbico, mientras que los de dispersión generalmente son de carácter hidrofílico.

El análisis de plaguicidas es probablemente el campo donde la DLLME ha encontrado sus mayores aplicaciones (Herrera-Herrera y col., 2010); aunque también se utiliza en medicamentos y para otros contaminantes orgánicos.

La técnica más adecuada para el análisis de contaminantes orgánicos es la cromatografía gaseosa (GC), ya que posee un gran poder de resolución, alta sensibilidad y selectividad. Esta técnica, además, exhibe una gran versatilidad: más del 60% de los plaguicidas registrados y sus metabolitos pueden ser detectados por GC (Santos y Galceran, 2002), dada su volatilidad relativamente alta y gran estabilidad a altas temperaturas. Entre estos plaguicidas se encuentran los organofosforados (OPs) y los organoclorados (OCPs), los cuales requieren un detector de fotometría de llama (FID), detector de nitrógeno-fósforo (NPD), de captura electrónica (ECD) o un espectrómetro de masas (MS) (Zhang y col., 2002).

Para el análisis de plaguicidas no existen ni procedimientos ni técnicas universales. En consecuencia, se debe evaluar cada caso en particular y establecer las condiciones adecuadas de extracción, debiendo optimizar las condiciones cromatográficas para la detección, identificación y cuantificación de los plaguicidas (Morell, 1993).

1.5 LOS PLAGUICIDAS Y SU MOVILIDAD

En base a lo descrito anteriormente, se evidenció la presencia de plaguicidas como el Clorpirifos en suelos, donde su movilidad depende, entre otros factores, del

contenido de MOD presente, cuyas propiedades específicas pueden influir en la biodisponibilidad de plaguicidas hidrófobos (Bejarano y col., 2005).

De acuerdo a la Tabla 1-1, el Clorpirifos es un compuesto poco soluble en agua, y presenta una fuerte tendencia a separarse de la fase acuosa e incorporarse a las fases orgánicas de su entorno. Es por esta razón que resulta importante determinar el efecto que tiene la MOD sobre la movilidad de estos contaminantes en matrices acuosas a través del perfil de suelo.

En el presente estudio se busca, en una primera etapa, evaluar las técnicas de SPE y DLLME para la separación del Clorpirifos desde matriz acuosa, para su posterior cuantificación por medio de GC con μ ECD. Luego, sobre la base de los parámetros analíticos determinados para cada una de ellas, se seleccionará la técnica más adecuada para calcular la concentración del analito Clorpirifos en las soluciones de suelo, evaluando la movilidad del compuesto organofosforado a través del perfil de un suelo contaminado y la influencia que tiene la MOD sobre este.

2. HIPÓTESIS

La materia orgánica disuelta presente en enmiendas orgánicas modifica la movilidad de Clorpirifos, favoreciendo su migración a través del perfil de suelo.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la materia orgánica disuelta proveniente de enmienda orgánica sobre la movilidad de Clorpirifos en columnas de suelo fortificado.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar, validar y comparar las metodologías de extracción en fase sólida y microextracción líquido-líquido dispersiva, para la cuantificación de Clorpirifos en solución de suelo.
- Evaluar la materia orgánica disuelta desde la enmienda orgánica (Humex) y caracterizarla.
- Preparar mezclas de suelo fortificadas con Clorpirifos y Clorpirifos Oxon, para la construcción de columnas.
- Aplicar la materia orgánica disuelta a las columnas con suelos fortificados, para evaluar la movilidad de Clorpirifos y Clorpirifos Oxon en el perfil de suelo.
- Analizar e interpretar los resultados.

4. MATERIALES Y REACTIVOS

4.1 MATERIALES E INSTRUMENTOS

- Adaptadores de teflón para la SPE.
- Agitador, Gel Rocker 50, Bhanu.
- Autovortex SA5, Stuart Scientific.
- Balanza Analítica, Precisa 125A, Swiss Quality.
- Baño Seco, Sahara 310, Rocker.
- Cámara de vacío para SPE, Manifold.
- Cartuchos de extracción (cartridge) C₁₈ Sep Pak, Waters.
- Centrifuga, Z 383 K, Hermle.
- Cromatógrafo Gaseoso, 7890A, Agilent Technologies, con μ ECD.
- Cubetas de vidrio de 1 mL para espectrómetro.
- Electrodo para medición de pH, Sentix 21, WTW.
- Embudo Buchner.
- Espectrofotómetro UV/Vis, Unicam.
- Estufa, WTB Binder.
- Handy Step, Brand.
- Jeringa analítica de precisión de 0,1, 0,5, 1 y 5 mL.

- Jeringa de vidrio, Normax.
- Matraces aforados.
- Matraz Kitasato 500 mL.
- Membrana de nitrato de celulosa tamaño de poro 0,45 μm , Sartorius Stedim.
- pH metro, PMX 3000, WTW.
- Pipeta auxiliar de macropipeteo, Brand.
- Pipeta, de 1000 y 5000 μL , Pipet-Lite XLS.
- Pipetas volumétricas, graduadas y Pasteur.
- Sonicador S 30, Elmasonic.
- Tubos centrífuga.
- Tubos de vidrio con tapa.
- Vasos precipitados.
- Viales de vidrio color ámbar.

4.2 REACTIVOS

- Acetona, Emsure, P. A., Merck.
- Acetonitrilo, Emsure, P. A., Merck.
- Ácido Sulfúrico 95-97% P. A., Merck.
- Agua destilada.

- Agua Milli-Q.
- Clorpirifos (CP) (99,5% de pureza), Chem Service (USA).
- Clorpirifos Oxon (CPO) (99,0% de pureza), Chem Service (USA).
- Dicromato de sodio, G. T., Heyn.
- Disulfuro de carbono, Merck.
- HUMEX-80.
- Metanol, Emsure, P. A., Merck.
- n-hexano para análisis, Merck.
- Nitrógeno alta pureza, Indura, Chile.
- Sacarosa, P. A., Merck.
- Solución PCB 101, Dr Ehrenstorfer.
- Solución PCB 103, Dr Ehrenstorfer.
- Suelo de La Farfana fortificado con 16927 μg (CP y CPO)/kg.
- Suelo de La Farfana, no fortificado.

5. MÉTODOS

5.1 SELECCIÓN DEL SUELO

Para este estudio, se utilizaron muestras de suelo del sector urbano ubicado en el sector de La Farfana, Maipú, Región Metropolitana ($33^{\circ}31'26.35''S$; $70^{\circ}52'26.12''O$, elevación 596 m) (Figura 5-1). Esta zona se emplea con fines agrícolas, y es de interés ya que en sus proximidades se encuentra la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas La Farfana, la cual a través de sus descargas aporta materia orgánica al suelo.

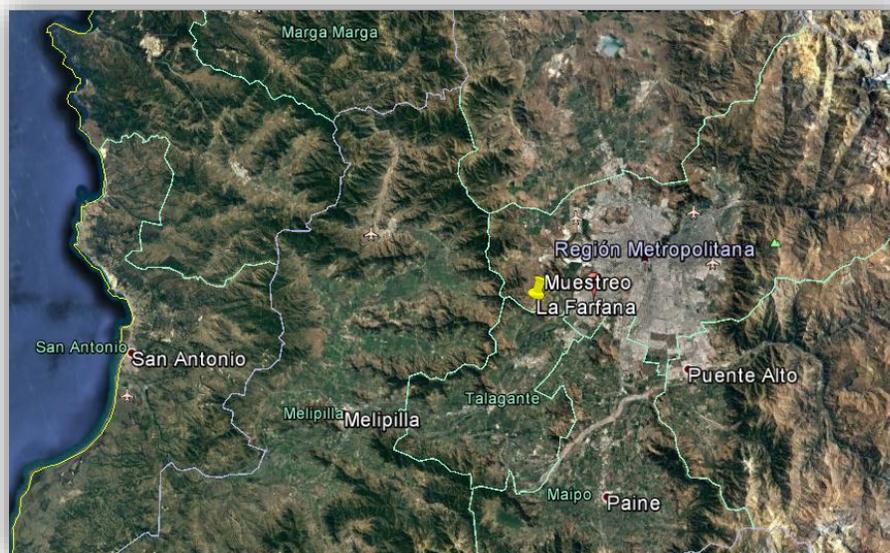


Figura 5-1: Mapa del sector de la toma de muestras.

Las muestras de suelos fueron secadas al aire hasta que su masa fuese constante, disgregadas, molidas y tamizadas hasta alcanzar un diámetro de tamaño de partícula menor a 1 mm.

5.1.1 Determinación del contenido de Carbono Orgánico

El contenido de Carbono Orgánico se determinó a través del método de Walkley-Black modificado (La Manna y col., 2007; Walkley y Black, 1934), el cual consiste en una combustión húmeda de la materia orgánica del suelo con un exceso de solución de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio ácido (H_2SO_4). Después de la reacción, se cuantificó calorimétricamente el Cr (III) en un espectrofotómetro Unicam UV-2 (UV-Visible), a una longitud de onda de 600 nm.

5.1.2 Determinación del pH

El pH fue determinado potenciométricamente, utilizando un electrodo combinado de vidrio-calomelano en una solución cuya proporción suelo-agua es 1:2,5 respectivamente. Para ello, se utilizó un pH-metro WTW pMX 3000 sobre el sobrenadante, obteniendo el registro en 3 soluciones por separado: (a) H_2O , (b) KCl 1 M, y (c) CaCl_2 0,01 M.

5.1.3 Textura del suelo

Para la determinación del contenido de arcilla, limo y arena, se utilizó el método de Bouyoucos (Gabriels y Lobo, 2006), para lo cual se pesaron 50 g de suelo (exactitud $\pm 0,1$ g) en un vaso precipitado de 1 L, al cual se le adicionó 700 mL de agua Milli-Q y 20 mL de hexametáfosfato de sodio al 10%. La suspensión fue agitada por 15 minutos, para luego trasvasijar el contenido a una probeta de 1 L, aforándose a ese volumen. Luego, se procedió a tapar la boca de la probeta para

agitar por un minuto. Esta suspensión se dejó reposar por 4 minutos, para luego determinar su temperatura y densidad con el hidrómetro. Posteriormente, se dejó reposar la suspensión durante 2 horas; y se registró una segunda lectura de temperatura y del hidrómetro.

A las lecturas del hidrómetro se les realizó una corrección de temperatura de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$L_{1\text{Corregida}} = L_1 + |(T_1(^{\circ}\text{F}) - 67^{\circ}\text{F}) \times 0,2|$$

$$L_{2\text{Corregida}} = L_2 + |(T_2(^{\circ}\text{F}) - 67^{\circ}\text{F}) \times 0,2|$$

Donde, L_1 y L_2 corresponden a la densidad de la suspensión para cada una de las lecturas, T_1 y T_2 a la temperatura de la suspensión para cada una de las lecturas, 67 a un factor de corrección de la temperatura y 0,2 a un factor de corrección de la densidad.

El porcentaje de arena, limo y arcilla fue determinado mediante las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Arena} = 100 - (L_{1\text{Corregida}} \times 2)$$

$$\% \text{ Arcilla} = L_{2\text{Corregida}} \times 2$$

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arena} + \% \text{ Arcilla})$$

La textura del suelo se obtuvo a partir de los porcentajes obtenidos anteriormente y utilizando el triángulo de texturas (Figura 5-2).

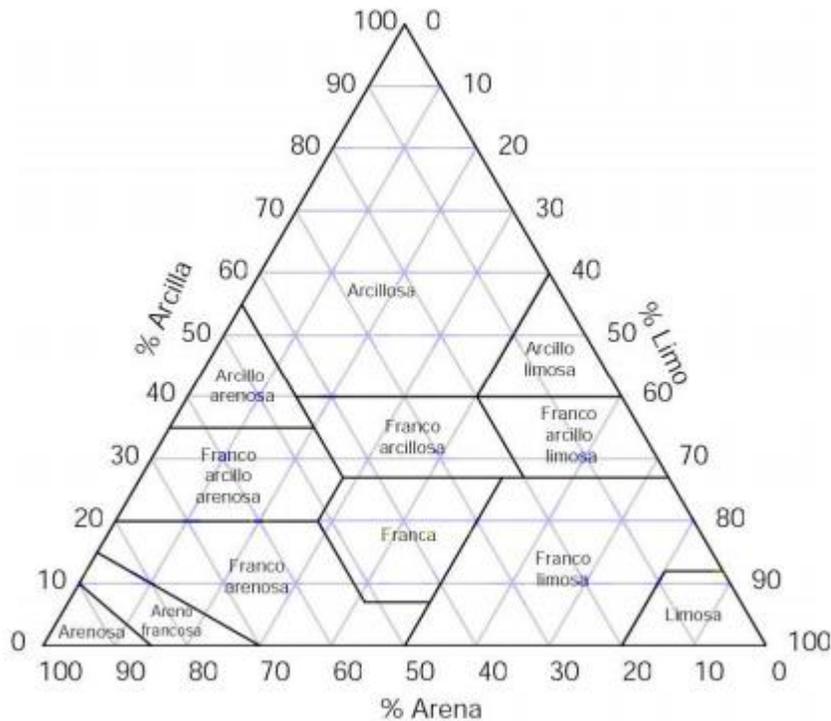


Figura 5-2: Triángulo textural (Gabriels y Lobo, 2006).

5.1.4 Determinación de la capacidad de intercambio catiónico

La capacidad de intercambio catiónico se determinó de acuerdo al método de acetato de sodio a pH 8,2, para lo cual se pesaron 2,5 g de suelo y se agregó una solución de acetato de sodio 1 M, ajustado a pH 8,2 con ácido acético. La suspensión se agitó y se centrifugó a 3000 rpm. Se agregaron dos porciones adicionales de acetato de sodio, con la sucesiva agitación y posterior separación por centrifugación.

A la fracción sólida se le agregó una porción de etanol, se agitó y se centrifugó a 3000 rpm, desechándose el sobrenadante. Esta operación se repitió dos veces sucesivas.

Posteriormente, se agregó al sólido una porción de acetato de amonio 1 M, ajustado a pH 7,0 con amoníaco, se agitó la suspensión y se centrifugó a 3000 rpm. El sobrenadante fue filtrado y recolectado para su análisis. Esta operación se repitió dos veces.

Las tres alícuotas se aforaron a 50 mL y se realizó la lectura de la concentración de sodio mediante Espectroscopía de Emisión Atómica (EEA) a 589 nm (Figuroa, 2015).

5.1.5 Preparación del suelo fortificado

Para preparar 200 g de suelo fortificado con 100 μg (CP y CPO)/kg, se tomaron 1,182 g de suelo con 16927 μg (CP y CPO)/kg previamente fortificado en el laboratorio (S_1) mezclándose con 198,818 g de suelo no fortificado, proveniente de La Farfana (S_2) (Figura 5-3).

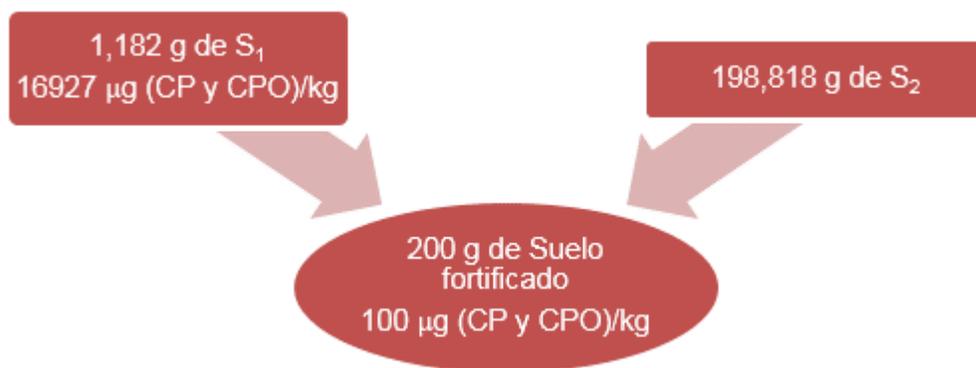


Figura 5-3: Esquema de la preparación de suelo fortificado.

5.2 OBTENCIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DISUELTA DESDE HUMEX

Alcance: En este estudio se empleó como enmienda orgánica el producto comercial HUMEX-80, fertilizante cuya composición es de ácidos húmicos 80% p/p (Figueroa, 2015); este producto corresponde a una fuente natural de humus utilizada en la agricultura, para aumentar el contenido de materia orgánica del suelo.

5.2.1 Extracción de MOD

Para llevar a cabo la extracción de MOD, se utilizó una razón de 1:10 entre la muestra de HUMEX-80 y agua. Se desarrolló el siguiente procedimiento:

- (1) Pesar 3 g de enmienda orgánica en los tubos centrífuga.
- (2) Adicionar 30 mL agua, de acuerdo a la relación indicada.
- (3) Agitar durante 2 horas.
- (4) Centrifugar a 3200 rpm durante 10 minutos.

Posteriormente, se separó el sobrenadante y se realizó la filtración al vacío bajo campana, utilizando un filtro de nitrato de celulosa con un tamaño de poro de 0,45 μm . La solución filtrada se recolectó en un frasco plástico y fue almacenada a 4°C para su posterior utilización.

5.2.2 Determinación del Carbono Orgánico en muestra de MOD

Para determinar el contenido de Carbono Orgánico de la solución obtenida en el punto anterior, se generó una curva de calibración con una solución estándar de

sacarosa de 12,5 mg/mL, preparada pesando 1487,5 mg de sacarosa disueltos en agua Milli-Q, en un matraz aforado de 50 mL. En base a esta solución, se prepararon 6 estándares entre 0 y 1,5 mg/mL.

Se desarrolló el método de Walkley-Black modificado, descrito en el punto 5.1.1. Este método se aplicó a las muestras de solución estándar para la curva de calibración y a la muestra de MOD, por triplicado.

5.2.3 Preparación de la solución de MOD

A partir de la solución de MOD proveniente de la enmienda orgánica obtenida anteriormente, se prepararon 200 mL de una nueva solución de MOD de 10 mg/L disuelta en agua Milli-Q, ajustando su pH a $6,0 \pm 0,2$.

5.3 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS PARA CLORPIRIFOS

5.3.1 Condiciones cromatográficas

La cuantificación de los analitos se desarrolló mediante el análisis de las muestras inyectadas en GC- μ ECD. Con el objetivo de utilizar las condiciones cromatográficas óptimas para la visualización de los analitos, se emplearon los parámetros indicados en las Tablas 5-1 y 5-2 (Muñoz, 2014).

Tabla 5-1: Condiciones cromatográficas optimizadas para la cuantificación de CP por GC- μ ECD.

Temperatura de inyección	250 °C
Detector	300 °C
Gas	N ₂
Make Up N ₂	20 mL/min
Flujo	1 mL/min
Volumen de inyección	10 μ L
Modo de inyección	Splitless
Columna	HP-5: 325°C: 30m x 320 μ m x 0,25 μ m

Tabla 5-2: Programa de temperatura empleado para la cuantificación de CP por GC- μ ECD.

Puntos	Razón [°C/min]	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Tiempo total [min]
Inicial	---	100	1	1
Rampa 1	85	150	0	1,5
Rampa 2	25	200	0	3,6
Rampa 3	7	280	0	15

5.3.2 Curva de calibración para Clorpirifos

Para realizar la curva de calibración del compuesto CP, se inició preparando una solución madre (SM) de 50 mg/L, para lo cual se pesaron 2,5 mg de una muestra sólida de CP (99,5% de pureza), la que fue disuelta en n-hexano y se llevó a un matraz aforado de 50 mL. Posteriormente, se preparó una solución de partida (SP) de 500 μ g/L, disolviendo 1 mL de la SM en un matraz aforado de 100 mL con n-hexano. En base a la SP, se elaboraron 6 Soluciones estándar para la curva de calibración (por duplicado, en un rango entre 25 y 400 μ g/L), sobre las cuales se agregó un estándar interno (IS) de PCB 103, adicionado por pesada.

5.4 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN

Se optimizaron y compararon las técnicas de extracción en fase sólida (SPE) y microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), para la extracción de CP desde matriz acuosa.

5.4.1 Extracción en fase sólida

La extracción del analito se realizó utilizando un Manifold conectado a la red de vacío, de acuerdo al procedimiento descrito por Lazic y col., (2012). Se trabajó con cartuchos C₁₈ (Figura 5-4).

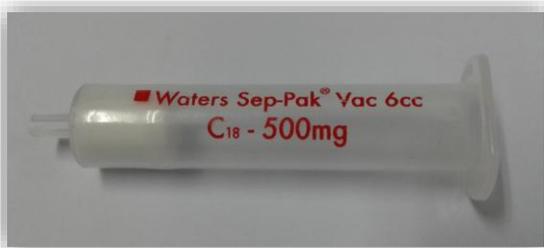


Figura 5-4: Cartucho C₁₈ Sep-Pak, Waters, utilizado para el proceso de SPE.

En esta etapa, se empleó una solución de CP 250 µg/L disuelta en agua Milli-Q. Se llevaron a cabo dos pruebas de extracción para determinar la repetibilidad del método, en la primera se efectuó una elución y en la segunda, tres eluciones; cada una de ellas se realizó en triplicado.

El procedimiento general de la SPE se detalla a continuación:

- (1) El acondicionamiento de cartuchos se realizó con 5 mL (3-2 mL) de una mezcla ACN/MeOH (50/50 %v/v).
- (2) La carga de muestra, se realizó empleando 10 mL (5-5 mL) de la solución CP en cada cartucho.
- (3) El lavado de los cartuchos se llevó a cabo con 5 mL (3-2 mL) de agua Milli-Q.
- (4) La elución del analito se realizó con 6 mL (2-2-2 mL) de una mezcla ACN/MeOH (50/50 %v/v); recolectados en un vial previamente lavado, enumerado y pesado, como se muestra en la Figura 5-5.



Figura 5-5: Manifold y cartuchos utilizados para el proceso de SPE.

Las muestras eluidas fueron evaporadas a sequedad a través del paso de una corriente de N_2 a $30^\circ C$ durante 2 horas, y reconstituidas agregando 8 mL de n-hexano, el cual contiene el IS PCB 103 de $150 \mu g/L$. Posteriormente, las muestras

fueron sonicadas durante 10 minutos para asegurar una buena homogenización, para luego ser cuantificadas por GC- μ ECD.

La solución de CP de 250 μ g/L se inyectó en duplicado para evaluar la precisión de la inyección. Además, se inyectaron 10 muestras blanco (sin el analito) para la determinación del límite de detección y cuantificación de este método.

5.4.2 Microextracción líquido-líquido dispersiva

Para llevar a cabo la microextracción líquido-líquido dispersiva, se prepararon las siguientes soluciones:

- (1)** Solución de CP 250 μ g/L: en un matraz de 200 mL, se tomó 1 mL de una solución de CP 50 mg/L, disuelta en n-hexano; y se aforó con agua Milli-Q. El matraz fue cubierto con papel aluminio, con el fin de evitar la descomposición de la muestra por efecto de la luz.
- (2)** Solución extractante: en un vial color ámbar se mezclaron 20 mL de metanol y 1 mL de disulfuro de carbono.
- (3)** Solución de reconstitución de IS PCB 103 150 μ g/L en n-hexano.

Para el proceso de DLLME se utilizaron tubos de vidrio con tapa, que contenían 5 mL de la solución de CP 250 μ g/L. Lentamente, se les adicionó 1 mL de la solución extractante. Las mezclas resultantes fueron agitadas a 4000 rpm y centrifugadas a 2000 rpm, durante 3 minutos (Figura 5-6). Posteriormente, la gota formada fue extraída con una pipeta Pasteur y depositada en un vial color ámbar, para luego ser

llevada a sequedad con una corriente de N_2 a $40^\circ C$, durante 30 minutos. Finalmente, se realizó la reconstitución de las muestras con 0,5 mL de la solución de IS PCB 103 150 $\mu g/L$, para luego analizarlas en el equipo GC- μECD , por duplicado. En las pruebas realizadas se varió el tiempo de agitación, considerando 5 puntos entre 5 y 30 minutos, para determinar por medio del análisis cromatográfico, el tiempo óptimo para obtener la mayor recuperación del analito en solución acuosa.

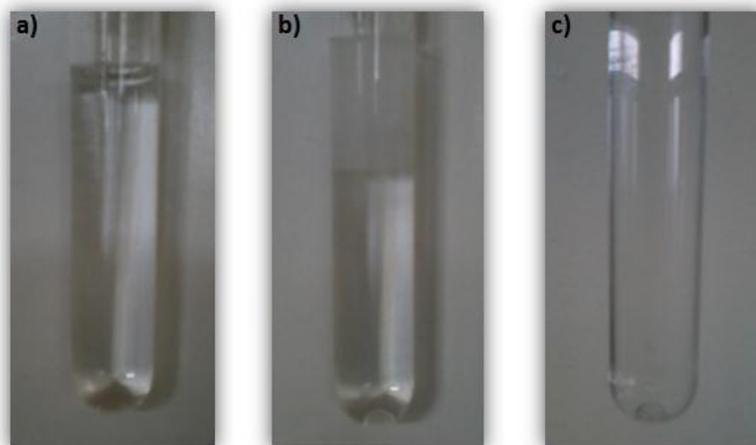


Figura 5-6: Tubo empleado en el proceso DLLME. a) Antes de la adición de la solución extractante, b) Después de la adición de la solución extractante. c) Posterior a la centrifugación.

5.4.3 Parámetros analíticos

Para determinar del límite de detección (LD) y cuantificación (LC) del método, en las técnicas de SPE y DLLME, se realizó la inyección de diez blancos según IUPAC. Para el LD se utilizó la fórmula $Y_{LD} = Y_B + 3 \sigma_B$, donde Y_B es el promedio de los blancos y σ_B es la desviación estándar. Para el cálculo de LC se desarrolló el mismo procedimiento, multiplicando por diez la desviación estándar (es decir, $Y_{LC} = Y_B + 10 \sigma_B$). Posteriormente, estos valores (Y_{LD} y Y_{LC}) fueron interpolados en la

curva de calibración del analito, obteniéndose los valores en unidades de concentración para LD y LC.

El cálculo del LD y del LC de la técnica se realizó por medio de la inyección de diez blancos (sólo n-hexano) según IUPAC, utilizando las mismas fórmulas empleadas para la determinación del LD y LC del método. Los valores (Y_{LD} y Y_{LC}) fueron interpolados en la curva de calibración del analito, obteniéndose los valores en unidades de concentración.

La precisión en este estudio fue evaluada por medio de la replicabilidad, donde además se evaluó el porcentaje de recuperación del analito.

5.5 EXPERIMENTOS EN COLUMNA

5.5.1 Movilidad de la MOD

Para evaluar la movilidad de la MOD aportada por la enmienda orgánica, se determinó el contenido de Carbono Orgánico presente en los eluidos de las soluciones de suelo no fortificado de la Farfana y suelo fortificado con CP y CPO de 100 μg (CP y CPO)/kg, para lo cual se instalaron las columnas de vidrio en el Manifold con 10 g de suelo y se adicionó un volumen de 14 mL (5-5-4mL) de agua o MOD (en duplicado) de acuerdo a la Figura 5-7.

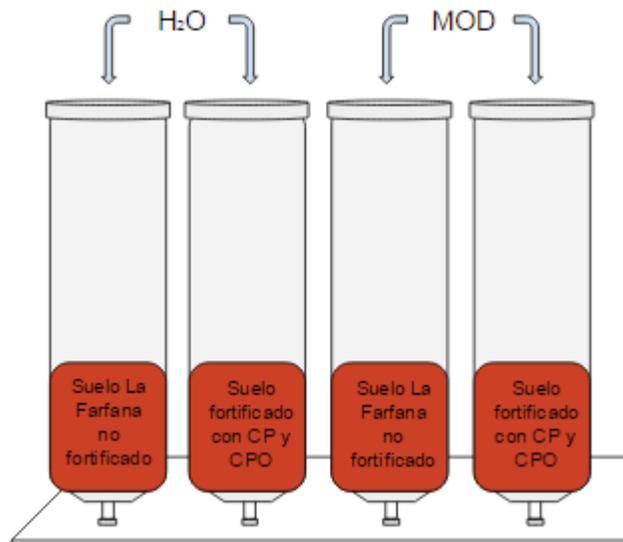


Figura 5-7: Esquema de las columnas de suelo utilizadas para la determinación de la movilidad de la MOD.

El análisis fue realizado empleando el método de Walkley-Black modificado, como se describe en el punto 5.1.1, en duplicado.

5.5.2 Movilidad de analitos Clorpirifos y Clorpirifos Oxon

Para evaluar la movilidad de los analitos CP y CPO a través del perfil de suelo, se colocaron en serie las columnas de vidrio con 10 g de suelo fortificado y no fortificado con los cartuchos C₁₈, para realizar de esta manera la SPE en forma continua. A cada columna se le adicionó agua o MOD, de acuerdo a la Figura 5-8. Este análisis se realizó en triplicado.

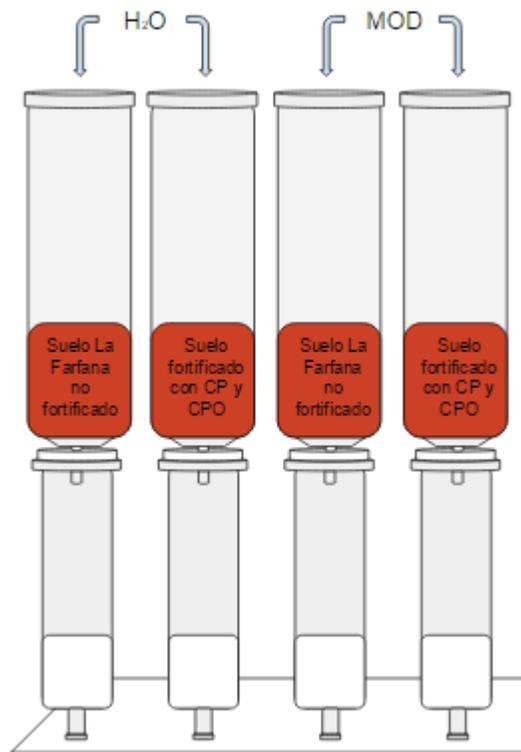


Figura 5-8: Esquema de las columnas de suelo utilizadas para evaluar la movilidad de CP y CPO.

Preliminarmente, los cartuchos C₁₈ fueron acondicionados de acuerdo a lo descrito en el punto 5.4.1. A continuación se describe el procedimiento de extracción:

- (1) En la parte superior del Manifold, se colocaron las columnas de suelo unidas a los cartuchos C₁₈ por medio de los adaptadores de teflón, y posteriormente se realizó la carga de la muestra. Al sistema armado se le adicionó un volumen de 14 mL (5-5-4 mL) de agua o MOD a la columna de vidrio que contenía el suelo de cada una de las muestras a extraer y se aplicó vacío.

- (2)** Posteriormente, se desmontaron las columnas de suelo dejando solamente a los cartuchos C₁₈ en el Manifold para el lavado, para lo cual se adicionaron 10 mL (5-5 mL) de agua Milli-Q y se aplicó vacío.
- (3)** A continuación, se desmontó el Manifold para colocar en la gradilla los viales color ámbar, los cuales estaban previamente descontaminados, pesados y enumerados. Se llevaron a cabo tres eluciones, donde se fueron cambiando los viales entre cada una de ellas. Se adicionaron 6 mL (3-3 mL) de una mezcla de ACN/MeOH (50/50 %v/v) y se aplicó vacío.
- (4)** Finalmente, los viales con los eluidos fueron colocados en la placa calefactora, donde las muestras se evaporaron a sequedad a través de una corriente de N₂ a 40°C durante 2 horas (Figura 5-9). Posteriormente, la reconstitución se realizó adicionando 0,5 mL de una solución de n-hexano, el cual contenía un IS (PCB 101 de 105,96 µg/L). Las muestras se sonicaron por 10 minutos para asegurar una buena homogenización y se almacenaron a 4°C hasta su análisis en el GC-µECD.



Figura 5-9: Mini Turbo Vap utilizado para secar las muestras con N₂ a 40°C.

5.6 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para el análisis e interpretación de los resultados, se emplearon parámetros como: desviación estándar (SD), desviación estándar relativa (RSD) y coeficiente de correlación (r); mientras que para el análisis estadístico se utilizó el programa Microsoft Excel 2013.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO

El suelo utilizado en este estudio pertenece al sector de La Farfana y corresponde a la orden inceptisoles de la serie Mapocho, que a su vez es miembro de la familia “Clayey, mixed, thermic, Vertic Xerochrepts”. Es de origen aluvial profundo y ocupa la posición de antiguas terrazas planas del río Mapocho (Comisión Nacional de Riego, Chile, 1981). Los resultados de la determinación del contenido de metales del suelo se muestran en la Tabla 6-1.

Tabla 6-1: Contenido de metal de los suelos muestreados en el sector La Farfana, Región Metropolitana.

Metal	Concentración [mg/kg]
Cd	2,6 ± 0,2
Cr	135 ± 1
Cu	567 ± 8
Mn	1125 ± 9
Ni	5,7 ± 0,6
Pb	59 ± 2
Zn	362 ± 2
Ca*	1,8 ± 0,1
Fe*	45,0 ± 0,7
Mg*	2,6 ± 0,2

*Concentraciones en g/kg.

Se determinó que el suelo de La Farfana, al igual que la mayoría de los suelos chilenos, posee un alto contenido de Cu y de Mn, con una concentración menor a aquella determinada en los suelos cercanos a yacimientos mineros en Chile, los cuales presentan 3 o 4 veces estas concentraciones (Luzio y col., 2006). Estos metales pesados, eventualmente, podrían competir con contaminantes orgánicos por los sitios de interacción que posee la materia orgánica.

Los resultados de la caracterización del suelo, realizada mediante métodos estandarizados para la determinación de Carbono Orgánico, pH, textura y capacidad de intercambio catiónico (CIC), se presentan en la Tabla 6-2.

Tabla 6-2: Características fisicoquímicas de los suelos de La Farfana.

Análisis	Resultado
pH (H ₂ O)	8,09 ± 0,08
pH (KCl)	7,06 ± 0,05
Conductividad	0,96 ± 0,08 [dS/m]
Carbono Orgánico	2,07 ± 0,03 [%]
Materia Orgánica	3,57 ± 0,05 [%]
CIC	34,0 ± 0,9 [cmol/kg]
Textura	Franco Arenoso
Arena	55 ± 1 [%]
Limo	28 ± 1 [%]
Arcilla	17,1 ± 0,4 [%]

El pH del suelo varía de neutro a ligeramente alcalino, siendo esto característico de los suelos de la Región Metropolitana (Luzio y col., 2006). La CIC es una medida que da cuenta del número de cationes del suelo que se encuentran disponibles para su intercambio. El suelo de La Farfana posee una CIC alta, lo que da cuenta que para el pH que posee, hay una alta presencia de cargas negativas y cationes intercambiables en solución, lo cual podría atribuirse al contenido de Carbono Orgánico que posee, ya que se ha descrito una proporcionalidad directa entre el contenido de Carbono Orgánico y la CIC (Luzio y col., 2006). Además, a partir de los porcentajes de Arena, Limo y Arcilla, se determinó que el suelo de La Farfana corresponde a un suelo de textura Franco Arenoso.

6.2 CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO EN MUESTRA DE MOD

Para la determinación del contenido de Carbono Orgánico en la muestra de MOD, proveniente del extracto obtenido desde la enmienda orgánica Humex, se obtuvieron las lecturas de las respectivas absorbancias para la curva de calibración de los estándares de sacarosa (Figura 6-1).

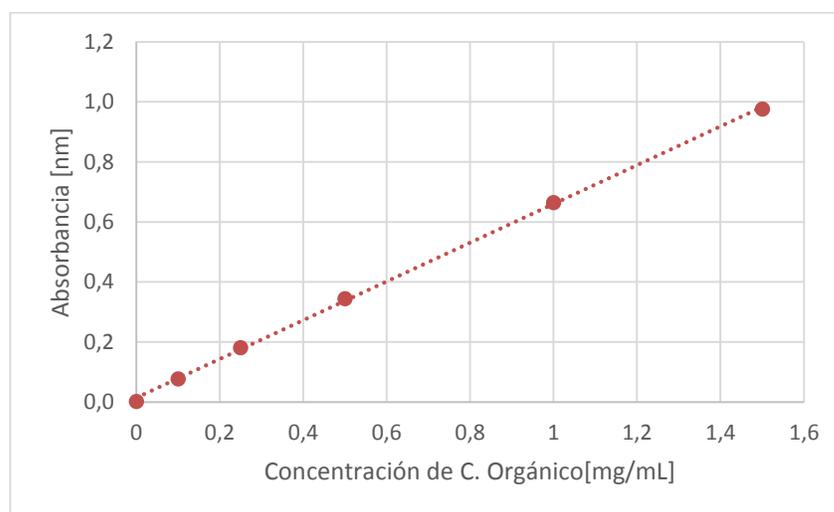


Figura 6-1: Curva de calibración utilizada para la determinación del contenido de C. Orgánico presente en muestra de MOD, obtenida a través del Espectrómetro UV/Visible.

$$\text{Curva de calibración: } y = 0,5975x + 0,0279 ; r = 0,9993$$

Se puede apreciar que las variables en estudio presentan una correlación lineal, con un r cercano a 1. Las barras de error no son apreciables en la curva de calibración, ya que la SD promedio para las medidas de absorbancia es de 0,004.

En la Tabla 6-3 se muestran las lecturas de las absorbancias para la muestra de MOD, obtenidas desde la enmienda orgánica Humex, en triplicado.

Considerando la curva de calibración obtenida anteriormente, se determinó el contenido de Carbono Orgánico de la solución de MOD.

Tabla 6-3: Lecturas de absorbancia y concentración de Carbono Orgánico para la muestra de MOD de Humex.

Muestra	Absorbancia [nm]	Absorbancia promedio [nm]	RSD [%]	Concentración C. Orgánico [mg/mL]
1	0,092			
2	0,085	0,093 ± 0,008	8,7	0,11
3	0,101			

La concentración de Carbono Orgánico para la muestra de MOD obtenida desde la enmienda orgánica fue de 0,11 mg/mL. Al evaluar la precisión por medio del parámetro de RSD para las lecturas de absorbancia de la muestra de MOD analizada, se pudo observar una buena replicabilidad, con un valor inferior a 9%.

6.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA CLORPIRIFOS

6.3.1 Curva de calibración Clorpirifos

En la Figura 6-2 se presentan los resultados de la curva de calibración CP, determinada utilizando las condiciones cromatográficas mencionadas en la sección 5.3.1 (Anexo, Tabla 9-1). En la Figura 6-3 se muestran los cromatogramas obtenidos para la curva de calibración del analito a través del equipo GC- μ ECD.

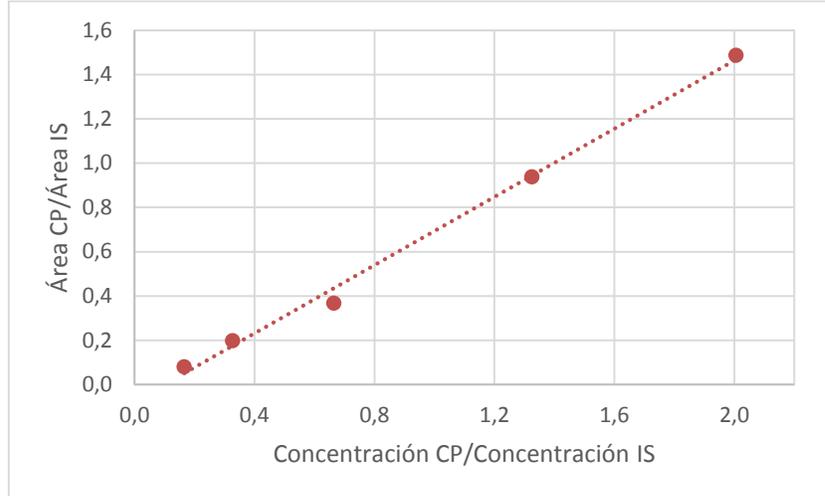


Figura 6-2: Curva de calibración obtenida para CP, analizada por GC- μ ECD.

$$\text{Curva de calibración CP: } y = 0,7712x - 0,0792 ; r = 0,997$$

En base a la linealidad de la curva de calibración y a los cromatogramas, se pudo verificar que los resultados mostraron una buena correlación. Las barras de error no son apreciables en la curva de calibración, ya que la SD promedio para las medidas de Área CP/Área IS es de 0,004.

La adición del IS se llevó a cabo con el propósito de mejorar la precisión de los resultados obtenidos de la cromatografía gaseosa, disminuyendo el error por inyección. Su elección se basó en los tiempos de retención de los compuestos empleados en este estudio, donde el tiempo de retención promedio del CP fue de 8,778 min., mientras que del IS fue 9,196 min.

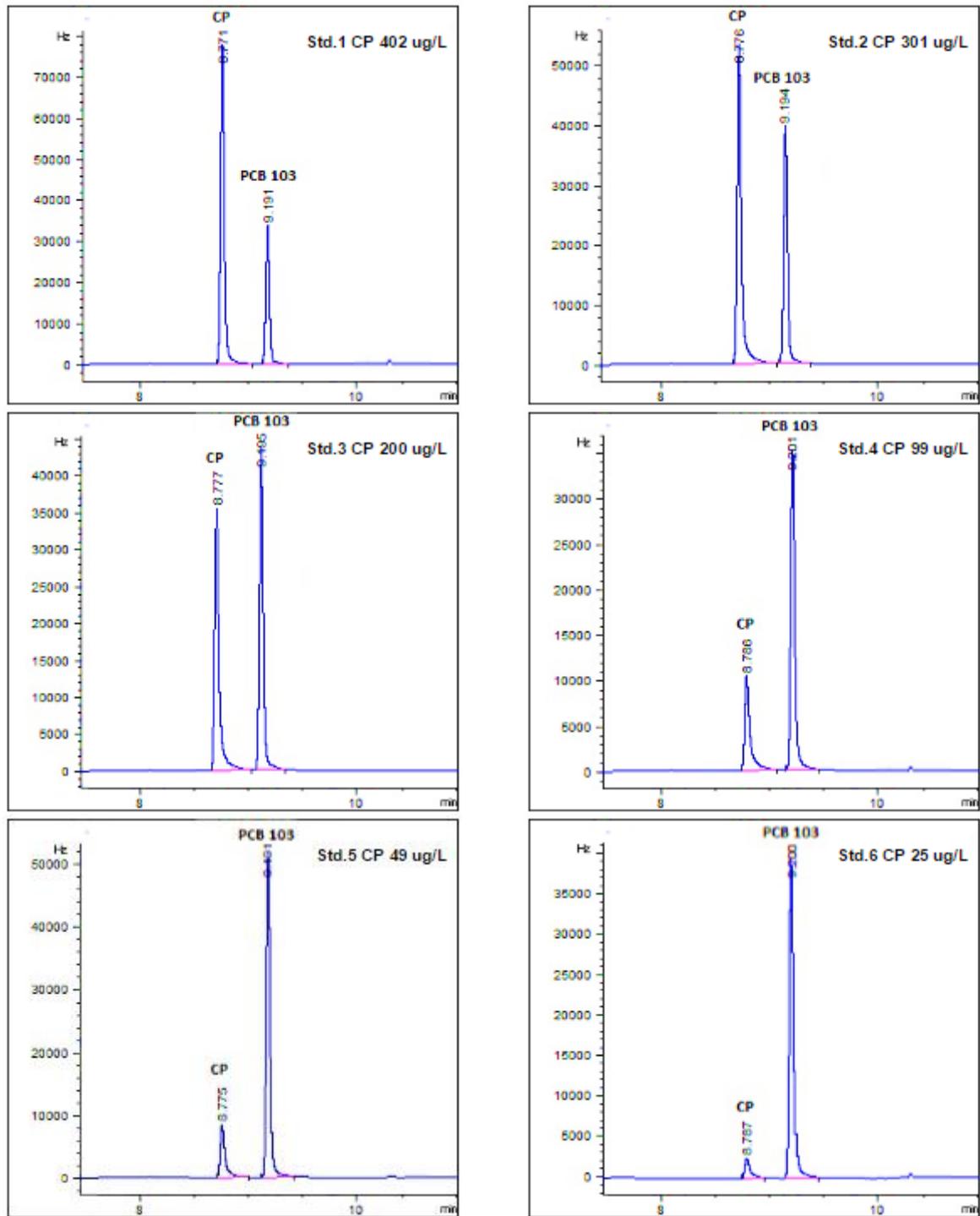


Figura 6-3: Cromatogramas de la curva de calibración de CP obtenida a distintas concentraciones del analito a través del GC- μ ECD.

A partir de los parámetros cromatográficos empleados, se evaluó la resolución (R_s) de los picos cromatográficos. Este parámetro constituye una medida cuantitativa de la capacidad para separar dos analitos, tomando en cuenta los tiempos de retención y ensanchamiento de cada pico cromatográfico; y se determinó a partir de la ecuación $R_s = \frac{2 \cdot \Delta t_r}{(W_b + W_a)}$, donde Δt_r es la diferencia entre los tiempos de retención de cada analito, W_a ancho del primer pico cromatográfico y W_b ancho del segundo pico cromatográfico (Valcárcel y Gómez, 1988).

Considerando el cromatograma de la Figura 6-4, obtenido a partir de la inyección de CP 250 $\mu\text{g/L}$ y un IS PCB 103 150 $\mu\text{g/L}$, se calculó un R_s de 2,3.

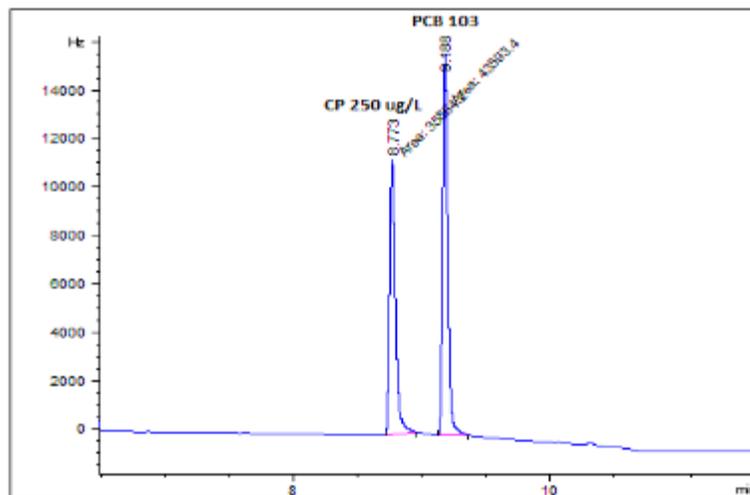


Figura 6-4: Cromatograma empleado para determinar el parámetro R_s .

Un valor de R_s igual a 1,5 indica una resolución prácticamente total, es decir, que existe una zona entre los picos en que la señal coincide con la línea base del cromatograma (Valcárcel y Gómez, 1988). De acuerdo a lo mencionado, el cromatograma obtenido se encuentra bien resuelto.

Alcance: Curva de calibración Clorpirifos Oxon.

Se fortificó el suelo de La Farfana con CP y CPO (Clorpirifox Oxon, uno de los metabolitos del compuesto Clorpirifos, producto de su oxidación), para determinar la movilidad de ambos analitos a través del perfil de suelo y evaluar cómo afecta la MOD en el proceso. Considerando además que durante el proceso de incubación de las muestras de suelo, es posible evidenciar la presencia de metabolitos del CP, como el CPO, el cual presenta una mayor toxicidad para mamíferos, peces e invertebrados (Watts, 2012).

Para la curva de calibración de CPO (Figura 6-5), se emplearon soluciones con un rango entre 80 y 300 µg/L y se utilizó una solución IS PCB 101 de aproximadamente 100 µg/L (Muñoz, 2014).

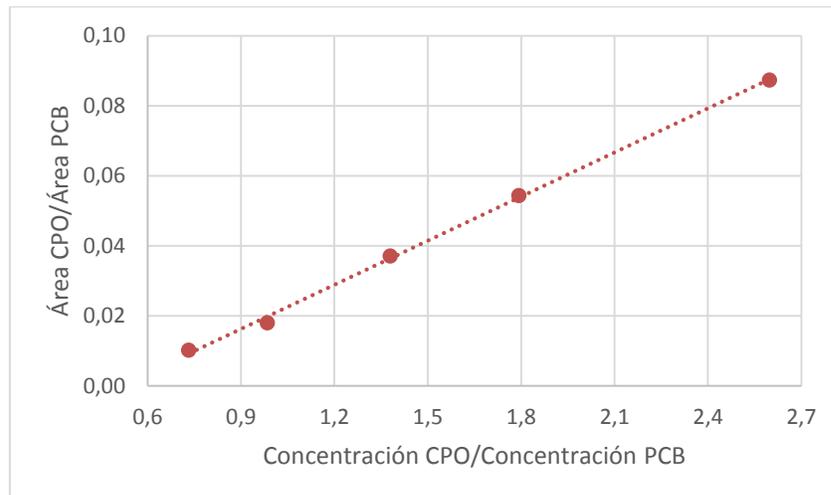


Figura 6-5: Curva de calibración obtenida para CPO, analizada por GC-µECD.

Curva de calibración CPO: $y = 0,049x - 0,0295$; $r = 0,996$

6.3.1.1 Límites de Detección y Cuantificación de la Técnica

Los resultados de las inyecciones de los blancos de n-hexano llevadas a cabo en el GC- μ ECD, utilizados para la determinación del LD y del LC de la técnica para los analitos CP y CPO, se presentan en la Tabla 6-4 (Anexo, Tabla 9-2), donde se ha determinado el promedio de las relaciones de las áreas, con su respectiva SD y RSD.

Tabla 6-4: Resultados de las inyecciones de n-hexano para determinar el LD y LC de la técnica por GC- μ ECD.

Muestra	Área CP [Hz]	Área CPO [Hz]	Área IS [Hz]	A_{CP}/A_{IS}	A_{CPO}/A_{IS}
1	25,8	33,4	30,5	0,8459	1,0951
2	43,1	51,1	35,6	1,2107	1,4354
3	57,1	36,6	48,9	1,1677	0,7485
4	44,8	32,5	31,0	1,4452	1,0484
5	93,2	27,9	51,2	1,8203	0,5449
6	38,4	31,1	41,0	0,9366	0,7585
7	52,1	29,7	30,3	1,7195	0,9802
8	51,3	34,8	50,2	1,0219	0,6932
9	44,2	27,7	53,0	0,8340	0,5226
10	41,6	21,5	53,1	0,7834	0,4049
Promedio (Y_B)				1,2	0,8
SD (σ_B)				0,4	0,3
RSD (%)				31,6	38,3

Al reemplazar los parámetros Y_B y σ_B en las ecuaciones descritas en la sección 5.4.3, e interpolando en las respectivas curvas de calibración para el CP y el CPO, se obtienen los siguientes resultados (Tabla 6-5):

Tabla 6-5: LD y LC de la técnica determinados para CP y CPO por GC- μ ECD.

Parámetro	Resultados para CP	Resultados para CPO
Y_{LD} [-]	2,4	1,7
Y_{LC} [-]	5,2	3,8
C_{LD} [$\mu\text{g}/\text{L}$]	3,2	35,3
C_{LC} [$\mu\text{g}/\text{L}$]	6,8	78,2

Los LD y LC de la técnica, determinados para cada analito, mostraron que de acuerdo a las condiciones cromatográficas empleadas en este estudio, los límites para el analito CP son aproximadamente 10 veces menores que para el CPO, demostrando una mayor sensibilidad de la técnica para este compuesto. Se observó también que el parámetro de RSD, con el cual se determina la precisión de las inyecciones, superó el 30% para cada uno de los compuestos, lo cual es concordante al considerar los niveles de concentración con los que se trabajaron.

6.4 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN

6.4.1 Extracción en fase sólida

Los resultados de las pruebas de SPE para las muestras acuosas fortificadas con CP a 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ inyectadas en el GC- μ ECD, se muestran en la Tabla 6-6 (Anexo, Tabla 9-3) y Tabla 6-7 (Anexo, Tabla 9-4), donde se exhiben las concentraciones del analito, determinadas considerando el factor de concentración. Se llevaron a cabo dos pruebas de extracción, en la primera se realizó una etapa de elución y en la otra, tres etapas de elución.

Tabla 6-6: Resultados de las muestras de CP 250 µg/L por SPE analizadas por GC-µECD (Primera prueba).

Muestra	C _{CP} [µg/L]	RSD [%]	Recuperación [%]	Recuperación promedio [%]
1	210 ± 6	2,8	84,0	87,7 ± 13,7
2	257 ± 3	1,0	102,8	
3	190 ± 15	7,7	76,1	

Tabla 6-7: Resultados de las muestras de CP 250 µg/L por SPE analizadas por GC-µECD (Segunda prueba).

Elución	Muestra	C _{CP} [µg/L]	RSD [%]	Recuperación [%]	Recuperación promedio [%]
1	1	42 ± 2	5,0	16,8	31,5 ± 13,9
	2	111,2 ± 0,2	0,2	44,5	
	3	83 ± 5	5,9	33,4	
2	1	18,6 ± 0,2	1,1	7,4	6,7 ± 0,8
	2	14,6 ± 0,2	1,6	5,8	
	3	17,0 ± 0,3	1,5	6,8	
3	1	ND	-	-	-
	2	ND	-	-	
	3	ND	-	-	

ND: No detectado.

En la primera prueba, la recuperación promedio para la solución de CP 250 µg/L fue superior al 87%, con valores de RSD inferiores a 8%, mientras que en la segunda prueba se realizaron tres eluciones sucesivas, reflejando a través de los resultados, que una tercera elución no es necesaria, con una recuperación promedio total de 38,2%, con RSD inferiores a 6%. Al comparar ambas pruebas se observó que la repetibilidad del método no fue lo suficientemente adecuada, evidenciando un error experimental durante el proceso, pero destacando la precisión en los resultados.

6.4.1.1 Límites de Detección y Cuantificación del Método

El resultado de las lecturas cromatográficas a través del GC- μ ECD para las muestras blanco, realizadas para determinar el LD y el LC del método SPE se muestran en la Tabla 6-8 (Anexo, Tabla 9-5).

Tabla 6-8: Resultados de las muestras blanco para la determinación del LD y LC del método SPE por GC- μ ECD.

Muestra	Área CP [Hz]	Área IS [Hz]	A_{CP}/A_{IS}
1	216,9	47698,7	0,00455
2	256,6	52872,3	0,00485
3	272,8	59026,1	0,00462
4	267,7	57700,1	0,00464
5	253,7	54040,2	0,00469
6	226,7	50114,8	0,00452
7	251,4	50989,1	0,00493
8	256,1	51690,3	0,00495
9	274,3	57478,2	0,00477
10	267,3	53862,5	0,00496
Promedio (Y_B)			0,0047
SD (σ_B)			0,0002
RSD (%)			3,5

Al reemplazar el promedio y la SD en las ecuaciones descritas en la sección 5.4.3, se obtuvo el LD y el LC (Y_{LD} y Y_{LC}). Posteriormente, estos valores fueron interpolados en la curva de calibración de CP, para obtenerlos en unidades de concentración (Tabla 6-9).

Tabla 6-9: LD y LC del método determinados para SPE.

Parámetro	Resultado
Y_{LD} [-]	0,0053
Y_{LC} [-]	0,0067
C_{LD} [μ g/L]	13,1
C_{LC} [μ g/L]	13,4

A través del parámetro de RSD se logró evaluar la precisión en las inyecciones realizadas, demostrando una alta replicabilidad.

En la Figura 6-6 se muestra un cromatograma de una de las muestras blanco de CP, empleadas para la determinación del LD y LC del método SPE.

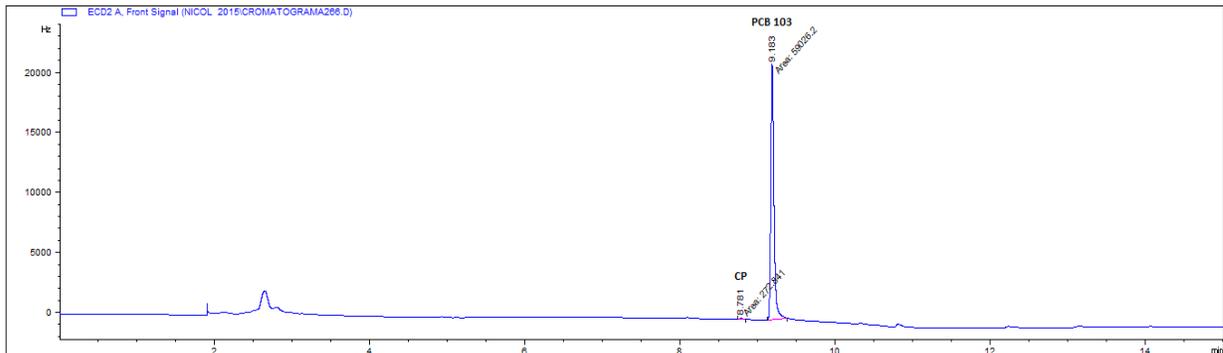


Figura 6-6: Cromatograma de muestra blanco empleado para determinar el LD y LC del método SPE.

Se logró verificar, a través del cromatograma de la muestra blanco, que para los tiempos de retención del analito y del IS, no hay presencia de un efecto matriz que dificulte la cuantificación de los picos cromatográficos.

Alcance: Empleando muestras de CP 25 $\mu\text{g/L}$ en agua Milli-Q, se determinó el LD y el LC del método, con el propósito de corroborar que a través del método SPE se pueden determinar concentraciones bajas de CP. Los resultados de las inyecciones llevadas a cabo en el GC- μECD se presentan en la Tabla 6-10 (Anexo, Tabla 9-6).

Tabla 6-10: Resultados de las muestras CP 25 $\mu\text{g/L}$ SPE a través de GC- μECD .

Muestra	Área CP [Hz]	Área IS [Hz]	A_{CP}/A_{IS}
1	1416,7	44642,0	0,03
2	1744,8	48973,4	0,04
3	577,8	51989,9	0,01
Promedio (Y_B)			0,03
SD (σ_B)			0,01
RSD (%)			50,4

Repitiendo el mismo procedimiento llevado a cabo con anterioridad, se calculó el LD y el LC (Tabla 6-11).

Tabla 6-11: LD y LC de la técnica determinados para SPE.

Parámetro	Resultado
Y_{LD} [-]	0,06
Y_{LC} [-]	0,13
C_{LD} [$\mu\text{g/L}$]	21,6
C_{LC} [$\mu\text{g/L}$]	32,5

Se logró verificar que empleando una solución de CP de 25 $\mu\text{g/L}$, la misma empleada como el estándar de concentración más bajo en la curva de calibración, es posible detectar y cuantificar el analito CP. Al evaluar la replicabilidad de las inyecciones, se desprende que el elevado valor de RSD, superior a 50%, se debe a la fluctuación del área de CP en la muestra 3, respecto a las otras muestras.

6.4.2 Microextracción líquido-líquido dispersiva

Los resultados de las pruebas de DLLME para la solución de CP 250 $\mu\text{g/L}$ se muestran en la Tabla 6-12 (Anexo, Tabla 9-7). La Figura 6-7 presenta un gráfico donde se puede observar el porcentaje de recuperación de CP en función del tiempo de agitación de las muestras, mientras que los cromatogramas para los tiempos de agitación de 5, 15 y 30 min. se muestran en la Figura 6-8.

Tabla 6-12: Resultados de muestras sometidas a DLLME analizadas por GC- μECD .

Muestra	C_{CP} [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]	Recuperación [%]
1 (5 min)	227 \pm 88	38,6	91
2 (10 min)	376 \pm 204	54,5	150
3 (15 min)	347 \pm 103	29,6	139
4 (25 min)	172 \pm 3	1,5	69
5 (30 min)	159 \pm 105	66,1	63

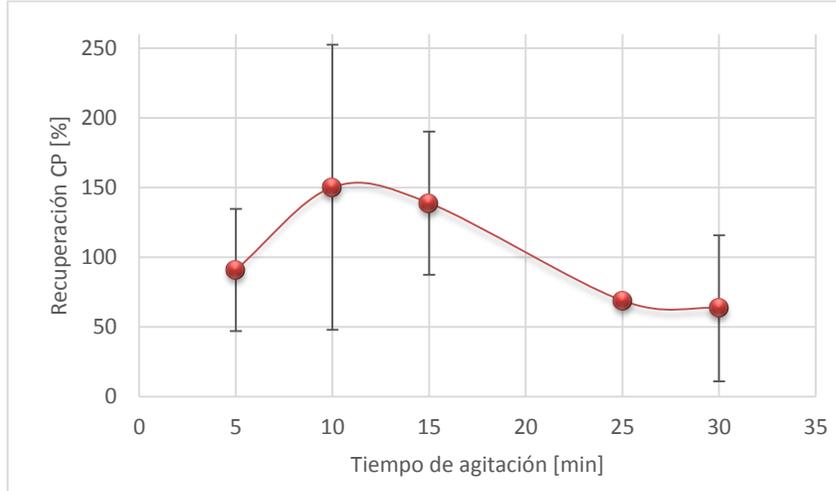


Figura 6-7: Tiempo de agitación [min] vs Recuperación CP [%] para el proceso de DLLME.

Para obtener una solución homogénea de CP 250 µg/mL en agua Milli-Q, se evaporó hasta sequedad 1 mL de CP 50 mg/L disuelto en n-hexano, en un vial a 40°C con N₂. Posteriormente, con ayuda de gotas de metanol, se arrastró la solución desde el vial hacia un matraz de 200 mL.

Se verificó la variación del porcentaje de recuperación de CP al modificar el tiempo de agitación de la muestra, lo que está relacionado con la transferencia de masa entre los disolventes y el analito; sin embargo, los elevados valores de RSD en la mayoría de las muestras indican que la precisión de la metodología aplicada no es la más adecuada, evidenciando que para esta prueba el tiempo de agitación no es un factor determinante al extraer el analito, pero destacando el bajo consumo de solventes y la poca manipulación de la muestra.

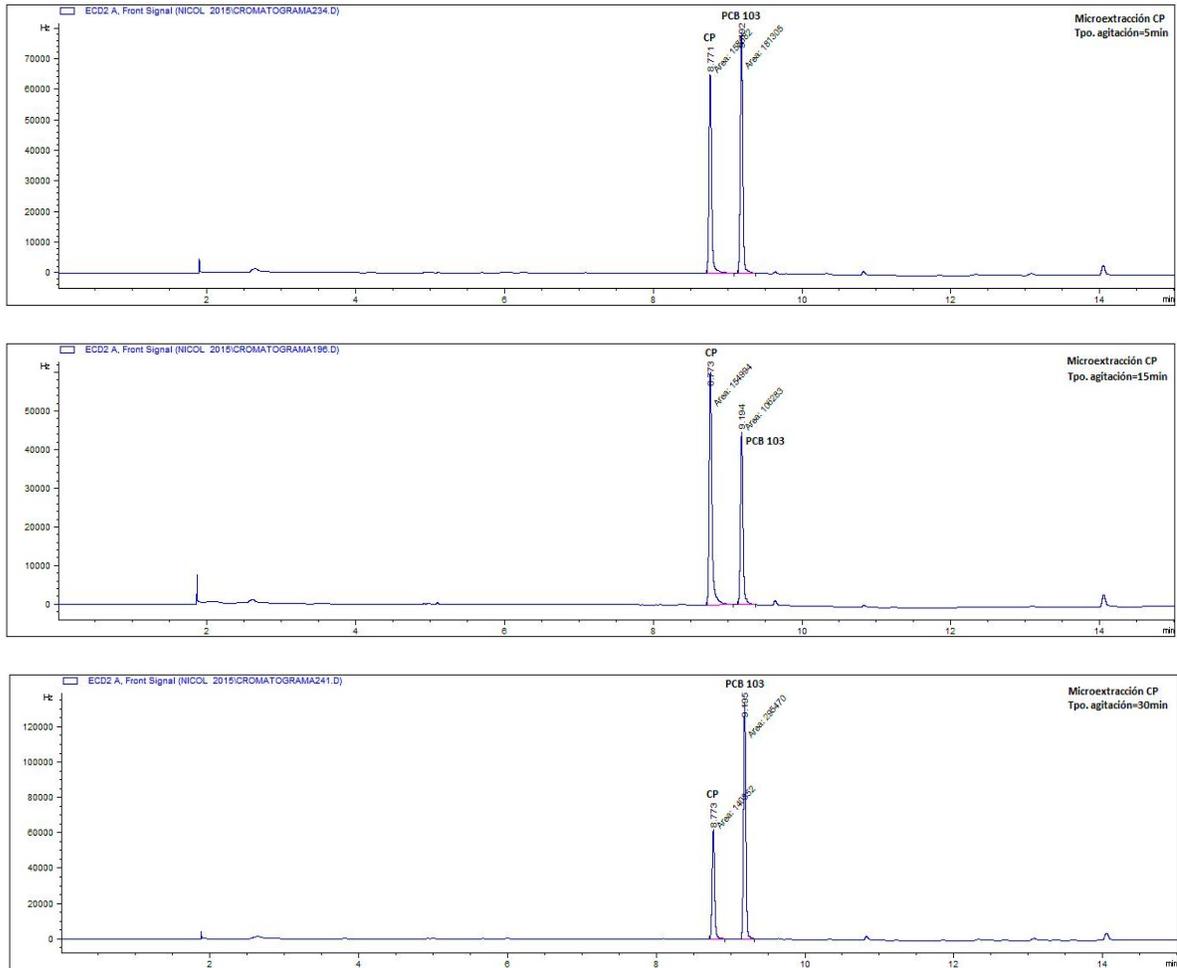


Figura 6-8: Cromatogramas obtenidos por DLLME para los tiempos de agitación de 5, 15 y 30 min. realizados por GC- μ ECD.

6.4.2.1 Límites de Detección y Cuantificación del Método

Los resultados cromatográficos de las inyecciones en el GC- μ ECD para las muestras blanco, realizadas para determinar el LD y el LC del método DLLME, se muestran en la Tabla 6-13 (Anexo, Tabla 9-8).

Tabla 6-13: Resultados de las muestras blanco para determinar el LD y LC del método DLLME por GC- μ ECD.

Muestra	Área CP [Hz]	Área IS [Hz]	A_{CP}/A_{IS}
1	425,6	105928,0	0,004
2	535,2	129101,9	0,004
3	1658,6	157156,1	0,011
4	1293,5	117361,4	0,011
5	560,8	106017,4	0,005
6	542	113150,9	0,005
7	427,8	106019,3	0,004
8	684,7	118124,9	0,006
9	558	95672,4	0,006
10	596,4	105112,8	0,006
Promedio (Y_B)			0,006
SD (σ_B)			0,003
RSD (%)			41,9

En la Tabla 6-14 se presentan los resultados del LD y el LC asociados al método para DLLME.

Tabla 6-14: LD y LC del método determinados para DLLME.

Parámetro	Resultado
Y_{LD} [-]	0,015
Y_{LC} [-]	0,036
C_{LD} [μ g/L]	18,3
C_{LC} [μ g/L]	22,4

Al evaluar la precisión del método DLLME por medio de la RSD para los blancos, se observa que sólo las áreas de las muestras 3 y 4 difieren respecto de las otras; al no considerarlas el valor de RSD resulta igual a 16,2%, evidenciando que al tratar las muestras blanco el método tiene una buena precisión.

A continuación, se muestra un cromatograma de una de las muestras blanco de CP, empleadas para la determinación del LD y LC del método DLLME (Figura 6-9).

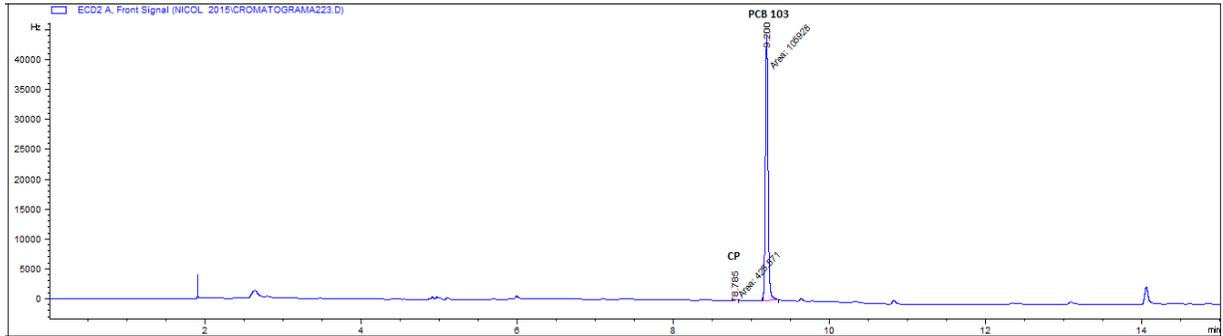


Figura 6-9: Cromatograma de muestra blanco empleado para determinar el LD y LC del método DLLME.

Se logró verificar, a través del cromatograma de la muestra blanco, que para los tiempos de retención del analito y del IS, no hay presencia de un efecto matriz que dificulte la cuantificación de los picos cromatográficos.

Los LD y LC del método obtenidos experimentalmente para cada una de las técnicas de extracción se muestran en la Tabla 6-15, donde además se presentan valores reportados en la literatura. El método de obtención del LD y del LC usado por Lazic y col., (2012) y por Marsin y col., (2011) fue calculado empleando las siguientes ecuaciones: $LD = \frac{3\sigma}{S}$ y $LC = \frac{10\sigma}{S}$, donde σ es la desviación estándar y S es la pendiente de la curva de calibración, obtenida empleando el equipo GC- μ ECD.

Tabla 6-15: LD y LC del método para CP usando GC- μ ECD.

Parámetro	Experimental por SPE	Lazic y col., (2012) por SPE	Experimental por DLLME	Marsin y col., (2011) por DLLME
C _{LD} [μ g/L]	13,1	4	18,3	95
C _{LC} [μ g/L]	13,4	10	22,4	318

En general, los límites para la técnica de SPE son menores que para la DLLME, lo que indica que la primera técnica presenta mayor sensibilidad para la determinación del analito CP. Sin embargo, al comparar los límites obtenidos experimentalmente para ambas metodologías con los de la literatura, se desprende que ambas técnicas son lo suficientemente sensibles para la determinación del analito en estudio, y la discrepancia entre ellas se debe probablemente a las diferencias en los procedimientos de las metodologías empleadas, como por ejemplo, la utilización de un programa de temperatura diferente, en el caso de Lazic y col., (2012) y un ECD en el caso de Marsin y col., (2011).

De acuerdo a los resultados obtenidos a través de las dos técnicas de extracción, se determinó que la metodología DLLME presentó mayores porcentajes de recuperación para el analito CP, superiores al 100%, pero con una baja precisión en sus resultados (RSD de hasta 66%), lo que permitió decidir que la técnica SPE era la más adecuada para la cuantificación de CP en los experimentos de movilidad a través del perfil de suelo, donde se reportaron porcentajes de recuperación superiores al 87% con RSD menores al 8%.

6.5 RESULTADOS DE EXPERIMENTOS EN COLUMNAS

6.5.1 Movilidad de la MOD

Para determinar la movilidad de la MOD a través del perfil de suelo, se determinó el contenido de Carbono Orgánico presente en los eluidos obtenidos, de acuerdo a la sección 5.5.1 (Figura 6-10).

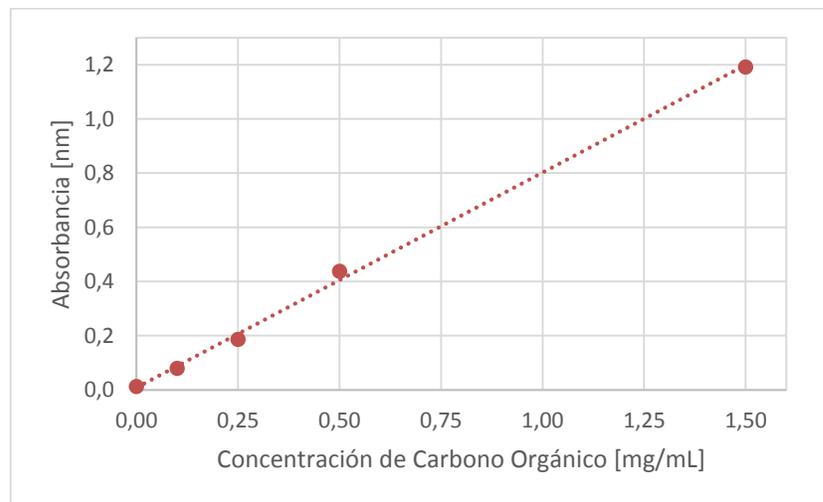


Figura 6-10: Curva de calibración utilizada para la determinación del contenido de C. Orgánico obtenida a través del Espectrómetro UV/Visible.

$$\text{Curva de calibración: } y = 0,7937x + 0,0084 ; r = 0,9991$$

El coeficiente de correlación de la curva de calibración fue cercano a 1, mostrando una adecuada correlación. Las barras de error no son apreciables en la curva de calibración, ya que la SD promedio para las medidas de absorbancia es de 0,005.

Utilizando la ecuación de la curva de calibración y las absorbancias promedio para las soluciones obtenidas de la elución en las columnas de suelo de La Farfana,

se obtuvieron las concentraciones de Carbono Orgánico para cada una de ellas, en la Tabla 6-16 (Anexo, Tabla 9-9).

Tabla 6-16: Absorbancia y concentración de C. Orgánico para las soluciones de suelo.

Muestra	Absorbancia [nm]	RSD [%]	Concentración de C. Orgánico [mg/mL]
Suelo La Farfana no fortificado + H ₂ O	0,083 ± 0,002	2,6	0,09
Suelo La Farfana no fortificado + MOD	0,097 ± 0,007	6,5	0,11 ± 0,03 (RSD=25,7)
Suelo fortificado con CP y CPO + H ₂ O	0,09 ± 0,01	15,4	0,10
Suelo fortificado con CP y CPO + MOD	0,091 ± 0,001	1,6	0,10 ± 0,02 (RSD=18,1)

La precisión en las lecturas de las absorbancias fue determinada a través del parámetro de RSD con valores inferiores a 6,5%, donde sólo para la muestra de Suelo fortificado con CP y CPO más agua se presenta un valor de RSD de 15,4%, demostrando una buena replicabilidad en las mediciones. Los valores de concentración de Carbono Orgánico para cada una de las muestras, al resultar tan similares entre sí, indicaron que no se presentaron diferencias significativas en suelos con MOD o sin ella, evidenciando que probablemente la MOD de la enmienda orgánica utilizada no se movilizó a través del perfil de suelo, quedando retenida a causa de su carácter hidrofóbico y que la concentración de Carbono Orgánico obtenida para cada tipo de suelo correspondería a la intrínseca de éste.

El parámetro de RSD para las muestras eluidas con la solución de MOD, por duplicado, indicaron que la prueba es moderadamente replicable, con valores inferiores al 25%.

6.5.2 Movilidad de analitos Clorpirifos y Clorpirifos Oxon

Los datos obtenidos a partir del análisis de los extractos provenientes del método SPE y analizados por el GC- μ ECD, para la evaluación de la movilidad del compuesto CP a través del perfil de suelo, se grafican en la Figura 6-11 (Anexo, Tabla 9-10).

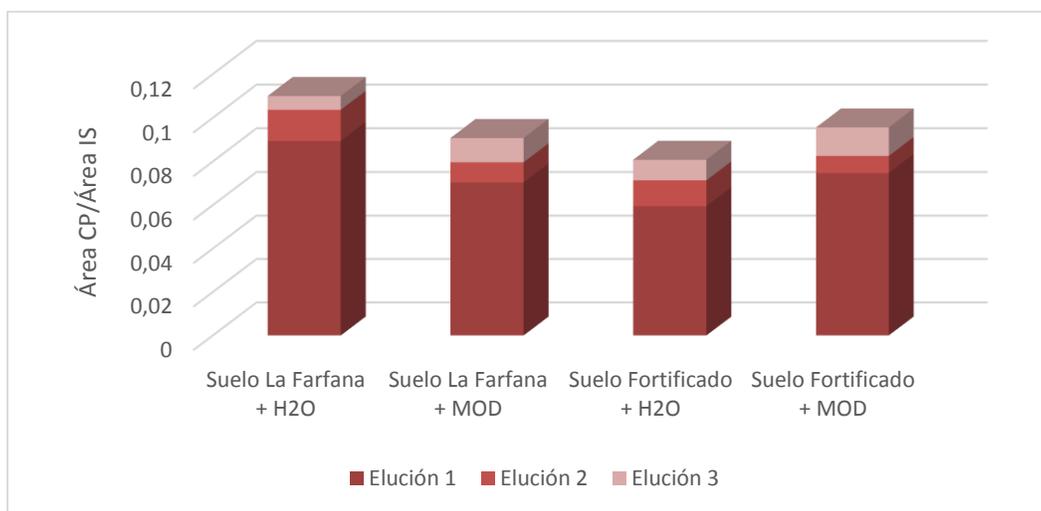


Figura 6-11: Relación Área CP/Área IS para cada tipo de suelo en estudio de acuerdo a las etapas de elución analizada por GC- μ ECD.

Se logró verificar, para cada tipo de suelo en estudio, que es en la primera elución donde se moviliza una mayor cantidad de analito.

De acuerdo a la información bibliográfica (Muñoz, 2014), los tiempos de retención para los analitos en estudio, bajo las condiciones cromatográficas mencionadas en el punto 5.3.1, son 8,6 min. para CPO y 8,8 min. para CP. Sin embargo, en este estudio los tiempos de retención obtenidos fueron de 8,1 min.

para CPO y 8,4 min. para CP. Esto puede atribuirse al proceso de inyección manual, que al no ser automatizado dependerá de cada operador.

Movilidad del analito Clorpirifos

En la Tabla 6-17 se muestra la concentración obtenida y el porcentaje de movilidad para el compuesto CP. Para calcular el porcentaje de analito movilizado, se determinó la concentración teórica considerando que en cada columna se adicionaron 10 g de suelo provenientes de un suelo fortificado de 100 µg (CP y CPO)/kg, y que el volumen de la alícuota de la solución de reconstitución fue de 0,5 mL, resultando una concentración teórica de 2000 µg/L.

Tabla 6-17: Concentración de CP movilizado a través de la columna de suelo.

Muestra	C _{CP} [µg/L]	RSD [%]	Movilidad [%]	Movilidad promedio [%]
Suelo Farfana + H ₂ O	18 ± 1	7,4	0,89	
Suelo Farfana + MOD	18 ± 1	8,0	0,88	
Suelo Fortificado + H ₂ O	18 ± 1	7,9	0,88	0,90
Suelo Fortificado + MOD	19 ± 1	4,8	0,93	

El CP movilizado a través del perfil de suelo sólo pudo ser cuantificable en la primera elución, evidenciando la probable retención del analito en el suelo, por efecto de la interacción con éste o más probablemente por la interacción con el plástico del cartucho (Sharom y Solomon, 2011). Los bajos valores de RSD indican que las inyecciones resultaron ser lo suficientemente precisas. Sin embargo, no es posible establecer diferencias significativas al comparar los resultados entre los distintos tipos de suelo.

Movilidad del analito Clorpirifos Oxon

Ya que los suelos se encontraban fortificados con CP y CPO, en la Tabla 6-18 se presentan las concentraciones obtenidas y los porcentajes de movilidad para el compuesto CPO en cada una de las etapas de elución.

Tabla 6-18: Concentración de CPO movilizado a través de la columna de suelo.

Elución	Muestra	C _{CPO} [µg/L]	RSD [%]	Movilidad [%]	Movilidad promedio [%]
1	Suelo Farfana + H ₂ O	257 ± 87	33,9	12,9	11,1
	Suelo Farfana + MOD	212 ± 75	35,2	10,6	
	Suelo Fortificado + H ₂ O	192 ± 11	5,7	9,6	
	Suelo Fortificado + MOD	225 ± 33	14,6	11,3	
2	Suelo Farfana + H ₂ O	95 ± 5	5,3	4,7	4,4
	Suelo Farfana + MOD	86,29 ± 0,03	0,04	4,3	
	Suelo Fortificado + H ₂ O	89 ± 9	9,6	4,5	
	Suelo Fortificado + MOD	81 ± 1	1,4	4,0	
3	Suelo Farfana + H ₂ O	ND	-	-	4,4
	Suelo Farfana + MOD	89 ± 2	1,8	4,4	
	Suelo Fortificado + H ₂ O	84 ± 8	9,1	4,2	
	Suelo Fortificado + MOD	92 ± 29	31,2	4,6	

ND: No detectado.

Se puede apreciar que, en general, se verifica que en eluciones sucesivas se moviliza cada vez menos analito. Las únicas dos excepciones son: (1) segunda y tercera elución del suelo de La Farfana + MOD, y (2) segunda y tercera elución del suelo fortificado + MOD. Los valores de RSD indican, en general, una buena precisión, inferior al 15%, donde sólo 3 muestras superan el 30%. Por otro lado, no es posible establecer diferencias significativas al comparar los resultados de los suelos fortificados y no fortificados, para ninguna de las eluciones analizadas.

Al comparar la movilidad de los analitos CP y CPO, quedó en evidencia que este último se moviliza más a través del perfil de suelo (20 veces más que el CP), demostrando una menor afinidad por éste, como consecuencia de una mayor polaridad, otorgada por su enlace P=O. Cabe destacar que el CPO posee un valor de Log K_{ow} estimado de 2,89 (Watts, 2012), mientras que para el CP varía entre 4,7 y 5,11, lo que concuerda con el menor carácter hidrofóbico del metabolito.

Ambientalmente, los bajos niveles de movilidad de CP a través del perfil de suelo evaluado en este estudio (inferiores al 1%), evidencian que existe una baja probabilidad de que este analito contamine las aguas subterráneas, sin embargo, existe preocupación al detectar que su metabolito CPO presentó una menor afinidad por el perfil de suelo, aumentando la probabilidad de contaminación y alertando que no sólo es importante evaluar la movilidad de CP, sino que también de sus metabolitos, que suelen presentar una mayor toxicidad para mamíferos, peces e invertebrados (Watts, 2012).

7. CONCLUSIONES

- Al comparar las metodologías de SPE y DLLME, para la cuantificación de Clorpirifos en solución acuosa, se concluyó que la metodología más idónea para realizar las pruebas de movilidad del analito a través del perfil de suelo, correspondía a la técnica de SPE, debido a su alta precisión, con RSD inferiores al 8%.
- La metodología SPE acoplada a GC- μ ECD permite cuantificar el CP con un LD y LC de 13,1 y 13,4 μ g/L, respectivamente.
- La metodología DLLME acoplada a GC- μ ECD permite cuantificar el CP con un LD y LC de 18,3 y 22,4 μ g/L, respectivamente.
- La MOD proveniente de la enmienda orgánica Humex, presenta una alta afinidad por el suelo, lo que se evidencia por el bajo contenido de Carbono Orgánico presente en los eluidos de las columnas.
- Al evaluar la movilidad del analito CP a través del perfil de suelo, se concluyó que éste podría interactuar tanto con el suelo, como con el plástico utilizado en la técnica de SPE, interfiriendo en la determinación de la interacción del CP con el suelo y la MOD.
- El metabolito CPO tiene una menor afinidad por el suelo comparado con el CP, presentando alrededor de un 20% más de movilidad.
- Se pudo evidenciar a través de este estudio que el CP presenta una baja movilidad a través del perfil de suelo, y que la aplicación de la enmienda orgánica basada sobre ácidos húmicos no la facilita, a diferencia de lo que ocurre con el metabolito CPO, el cual al ser movilizado a través del perfil de suelo, aumenta la preocupación sobre un eventual foco de contaminación para las aguas subterráneas.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, M. 1995. Fundamentos de química de suelos. CDCH UCV.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1997. "Clorpirifos CAS #2921-88-2".
- Andreu, V. & Picó, Y. 2004. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(10), 772-789.
- Aragro. 2007. "Ficha de datos de seguridad Clorpirifos 25PM".
- Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J. C. & García-Río, L. 2008. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123(4), 247-260.
- Asociación Chilena de Seguridad (AChS). 2005. "Prevención de Riesgos en el Uso de Plaguicidas".
- Bejarano, A. C., Decho, A. W. & Chandler, G. T. 2005. The role of various dissolved organic matter forms on chlorpyrifos bioavailability to the estuarine bivalve *Mercenaria mercenaria*. *Marine environmental research*, 60(1), 111-130.
- Bosch, C. & Sánchez, F. 2009. "Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Procedure: A Review". *Chromatographia*, 69, 1149-1159.
- Cano, E., López, J. A., Cano, E., Carballo, C. V. & Guharay, F. 2004. Control biológico de plagas agrícolas (No. 53). *Bib. Orton IICA/CATIE*.
- Canosa, M.P. 2008. Desarrollo de metodología analítica para la determinación de Triclosán y Parabenos. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales. Memoria para optar al grado de Doctora en Química, Universidad de Santiago de Compostela.

- Cavieres, M. F. 2004. Exposición a pesticidas y toxicidad reproductiva y del desarrollo en humanos: Análisis de la evidencia epidemiológica y experimental. *Revista médica de Chile*, 132(7), 873-879.
- Comisión Nacional de Riego. 1981. Estudio de suelos del Proyecto Maipo. Tomo I. 52p.
- Damalas, C. A. & Eleftherohorinos, I. G. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health*, 8(5), 1402-1419.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2011. "Revises chlorpyrifos preliminary registration review drinking Waters assessment".
- Figuroa, G. 2015. "Estudio de la afinidad entre la materia orgánica disuelta de la solución de suelo y Bifenilos Policlorados". Memoria para optar al título de Químico. Santiago, Chile.
- Gabriels, D. & Lobo, D. 2006. Métodos para determinar granulometría y densidad aparente del suelo. *Venesuelos*, 14:37-48.
- García, D. 2013. Estrategias de preparación de muestra para el análisis de residuos de agentes quimioterápicos y pesticidas en el medio marino. Memoria para optar al grado de Doctor en Química, Universidad de Santiago de Compostela.
- García, J. E. 1998. Intoxicaciones agudas con plaguicidas: costos humanos y económicos. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 4(6).
- Giesy, J. P., Solomon, K. R., Coats, J. R., Dixon, K. R., Giddings, J. M. & Kenaga, E. E. 1999. Chlorpyrifos: ecological risk assessment in North American aquatic environments. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 1-129). Springer New York.
- Gorsuch, J.W., Lower, W.R., Lewis, M.A. & Wang, W. 1991. *Plants for Toxicity Assessment: Second Volume*. Philadelphia, ASTM. 192p.

- Herrera-Herrera, A. V., Asensio-Ramos, M., Hernández-Borges, J. & Rodríguez-Delgado, M. Á. 2010. Dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organic analytes. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(7), 728-751.
- INIA. 2012. "Residuos de Pesticidas en frutas y hortalizas de la Región Metropolitana". Fortalecimiento de la Competitividad Hortofrutícola: Producción de Alimentos Inocuos en la R.M., Boletín N°241.
- Kulkarni, A. R., Soppimath, K. S., Dave, A. M., Mehta, M. H. & Aminabhavi, T. M. 2000. Solubility study of hazardous pesticide (chlorpyrifos) by gas chromatography. *Journal of hazardous materials*, 80(1), 9-13.
- La Manna, L., Buduba, C., Alonso, V., Davel, M., Puentes, C. & Irisarri, J. 2007. Comparación de métodos analíticos para la determinación de materia orgánica en suelos de la región Andino-Patagónica: efectos de la vegetación y el tipo de suelo. *Ciencia del suelo*, 25(2), 179-188.
- Lambropoulou, D., Sakkas, V. & Albanis, T. 2002. Validation of an SPME method, using PDMS, PA, PDMS-DVB, and CW-DVB SPME fiber coatings, for analysis of organophosphorus insecticides in natural waters. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 374(5), 932-941.
- Lazic, S., Sunjka, D., Grahovac, N., Vukovic, S. & Jaksic, S. 2012. Determination of Chlorpyrifos in water used for agricultural production. *Agriculture & Forestry*, 57(11), 17-25.
- Luque de Castro, M. D., Valcárcel, M. & Tena, M. T. 1993. Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico. Córdoba, Editorial Reverté S. A. 444p.
- Luzio, W. & Casanova, M. 2006. Avances en el conocimiento de los suelos de Chile. Registro de propiedad intelectual N° 157.822. 130-154.
- Mackay, D. 2001. Multimedia environmental models: the fugacity approach. CRC press.
- Márquez, S., Mosquera, R. & Herrera, M. 2010. Estudio de la absorción y distribución del clorpirifos en plantas de pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex chiov.)

- cultivadas hidropónicamente. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23(2), 158-165.
- Marsin, M., Umairah, S., Akmam, M. & Aini, W. 2011. "Determination of organophosphorus pesticides by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-electron capture detection". *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 15(2), 232-239.
- Martínez Vidal, J., Pablos Espada, M. C., Garrido Frenich, A. & Arrebola, F. J. 2000. Pesticide trace analysis using solid-phase extraction and gas chromatography with electron-capture and tandem mass spectrometric detection in water samples. *Journal of chromatography A*, 867(1), 235-245.
- Martins, M., Primel, E., Souza, S., Prestes, O., Bohrer, M. & Zanella, R. 2012. Microextracción Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos y aplicaciones. *Scientia Chromatographica* 4(1):35-51.
- MINSAL. 2011. "Estudio de residuos de plaguicidas en alimentos". Instituto de Salud Pública.
- Morell, I. 1993. Investigación en zona no saturada. Castellón, Universitat Jaume I. 49p.
- Muñoz Quezada, M. T. 2011. Aspectos bioéticos en el control y aplicación de plaguicidas en Chile. *Acta bioethica*, 17(1), 95-104.
- Muñoz, F. 2014. "Estudio de la afinidad entre la Materia Orgánica disuelta de las Aguas Naturales y Clorpirifos". Memoria para optar al título de Químico. Santiago, Chile.
- Núñez, J. 1985. Fundamentos de la edafología, Costa Rica, EUNED. 117p.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2006. Guías para la calidad del agua potable. [en línea]. < http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/es/> . [Consulta: 22 Julio 2016].
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2009. OMS Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides. Chlorpyrifos O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate. World Health Organization, Geneva.

- Peña, A. 2011. Estudio de sistemas de extracción en fase sólida para su aplicación en la determinación del plaguicida Dimetoato. Trabajo final de carrera, Universidad Politécnica de Valencia.
- Pimentel, D. & Kounang, N. 1998. Ecology of soil erosion in ecosystems. *Ecosystems*, 1(5), 416-426.
- Potencia Alimentaria y Forestal (PAF). 2008. "Estudio de Residuos de Plaguicidas en Vegetales de Consumo Nacional". SAG, Gobierno de Chile, Ministerio de Agricultura.
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch. Prev. Riesgos Labor* 2001; 4(2):67-75.
- Ravelo, L. 2009. "Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios". Tesis doctoral. Universidad de la Laguna.
- Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAPAL). 2006. "Plaguicidas más usados en vides o parronales". Ministerio de Agricultura, SAG. Santiago, Chile.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M. R. M., Aghaee, E., Ahmadi, F. & Berijani, S. 2006. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1116(1), 1-9.
- Rezaee, M., Yamini, Y. & Faraji, M. 2010. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2342-2357.
- Santos, F. J. & Galceran, M. T. 2002. "The application of gas chromatography to environmental analysis". *Trends in Analytical Chemistry*, 21(9), 10.
- Santos, P. S., Otero, M., Filipe, O. M., Santos, E. B. & Duarte, A. C. 2010. Comparison between DAX-8 and C-18 solid phase extraction of rainwater dissolved organic matter. *Talanta*, 83(2), 505-512.
- Scherr, S. J. & Yadav, S. 1996. Land degradation in the developing world: Implications for food, agriculture, and the environment to 2020.

- Sharom, M. & Solomon, K. 2011. Adsorption and Desorption of Permethrin and Other Pesticides on Glass and Plastic Materials used in Bioassay Procedures. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences Abstract 38 (2): 199-204.
- Silva, S. & Correa, F. 2009. Análisis de la contaminación del suelo: Revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. Semestre Económico, volumen 12, No. 23, pp. 13-34. Medellín, Colombia.
- Valcárcel, M. & Gómez, A. 1988. Técnicas Analíticas de separación. Córdoba, Editorial Reverté S. A. 375p.
- Valverde, T. & Cano-Santana, Z. 2005. Ecología y medio ambiente. Pearson Educación.
- Van Leeuwen, C.J. & Hermens, J.L.M. 1995. Risk Assessment of Chemicals. Springer-Science+Business Media, B.V. 246p.
- Walkley, A. & Black, I. A. 1934. An examination of the Dejtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Rothamsted Experimental Station, England.
- Watts, M. 2012. Clorpirifos un posible COP a nivel global. Santiago de Chile, Chile: Red de acción de pesticidas en norteamérica (PANNA).
- Wuebing, X., Zheng, G. & Ling-Zhi, C. 2016. Ionic Liquids in Lipid Processing and Analysis. Elsevier. 112p.
- Zang, X., Wu, Q., Zhang, M., Xi, G. & Wang, Z. 2009. Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique. China Journal Analytical Chemistry, 37(2): 161-168.
- Zhang, Z., Hong, H., Wang, X., Lin, J., Chen, W. & Xu, L. 2002. Determination and load of organophosphorus and organochlorine pesticides at water from Jiulong River Estuary, China. Marine Pollution Bulletin 45 (2002) 397-402.

ANEXOS

Tabla 9-1: Resultados cromatográficos para la curva de calibración CP desde el GC- μ ECD.

Muestra	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A_{CP1}/A_{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A_{CP2}/A_{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A_{CP}/A_{IS} [-]
1	8,772	205762,3	2,33603	8,771	183869,7	2,35267	8,772	2,3444
	9,192	88082,0	-	9,191	78153,6	-	9,192	-
2	8,776	145077,7	1,48444	8,774	151413,7	1,49028	8,775	1,4874
	9,195	97732,5	-	9,192	101600,7	-	9,194	-
3	8,777	99222,8	0,93922	8,775	94786	0,93812	8,776	0,9387
	9,195	105643,3	-	9,193	101038,1	-	9,194	-
4	8,785	33605	0,36869	8,795	24689,1	0,35239	8,790	0,3605
	9,201	91147,2	-	9,210	70062,7	-	9,206	-
5	8,776	26423,3	0,19673	8,774	24706,3	0,19871	8,775	0,1977
	9,193	134315,2	-	9,191	124336,2	-	9,192	-
6	8,786	8117,2	0,08029	8,783	7728,7	0,07956	8,785	0,0799
	9,200	101101,5	-	9,197	97145,8	-	9,199	-

Tabla 9-2: Resultados de las inyecciones de n-hexano para determinar el LD y LC de la técnica por GC- μ ECD.

Muestra	Tiempo de retención [min]	Área [Hz]	A_{CP}/A_{IS}	A_{CPO}/A_{IS}
1	8,104	33,4	0,8459	1,0951
	8,381	25,8		
	10,085	30,5		
2	8,134	51,1	1,2107	1,4354
	8,354	43,1		
	10,071	35,6		
3	8,151	36,6	1,1677	0,7485
	8,373	57,1		
	10,095	48,9		
4	8,102	32,5	1,4452	1,0484
	8,384	44,8		
	10,068	31,0		
5	8,105	27,9	1,8203	0,5449
	8,373	93,2		
	10,103	51,2		
6	8,138	31,1	0,9366	0,7585
	8,377	38,4		
	10,072	41,0		
7	8,134	29,7	1,7195	0,9802
	8,366	52,1		
	10,084	30,3		
8	8,090	34,8	1,0219	0,6932
	8,363	51,3		
	10,061	50,2		
9	8,105	27,7	0,8340	0,5226
	8,412	44,2		
	10,074	53,0		
10	8,105	21,5	0,7834	0,4049
	8,347	41,6		
	10,093	53,1		

Tabla 9-3: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (CP 250 µg/L) desde el GC-µECD (Primera prueba).

Muestra CP 250 µg/L	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]
1	8,773	35864,2	0,82270	8,769	43439,7	0,85687	8,771	0,83978
	9,188	43593,4	-	9,184	50696,0	-	9,186	-
2	8,769	59898,3	1,04027	8,767	51543,0	1,02461	8,768	1,03244
	9,186	57579,4	-	9,182	50305,0	-	9,184	-
3	8,771	33082,6	0,71596	8,767	42913,6	0,80115	8,769	0,75856
	9,186	46207,2	-	9,182	53564,7	-	9,184	-

Tabla 9-4: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (CP 250 µg/L) desde el GC-µECD (Segunda prueba).

Muestra CP 250 µg/L	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]
1	8,769	7137,2	0,14217	8,766	7535,4	0,15429	8,768	0,14823
	9,182	50202,1	-	9,179	48840,5	-	9,181	-
2	8,763	23469	0,43228	8,763	22468,7	0,43358	8,763	0,43293
	9,178	54291,4	-	9,178	51821,5	-	9,178	-
3	8,763	19315,7	0,33324	8,764	16403,2	0,30446	8,764	0,31885
	9,177	57962,7	-	9,177	53875,7	-	9,177	-
1'	8,780	2378,9	0,05153	8,778	2382,0	0,05274	8,779	0,05214
	9,190	46164,1	-	9,186	45163,0	-	9,188	-
2'	8,774	1964,6	0,03501	8,772	2208,6	0,03637	8,773	0,03569
	9,186	56122,0	-	9,184	60728,3	-	9,185	-
3'	8,772	3554,6	0,04630	8,771	2992,1	0,04480	8,772	0,04555
	9,182	76765,6	-	9,184	66783,1	-	9,183	-
1''	8,791	300,3	0,00481	8,782	333,8	0,00509	8,787	0,00495
	9,198	62381,2	-	9,190	65532,0	-	9,194	-
2''	8,781	174,2	0,00252	8,779	207,0	0,00246	8,780	0,00249
	9,187	69115,7	-	9,184	84221,0	-	9,186	-
3''	8,776	367,7	0,00537	8,776	323,2	0,00463	8,776	0,00500
	9,185	68527,5	-	9,185	69786,5	-	9,185	-

X: primera elución. X': segunda elución. X'': tercera elución.

Tabla 9-5: Resultados cromatográficos de las muestras blanco por SPE desde el GC-µECD.

Muestra	Tiempo de retención [min]	Área [Hz]	A _{CP} /A _{IS}
1	8,781	216,9	0,00455
	9,193	47698,7	-
2	8,779	256,6	0,00485
	9,185	52872,3	-
3	8,779	272,8	0,00462
	9,183	59026,1	-
4	8,777	267,7	0,00464
	9,181	57700,1	-
5	8,779	253,7	0,00469
	9,184	54040,2	-
6	8,780	226,7	0,00452
	9,187	50114,8	-
7	8,777	251,4	0,00493
	9,184	50989,1	-
8	8,773	256,1	0,00495
	9,181	51690,3	-
9	8,772	274,3	0,00477
	9,180	57478,2	-
10	8,772	267,3	0,00496
	9,178	53862,5	-

Tabla 9-6: Tiempo y área obtenidos para las muestras de SPE (CP 25 µg/L) desde el GC-µECD.

Muestra CP 25 µg/L	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]
1	8,775	1301,3	0,029981	8,77	1532,1	0,033394	8,773	0,031687
	9,186	43404,6	-	9,183	45879,4	-	9,185	-
2	8,771	1523,8	0,034742	8,766	1965,8	0,036346	8,769	0,035544
	9,182	43860,4	-	9,179	54086,4	-	9,181	-
3	8,771	522,7	0,010462	8,768	632,8	0,011715	8,770	0,011088
	9,181	49964	-	9,178	54015,7	-	9,180	-

Tabla 9-7: Tiempo y área obtenidos para las muestras DLLME desde el GC-µECD.

Muestra Micro-extracción	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]
Muestra 1 (5 min)	8,775	151925,6	1,4961	8,774	336572,9	1,5500	8,775	1,5231
	9,196	101550,5	-	9,195	217138,7	-	9,196	-
	8,774	113348,7	0,89614	8,771	158681,7	0,87522	8,773	0,88568
	9,195	126468,9	-	9,192	181305,3	-	9,194	-
Muestra 2 (10 min)	8,785	51493,4	1,2086	8,782	51493,4	1,2363	8,784	1,2224
	9,205	42606,1	-	9,201	42092,3	-	9,203	-
	8,780	93533,7	2,6182	8,777	127821,3	2,8014	8,779	2,7098
	9,199	35725,0	-	9,197	45627,3	-	9,198	-
Muestra 3 (15 min)	8,777	87120,6	2,1979	8,776	85405,8	2,1900	8,777	2,1940
	9,197	39637,6	-	9,195	38998,4	-	9,196	-
	8,774	177324,4	1,4359	8,773	154993,9	1,45832	8,774	1,4471
	9,194	123492,9	-	9,194	106282,8	-	9,194	-
Muestra 4 (25 min)	8,773	109066,6	0,90266	8,775	132217,1	0,95645	8,774	0,92956
	9,193	120828,2	-	9,194	138236,7	-	9,194	-
	8,778	105430,9	0,89037	8,775	86370,2	0,93308	8,777	0,91172
	9,200	118412,7	-	9,194	92564,5	-	9,197	-
Muestra 5 (30 min)	8,774	110492,9	1,2148	8,774	142267,3	1,2491	8,774	1,2320
	9,195	90953,9	-	9,194	113895,9	-	9,195	-
	8,773	140852,3	0,47671	8,771	56711,9	0,46310	8,772	0,46990
	9,195	295469,6	-	9,191	122461,8	-	9,193	-

Tabla 9-8: Resultados cromatográficos de las muestras blanco por DLLME desde el GC-µECD.

Muestra	Tiempo de retención [min]	Área [Hz]	A _{CP} /A _{IS}
1	8,785	425,6	0,00402
	9,200	105928,0	-
2	8,810	535,2	0,00415
	9,192	129101,9	-
3	8,774	1658,6	0,01055
	9,192	157156,1	-
4	8,775	1293,5	0,01102
	9,191	117361,4	-
5	8,785	560,8	0,00529
	9,200	106017,4	-
6	8,783	542	0,00479
	9,198	113150,9	-
7	8,789	427,8	0,00404
	9,197	106019,3	-
8	8,781	684,7	0,00580
	9,197	118124,9	-
9	8,777	558	0,00583
	9,195	95672,4	-
10	8,778	596,4	0,00567
	9,196	105112,8	-

Tabla 9-9: Lectura de las absorbancia para las muestras de suelo.

Muestra	Lectura 1	Lectura 2	Absorbancia promedio
	Absorbancia [nm]	Absorbancia [nm]	[nm]
Suelo La Farfana no fortificado + H ₂ O	0,081	0,084	0,083
Suelo La Farfana no fortificado + MOD	0,118	0,107	0,113
Suelo fortificado + H ₂ O	0,084	0,077	0,081
Suelo fortificado + MOD	0,097	0,078	0,088
	0,102	0,100	0,101
	0,079	0,081	0,080

Tabla 9-10: Tiempo y área obtenidos desde el GC-μECD para la evaluación de movilidad (1/2).

Muestra	Tiempo 1 [min]	Area 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Area 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]
(1) Suelo Farfana + H ₂ O	8,109	5030,7	0,09319	8,106	4136,3	0,07887	8,108	0,08603
	8,415	2936,7	0,05440	8,413	2750,4	0,05244	8,414	0,05342
	10,085	53983,6	-	10,081	52446,8	-	10,083	-
	8,106	4735,3	0,09729	8,107	8245,1	0,1653	8,107	0,1313
	8,412	2771,5	0,05694	8,413	3080,4	0,06174	8,413	0,05934
	10,081	48673,8	-	10,081	49890,6	-	10,081	-
	8,105	2729,4	0,05222	8,107	2565,7	0,04940	8,106	0,05081
	8,412	2091,0	0,04000	8,414	2130,7	0,04103	8,413	0,04052
	10,081	52271,2	-	10,083	51935,9	-	10,082	-
	8,105	5486,6	0,09532	8,107	5539,1	0,09426	8,106	0,09479
(2) Suelo Farfana + MOD	8,416	3381,4	0,05874	8,416	3044,9	0,05182	8,416	0,05528
	10,080	57561,6	-	10,081	58764,0	-	10,081	-
	8,106	2867,5	0,04517	8,103	2941,2	0,04669	8,105	0,04593
	8,413	2500,2	0,03938	8,411	2654,9	0,04214	8,412	0,04076
	10,080	63487,3	-	10,078	62998,2	-	10,079	-
	8,103	3298,9	0,06371	8,103	3431,4	0,06619	8,103	0,06495
	8,410	2623,3	0,05067	8,410	2701,4	0,05211	8,410	0,05139
	10,078	51776,4	-	10,078	51842,8	-	10,078	-
	8,105	2894,6	0,05729	8,101	3109,6	0,06022	8,103	8,105
	8,412	1933,5	0,03827	8,408	2025,7	0,03923	8,410	0,03875
(3) Suelo Fortificado + H ₂ O	10,079	50521,9	-	10,075	51637,4	-	10,077	-
	8,117	2836,0	0,05398	8,109	2936,9	0,05561	8,113	8,117
	8,424	3124,7	0,05947	8,415	3091,1	0,05853	8,420	0,05900
	10,093	52539,4	-	10,083	52812,6	-	10,088	-
	8,106	5876,4	0,08677	8,103	5652,7	0,08282	8,105	0,08480
	8,414	4157,5	0,06139	8,412	4133,7	0,06057	8,413	0,06098
	10,080	67725,0	-	10,078	68251,5	-	10,079	-
	8,102	3922,5	0,05796	8,103	3836,1	0,05632	8,103	0,05714
	8,409	3170,7	0,04685	8,410	3466,8	0,05090	8,410	0,04888
	10,077	67674,9	-	10,077	68110,7	-	10,077	-
(4) Suelo Fortificado + MOD	8,101	4299,5	0,08146	8,101	4493,5	0,08276	8,101	0,08211
	8,408	3173,1	0,06012	8,408	3133,7	0,05771	8,408	0,05892
	10,075	52780,2	-	10,076	54297,5	-	10,076	-
	8,103	928,3	0,01252	8,103	887,5	0,01203	8,103	0,01228
	8,432	2095,9	0,02828	8,433	2087,9	0,02830	8,433	0,02829
	10,078	74119,0	-	10,078	73765,1	-	10,078	-
	8,103	1123,6	0,01677	8,102	1181,1	0,01688	8,103	0,01683
	8,432	1994,5	0,02977	8,432	2057,8	0,02941	8,432	0,02959
	10,078	67001,5	-	10,077	69970,9	-	10,078	-
	8,103	766,1	0,01467	8,102	692,9	0,01268	8,103	0,01368
(1') Suelo Farfana + H ₂ O	8,429	1290,3	0,02471	8,430	1262,7	0,02541	8,430	0,02506
	10,078	52217,1	-	10,078	49695,5	-	10,078	-

X: primera elución. X': segunda elución. X'': tercera elución.

Una de las columnas de "Suelo Farfana + MOD" no fue considerada en el estudio.

Tabla 9-10: Tiempo y área obtenidos desde el GC- μ ECD para la evaluación de movilidad (2/2)

Muestra	Tiempo 1 [min]	Área 1 [Hz]	A _{CP1} /A _{IS} [-]	Tiempo 2 [min]	Área 2 [Hz]	A _{CP2} /A _{IS} [-]	Tiempo Promedio [min]	A _{CP} /A _{IS} [-]	
(2') Suelo Farfana + MOD	8,116	684,5	0,009375	8,109	680,3	0,009228	8,113	0,009302	
	8,446	1913,3	0,02620	8,438	1913,5	0,02596	8,442	0,02608	
	10,093	73013,7	-	10,085	73720,3	-	10,089	-	
	8,110	480,5	0,009215	8,108	488,6	0,009344	8,109	0,009280	
	8,441	1380,7	0,02648	8,438	1385,2	0,02649	8,440	0,02649	
	10,087	52141,7	-	10,084	52291,1	-	10,086	-	
(3') Suelo Fortificado + H ₂ O	8,110	1119,2	0,01240	8,104	1122,9	0,01285	8,107	0,01263	
	8,440	2251,7	0,02494	8,435	2181,8	0,02497	8,438	0,02496	
	10,086	90285,4	-	10,081	87388,6	-	10,084	-	
	8,104	788,6	0,01503	8,103	821,7	0,01572	8,104	0,01538	
	8,434	1391,3	0,02651	8,434	1389,9	0,02659	8,434	0,02655	
	10,079	52483,8	-	10,079	52272,9	-	10,079	-	
	8,105	531,8	0,007422	8,103	547,8	0,007728	8,104	0,007575	
	8,434	1550,2	0,02163	8,433	1567,0	0,02211	8,434	0,02187	
	10,080	71652,6	-	10,079	70881,9	-	10,080	-	
(4') Suelo Fortificado + MOD	8,109	374,5	0,007335	8,107	367,2	0,007170	8,108	0,007253	
	8,440	1301,8	0,02550	8,437	1292,2	0,02523	8,439	0,02537	
	10,087	51055,4	-	10,082	51211,8	-	10,085	-	
	8,105	641,4	0,008217	8,104	656,3	0,008209	8,105	0,008213	
	8,436	1883,0	0,02412	8,435	1919,3	0,02401	8,436	0,02407	
	10,081	78060,8	-	10,080	79947,8	-	10,081	-	
	8,106	747,0	0,008118	8,103	759,3	0,008063	8,105	0,008091	
	8,437	1957,5	0,02127	8,435	1986,8	0,02110	8,436	0,02119	
	10,081	92021,6	-	10,079	94175,4	-	10,080	-	
(1'') Suelo Farfana + H ₂ O	8,102	433,0	0,008452	8,102	506,0	0,009530	8,102	0,008991	
	8,433	1318,4	0,02557	8,432	1339,6	0,02523	8,433	0,02540	
	10,078	51231,2	-	10,078	53093,5	-	10,078	-	
	8,132	312,6	0,006157	8,119	294,9	0,005653	8,126	0,005905	
	8,485	1106,8	0,02180	8,472	1163,7	0,02231	8,479	0,02206	
	10,109	50774,4	-	10,096	52165,1	-	10,103	-	
	8,113	432,3	0,004175	8,108	439,3	0,004147	8,111	0,004161	
	8,443	2052,3	0,01982	8,440	2085,8	0,01969	8,442	0,01976	
	10,088	103533,4	-	10,085	105938,7	-	10,087	-	
(2'') Suelo Farfana + MOD	8,108	382,7	0,006863	8,108	987,5	0,01423	8,108	0,01055	
	8,462	1259,9	0,02260	8,439	1526,9	0,02201	8,451	0,02231	
	10,084	55759,3	-	10,084	69376,2	-	10,084	-	
	8,107	1847,1	0,01324	8,111	1042,4	0,009956	8,109	0,01160	
	8,437	3498,5	0,02501	8,442	2279,3	0,02177	8,440	0,02339	
		10,084	139491,9	-	10,087	104696,3	-	10,086	-
(3'') Suelo Fortificado + H ₂ O	8,107	673,0	0,01316	8,107	638,2	0,01231	8,107	0,01274	
	8,437	1394,8	0,02727	8,437	1391,7	0,02684	8,437	0,02706	
	10,083	51148,1	-	10,083	51855,2	-	10,083	-	
	8,119	509,2	0,005843	8,111	493,7	0,005502	8,115	0,005673	
	8,450	2050,6	0,02353	8,443	2126,0	0,02369	8,447	0,02361	
	10,097	87149,0	-	10,089	89736,8	-	10,093	-	
	8,109	884,4	0,01000	8,107	852,3	0,009865	8,108	0,009933	
	8,462	1781,9	0,02015	8,438	1674,4	0,01938	8,450	0,01977	
		10,085	88437,2	-	10,083	86397,1	-	10,084	-
	8,107	316,9	0,006159	8,107	271,7	0,005378	8,107	0,005769	
	8,460	1192,0	0,02317	8,460	1177,9	0,02332	8,460	0,02325	
	10,084	51449,7	-	10,082	50519,2	-	10,083	-	
(4'') Suelo Fortificado + MOD	8,108	328,2	0,005019	8,106	347,4	0,004982	8,107	0,005001	
	8,438	1466,5	0,02243	8,436	1558,7	0,02235	8,437	0,02239	
		10,083	65390,8	-	10,082	69730,0	-	10,083	-
	8,106	2398,6	0,02840	8,106	2356,5	0,02837	8,106	0,02839	
	8,460	1703,0	0,02016	8,460	1610,5	0,01939	8,460	0,01978	
	10,082	84471,4	-	10,082	83069,4	-	10,082	-	

X: primera elución. X': segunda elución. X'': tercera elución.

Una de las columnas de "Suelo Farfana + MOD" no fue considerada en el estudio.