



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO
ANALITICO PARA CUANTIFICAR UN PESTICIDA
(ALDRIN) EN DIFERENTES ALIMENTOS POR
CROMATOGRAFIA DE GASES

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
CLAUDIA LINDA PIERRE CASTRO
MARCO ANTONIO CRUZ GOMEZ

ASESOR:

Q.F.B. PATRICIA PARRA CERVANTES

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVANZADA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

ASUNTO: ASIGNACION DE SINDOLES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a usted como Sinodal del Examen Profesional del (la) señor (ita):

CLAUDIA LINDA PIERRE CASTRO

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo:

Le agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR UN PESTICIDA (ALDRIN) EN DIFERENTES ALIMENTOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES

y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE Q. MA. TERESA MENDOZA MATA [Firma]
 VOCAL Q.F.B. PATRICIA PARRA CERVANTES [Firma]
 SECRETARIO Q.F.B. CIRENIA SANDOVAL LOPEZ [Firma]
 SUPLENTE Q.F.B. IDALIA LETICIA FLORES GOMEZ [Firma]
 SUPLENTE Q.F.B. LETICIA CRUZ ANTONIO [Firma]

ATENTAMENTE.
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 México, D.F. 28 de enero de 1994

[Firma]
 Q.F.B. PATRICIA PARRA CERVANTES
 JEFE DE LA CARRERA

c.c.p. Departamento de Control de Egresados.
 c.c.p. Interesado.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

ASUNTO: ASIGNACION DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a usted como Sinodal del Examen Profesional del (la) señor (ita):

MARCO ANTONIO CRUZ GOMEZ

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo:

Le agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado:

DESARROLLO Y VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR UN PESTICIDA (ALDRIN) EN DIFERENTES ALIMENTOS POR CROMATOGRAFIA DE GASES

y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE Q. MA. TERESA MENDOZA MATA

VOCAL Q.F.B. PATRICIA PARRA CERVANTES

SECRETARIO Q.F.B. CIRENIA SANDOVAL LOPEZ

SUPLENTE Q.F.B. IDALIA LETICIA FLORES GOMEZ

SUPLENTE Q.F.B. LETICIA CRUZ ANTONIO

ATENTAMENTE.
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
México, D.F. 28 de enero de 1994.

Q.F.B. PATRICIA PARRA CERVANTES
JEFE DE LA CARRERA

c.c.p. Departamento de Control de Egresados.
c.c.p. Interesado.

DEDICATORIAS

JORGE CRUZ +

CATALINA CASTRO +

SE QUE DONDE SE ENCUENTREN ESTEN ORGULLOSOS DE NOSOTROS, SIEMPRE LOS LLEVAMOS EN EL PENSAMIENTO VIVEN DENTRO DE NOSOTROS. AUNQUE FISICAMENTE NO LO ESTEN, UNA PARTE DE USTEDES VA CON NOSOTROS. LA MEJOR HERENCIA QUE PUDIMOS HABER RECIBIDO FUE LA MORAL QUE NOS INCULCARON Y ESA MANERA TAN ESPECIAL DE VER LAS COSAS POSITIVAMENTE.

MARTHA GOMEZ.

OJALA PUDIERA EN ESTAS BREVES LINEAS, EXPRESAR LO AGRADECIDO QUE ESTOY CONTIGO Y CON LA VIDA POR TENERTE.

TE QUIERO TANTO, ADMIRO TU FORTALEZA Y RECTITUD. A TI TE DEBO LA VIDA Y LO QUE SOY, CREO QUE TODOS TUS SACRIFICIOS NO FUERON EN VANO, AQUI ESTA LA PRUEBA.

AGRADECIMIENTO

A NUESTROS PROFESORES, AMIGOS Y PARIENTES QUE DE UNA U OTRA FORMA AYUDARON EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

INDICE

I. Introducción.....	01
II. Fundamentación de la elección del tema.	
A. Cromatografía de Gases.	
1. Teoría.	
a. El proceso cromatográfico.....	03
b. Posición del pico.....	03
c. Factor de selectividad.....	05
d. Platos teóricos.....	05
e. Altura equivalente a un plato teórico....	08
2. Sistema Cromatográfico.	
a. Gas portador.....	17
b. Inyector.....	19
c. Columna.....	20
d. Detectores.....	27
3. Análisis Cuantitativo.	
a. Porcentaje de Área.....	31
b. Normalización.....	31
c. Estandarización externa.....	32
d. Estandarización interna.....	33
B. Validación de Métodos Analíticos.	
1. Generalidades.....	34
2. Definiciones.	
a. Linealidad.....	35
b. Rango.....	35
c. Exactitud.....	35
d. Precisión.....	36
e. Límite de detección.....	36
f. Límite de cuantificación.....	37
g. Especificidad.....	37
h. Tolerancia.....	37
3. Determinaciones.	
a. Linealidad del sistema.....	37
b. Linealidad del método.....	38
c. Precisión del sistema.....	38
d. Exactitud.....	39
e. Reproducibilidad.....	39
f. Límite de detección.....	39
g. Cantidad mínima cuantificable.....	40

C. Aldrín.	
1. Generalidades.....	41
2. Nombre científico.....	42
3. Nombres comerciales y comunes.....	42
4. Clasificación de peligrosidad.....	42
5. Propiedades fisicoquímicas.....	43
6. Mecanismo de acción y toxicidad sobre insectos.....	45
7. Usos.....	45
8. Toxicidad en seres vivos.	
a. Absorción, distribución, biotransformación.....	45
b. Mecanismo de acción.....	46
c. Efecto tóxico a largo plazo.....	47
III. Planteamiento del Problema.....	48
IV. Objetivos.....	50
V. Hipótesis.....	51
VI. Material y Método.....	52
VII. Resultados.....	59
VIII. Discusión de resultados.....	99
IX. Conclusiones.....	103
X. Propuestas y recomendaciones.....	105
XI. Anexo 1.....	106
XII. Anexo 2.....	108
XIII. Bibliografía.....	110

I. INTRODUCCION

Dada la importancia que representa el consumo de alimentos y el control que estos deben llevar en cuanto a calidad para así poder llegar al consumo humano, es imprescindible determinar la presencia de sustancias tóxicas; tales como plaguicidas, aflatoxinas, sulfametacina, etc.; los cuales pueden presentarse a niveles de trazas.

En este proyecto se hace un estudio de uno de los plaguicidas considerado dentro de los altamente tóxicos por el Codex Alimentarius conocido como Aldrin, el cual su uso en la actualidad ésta estrictamente prohibido, pero estudios previos en algunos alimentos han demostrado tener presencia del mismo tal vez no sea por su uso indiscriminado sino más bien por su persistencia que este compuesto ha tenido en la atmósfera desde que en años anteriores era utilizado. Existen diversas técnicas reportadas en fuentes bibliográficas para su cuantificación, dentro de las cuales destaca la cromatografía de gases, empleando detector de captura de electrones; sin embargo no cuenta con las características idóneas para ser reproducido en el laboratorio, por lo cual se hace necesario desarrollar un método de cuantificación que permita la reproducibilidad del mismo

a sí como la confiabilidad.

Cabe destacar que en este estudio se desarrolló un método por cromatografía de gases con detector de captura de electrones el cual nos permite cuantificar al Aldrin en diferentes alimentos (cebolla deshidratada, harina y carne), basado en la extracción previa del plaguicida en una mezcla de benceno-pentano y su purificación a través de fluorisil; posteriormente se realizó la validación del mismo mediante la evaluación estadística obteniendo que el método desarrollado para cada tipo de alimento es preciso, exacto, lineal y con límite de detección aceptable, en virtud de que esta sustancia se encuentra presente en los alimentos a concentraciones inferiores de 0.5 ppm.

II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

A. CROMATOGRAFIA DE GASES

Cromatografía es un término general aplicado a una amplia gama de técnicas de separación que esencialmente se basan en la distribución de los componentes a separar entre dos fases; una de ellas es una fase móvil, la cuál puede ser gas o un líquido, la otra es una fase estacionaria, la cuál a su vez puede ser un líquido o un sólido. (1)

1. Teoría.

a. El Proceso Cromatográfico.

La teoría cromatográfica permite determinar dos características de los picos, la posición del máximo o pico y la velocidad de ensanchamiento del pico como consecuencia del número de platos teóricos o de la altura equivalente a un plato teórico (AEPT)

b. Posición del Pico.

La posición del pico esta determinada por la velocidad de flujo y el factor de capacidad K

$$K = \frac{\text{Conc. de la muestra en la fase estacionaria}}{\text{Conc. de la muestra en la fase móvil}} \quad (\text{ec. 1})$$

El factor de capacidad es una constante termodinámica

que relaciona la cantidad de la muestra en las dos fases y se relaciona con el tiempo de retención mediante la ecuación:

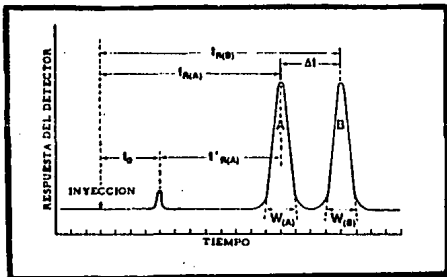
$$T_R = T_0 + T_0 K \quad (\text{ec. 2})$$

donde:

T_R Es el tiempo que transcurre desde el punto de inyección al máximo del pico.

T_0 Es el tiempo transcurrido desde la inyección hasta lograr un pico inerte. Es una medida del tiempo que cada componente permanece en la fase móvil (fig. 1)

Figura 1. Esquema de cromatografía



El tiempo de retención es la suma del tiempo pasado entre las dos fases; T_o , el tiempo pasado en la fase móvil y T_R es el tiempo pasado en la fase estacionaria y se mide desde el pico de la fase móvil hasta el pico máximo:

$$T_R = T_o + T_o K = T_o + T_R' \quad (\text{ec. 3})$$

En cromatografía de gases K depende de la temperatura y al aumentar ésta generalmente disminuye este factor además de reducir la solubilidad y el tiempo pasado por los componentes de la muestra en la fase estacionaria.

c. Factor de Selectividad o Retención Relativa.

El factor de selectividad (α) es la relación del tiempo que dos picos permanecen en la fase estacionaria.

En la fase estacionaria se realiza la separación, y de acuerdo a la interacción que haya con un compuesto y otro se realizará la selección de que pico sale primero y cuál después, si $\alpha=1.0$ los dos picos tienen solubilidades iguales con respecto a la fase estacionaria y no se llevará a cabo la separación, así mientras más elevados sean los valores de α , mayor será la selectividad de la fase estacionaria y más fácil la separación.

$$\alpha = \frac{T_R' (B)}{T_R' (A)} = \frac{T_R (B) - T_o}{T_R (A) - T_o} \quad (\text{ec. 4})$$

En cromatografía de gases se aumenta la selectividad variando el empaque de la columna, tamaño de partícula del soporte, el recubrimiento más delgado de la capa líquida, etc.(2)

d. Platos Teóricos.

La eficiencia de la columna se mide por los platos

teóricos " N ", los cuales miden el ensanchamiento de la banda del soluto a medida que pasa a través de la columna.

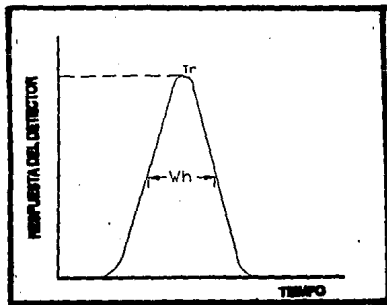
Existen varios métodos para cuantificar el número de platos teóricos dependiendo de la altura a la que se tome la anchura del pico.

1) Método de altura media del pico.

$$N = 5.54 \left(\frac{T_r}{W_h} \right)^2 \quad (\text{ec. 5})$$

Este método no es sensible a los picos asimétricos ya que los coleos del pico están por debajo de la mitad y por lo tanto no es afectada la medida de eficiencia sensiblemente por estos (fig. 2).

Figura 2. Método de altura media del pico.

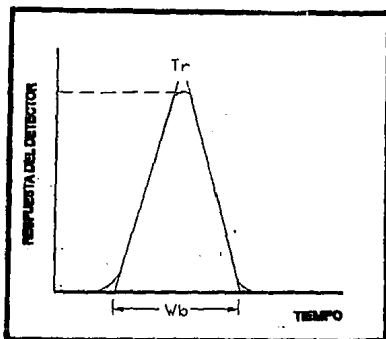


2) Método de las tangentes.

$$N = 16 \left(\frac{T_r}{W_b} \right)^2 \quad (\text{ec. 6})$$

Se trazan dos tangentes por los puntos de inflexión y se mide la longitud de la línea base donde están las tangentes (fig. 3).

Figura 3. Método de las tangentes

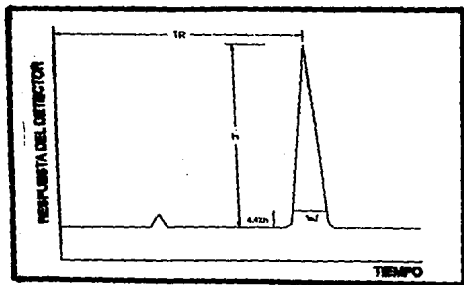


3) Método de 5σ

$$N = 25 \left(\frac{T_r}{0.5\sigma} \right)^2 \quad (\text{ec. 7})$$

Este método es muy sensible a los picos asimétricos debido a que la anchura es tomada al 4.4% de la altura total del pico (fig. 4).

Figura 4. Método de 5 .



Muchos factores afectan al número de platos y entre éstos, los siguientes: tiempo de retención, longitud de la columna, soluto, flujo, tamaño de la muestra, técnica de inyección, etc. (3)

a. Altura Equivalente a un Plato Teórico.

La mayoría de los parámetros operacionales de la columna pueden evaluarse por su efecto sobre la altura equivalente a un plato teórico (AEPT):

$$AEPT = \frac{l}{N} \quad (\text{ec. 8})$$

donde:

l = longitud de la columna (cm o mm).

N = Número de platos teóricos.

AEPT = Longitud de la columna para generar un plato; mientras mayor sea el número de platos, más pequeña es la AEPT y más eficiente es la columna.

La ecuación de Van Deemter, relaciona los parámetros operacionales de la columna con su eficiencia:

$$H = A + \frac{\beta}{\mu} + C\mu \quad (\text{ec. 9})$$

donde:

H = AEPT.

A = Es el efecto del camino múltiple

β = La difusión molecular.

C = Resistencia a la transferencia de masa.

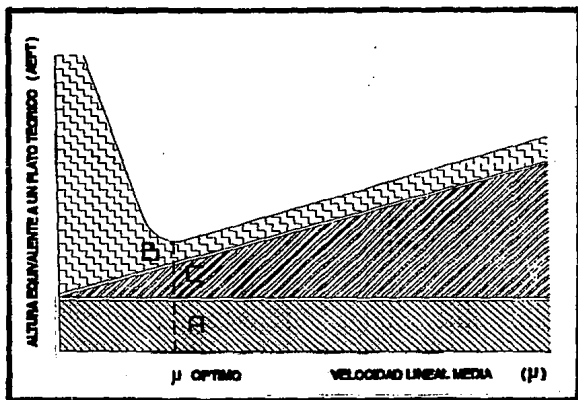
μ = Es la velocidad lineal media de la fase móvil.

Los términos A, β y C, identifican los principales aportes a la dispersión del pico. La velocidad lineal media del gas o fase móvil (μ) puede determinarse a partir de:

$$\mu = \frac{l(\text{cm})}{T_0} \quad (\text{ec. 10})$$

Si se representa en forma gráfica AEPT en función de μ se obtiene una hipérbola con un mínimo de AEPT (fig. 5). Este mínimo corresponde al caudal al que la columna funciona con máxima eficiencia. También puede observarse en la figura 5, el efecto aditivo de los tres factores que contribuyen a la altura del plato, A es independiente del caudal, β disminuye cuando el caudal es más rápido y C se incrementa con un caudal mayor.

Figura 5. Representación esquemática de la ecuación de Van Deemter



La versión ampliada de la ecuación de Van Deemter es:

$$AEPT = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_{gas}}{\mu} + \frac{BK_d^2 \mu}{\pi^2 (1+K)^2 D_{LIQ}} \quad (\text{ec. 11})$$

donde:

λ = Es una constante que mide las irregularidades del relleno.

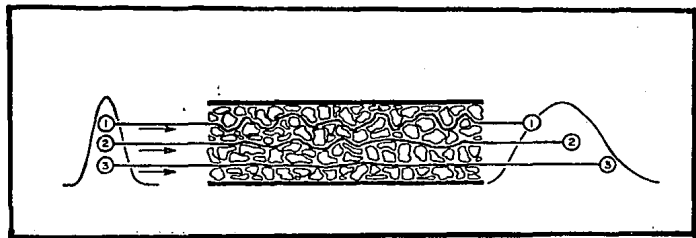
- γ = Un factor de correlación que explica la tortuosidad de los canales de gas en la columna.
- d_p = Diámetro medio de la partícula del soporte sólido.
- D_{gas} = Coeficiente de difusión del soluto en la fase gas o móvil.
- μ = Velocidad lineal promedio del gas.
- K = Factor de capacidad.
- d_f = Espesor efectivo de la película líquida que cubre las partículas del soporte.
- D_{liq} = Difusibilidad del soluto en la fase líquida o estacionaria.

1) Efecto del camino múltiple.

En cualquier columna rellena habrá una serie de caminos de diversas longitudes que atraviesan la columna. A medida que el gas portador y la muestra se desplazan a través de la columna, se distribuyen ellos mismos entre los diversos caminos. Puesto que la longitud de estos caminos es diferente, las moléculas de la muestra se mueven a distinta velocidad lineal. Para el tiempo T_s , las moléculas de la muestra habrán experimentado una dispersión gaussiana de su distancia lineal lo cual resulta en un pico más ancho. De este modo los múltiples caminos accesibles a la muestra contribuyen al ensanchamiento del pico y reducen la eficiencia de la columna, los cuales dependen

del tamaño de las partículas la regularidad de las mallas y el diámetro de la columna. Para minimizar el término A, habría que usar partículas pequeñas de tamaño uniforme y columnas de diámetro pequeño (fig. 6).

Figura 6. Efecto del camino múltiple



2) Difusión molecular.

Hay difusión en la fase móvil cuando el soluto molecular emigra desde las zonas de alta concentración hasta las zonas de menor concentración. Este proceso de difusión resulta en una dispersión gaussiana que disminuye la eficiencia de la columna.

La difusión es inversamente proporcional a la velocidad lineal media del gas, ya que un flujo más rápido

significa un tiempo de difusión más breve.

El término difusión molecular es proporcional al D_{gas} , la difusibilidad del soluto en el gas portador. Una alta difusibilidad del soluto provoca el ensanchamiento de la banda. Al corregirse la tortuosidad, se ajusta la velocidad lineal a la velocidad efectiva que es más grande en la columna rellena. Esta es la diferencia entre un camino en la línea recta y el camino promedio real de una molécula. Si se aumenta el tamaño de la partícula, y aumenta a un valor límite de 1.0 .

Los procedimientos para disminuir el término β incluyen: caudales más rápidos (menor tiempo para la difusión); gas portador más denso, como el nitrógeno o el argón y presión elevada dentro de la columna para inhibir la difusión.

3) Resistencia a la transferencia de masa.

Las moléculas de la muestra deben transferirse de la fase gaseosa a la fase líquida; penetrar el líquido y difundirse a través de la película líquida; regresar a la superficie y volver nuevamente a la fase gaseosa. Por lo tanto el término C es una función compleja de varios términos: el espesor de la película líquida, la difusibilidad del soluto en la fase líquida, el factor de capacidad y la velocidad de flujo.

a) *Espesor de la película líquida (d_f)*: Una película de poco espesor facilitará la transferencia de masa y evitará el efecto de dispersión del pico. El límite del espesor de la película está determinada por el área de la superficie del soporte

sólido y la actividad adsorbente del soporte sólido.

b) *Difusibilidad en la fase líquida* (D_{liq}): Con un líquido de baja viscosidad, temperatura elevada en la columna y una muestra compuesta de moléculas de pequeño tamaño aumentará la difusibilidad. Sin embargo este término es menor en comparación con d_f y K .

c) *Factor de capacidad* $K/(1 + K)^2$: Comúnmente K tendrá un valor de 10 o mayor y mientras mayor sea K menor será el término C que produzca; un término K limitante se aproxima a 50, valor que generalmente da un tiempo de retención demasiado grande para el análisis práctico.

d) *Temperatura*: Al aumentar la temperatura aumentará el término β ; disminuirá el término C por incrementarse D_{liq} ; pero inversamente aumentará el término C por disminuir K . Si aumenta un poco la temperatura se reducirá en alto grado la viscosidad de la fase líquida, sin que haya una reducción importante en los valores de K' por lo tanto, si se aumenta la temperatura mejorará la eficiencia de la columna. Sin embargo, en general el término K es el que más depende de la temperatura y esto al aumentar la temperatura suele aumentar el término C y en consecuencia disminuye la eficiencia de la columna. Para reducir al mínimo el término C , deberá extenderse uniformemente una delgada película uniforme, de baja viscosidad, sobre un soporte inerte. El caudal debe ser bajo y el término K suficientemente alto para conseguir una buena partición (4).

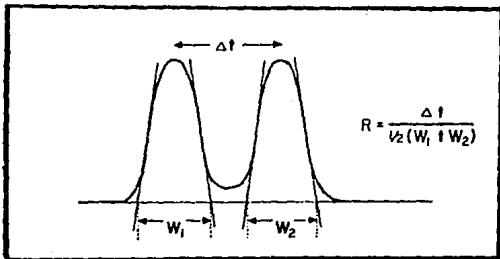
f. Resolución

La separación de dos picos se mide por la resolución (R), la cuál esta determinada por dos factores: Δt y W.

$$R = \frac{2\Delta t}{W_1 + W_2} \quad (\text{ec. 12})$$

Δt es una medida de la separación de los máximos de dos picos (fig.7), puede incrementarse ya sea reduciendo la temperatura o escogiendo una fase líquida más selectiva (mayor α).

Figura 7. Resolución

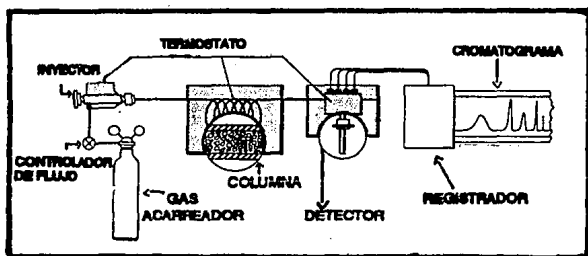


2. SISTEMA CROMATOGRAFICO.

La figura No. 8 representa el esquema de un sistema para cromatografía de gases. Las partes básicas son:

- a. Cilindro de gas portador.
- b. Inyector.
- c. Columna.
- d. Detector.
- e. Registrador.

Figura 8. Esquema general de un cromatografo de gas.



a. Gas portador.

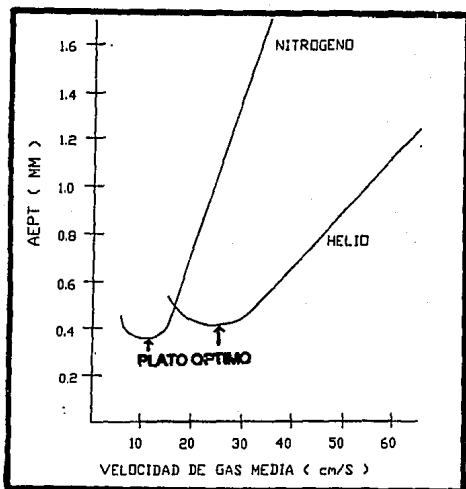
El primer propósito del gas portador, es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna. El gas deberá ser inerte y no reaccionar ni con la muestra ni con la fase estacionaria.

El propósito secundario es el de obtener una matriz adecuada para que el detector mida el componente de la muestra.

Para obtener en una columna un mayor número de platos teóricos, se prefiere un gas de peso molecular elevado como el nitrógeno ya que se logra un valor más bajo de AEPT (μ óptimo); sin embargo, si se desea optimizar la velocidad del análisis, es mejor escoger un gas portador ligero, como el helio o el hidrógeno. En la fig. No. 9 puede observarse que el nitrógeno está en un mínimo de AEPT a la velocidad lineal del gas de 7.5 cm/s. El mínimo para el helio se presenta a unos 18 cm/s. Si ambos gases se desplazaran al mínimo de AEPT, el nitrógeno generaría alrededor de un 15% más de platos, pero con un tiempo de análisis de 2 a 4 veces mayor que el helio. Además con el helio se puede contrarrestar una pequeña pérdida de la eficiencia de la columna con una importante ganancia en la velocidad del análisis.

También es importante que el gas portador sea de alta pureza. Las impurezas (en especial oxígeno y agua) pueden alterar químicamente la fase líquida y por ende modificar los tiempos de retención. Las columnas de poliésteres poliglicoles y poliamidas son susceptibles de ser degradadas por el oxígeno y el agua.

Figura 9. Curvas de AEPT para nitrógeno y el helio.



El detector de conductividad térmica usa helio, excepto cuando se va a medir hidrógeno o helio, entonces se emplea argón o nitrógeno.

El detector de ionización de flama usa helio o nitrógeno.

El detector de captura de electrones usa nitrógeno muy seco con corriente continua y argón con 5% de metano con corriente pulsada.

b. inyector.

Casi todos los cromatógrafos de gases tienen una entrada metálica calentable. En el diseño de estos sistemas de entrada, varios factores revisten importancia.

** El gas portador debe precalentarse para garantizar una rápida vaporización.

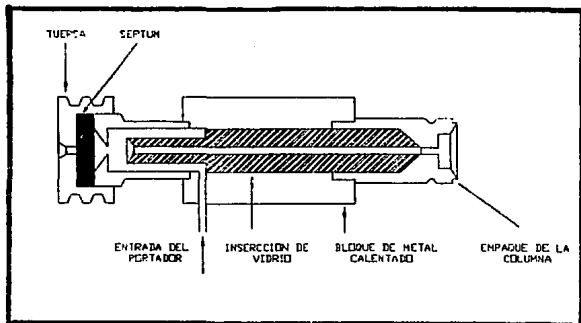
** El diafragma debe mantenerse más frío que el bloque de inyección para evitar degradación térmica.

** El volumen muerto debe mantenerse al mínimo y el camino del flujo debe ser suave y uniforme para evitar la difusión en torbellino o la transferencia exponencial de la muestra dentro de la columna.

** Debera mantenerse una temperatura uniforme en el bloque para garantizar la rápida volatilización sin que haya descomposición térmica debido a puntos calientes o condensación debido a puntos fríos.

Muchas muestras son termolábiles y se descomponen rápidamente sobre superficies metálicas calientes. Entre los compuestos obtenidos figuran los derivados de aminoácidos, carbohidratos, esteroides y numerosas drogas estupefacientes. En el caso de estas muestras, es necesario que el interior de la cámara metálica de inyección tenga una pared de vidrio, donde la columna de vidrio quede lo suficientemente cerca del septum (empaquetado) para que la aguja de la jeringa deposite la muestra dentro de la columna de vidrio inactiva (fig. 10).

Figura 10. Esquema de una cámara de inyección.



c. Columna.

1) Material.

El tubo de la columna puede ser de cobre, acero inoxidable, aluminio y vidrio tanto de forma recta como doblada o helicoidal. El cobre es inapropiado porque reacciona o absorbe determinados componentes de la muestra (aminas, acetilenos, terpenos y esteroides). El vidrio se recomienda para aminoácidos, esteroides, drogas enervantes, hidrocarburos de carbono y plaguicidas.

2) Longitud.

La longitud de la columna rellena varía desde unas cuantas pulgadas hasta más de 15 m. Las columnas analíticas

comunes miden de 1 a 3 m. de longitud. Con mayores longitudes se obtienen más platos teóricos y mejor resolución. La velocidad del gas portador aumenta al pasar a través de una columna rellena y, así, sólo un corto tramo de una columna larga funciona a velocidad óptima de flujo. Esto significa que con columnas extremadamente largas, el número de platos teóricos y la resolución obtenida muestran rendimientos decrecientes.

3) Diámetro.

El diámetro de la columna varía de 0.025 a 1.25 cm. de diámetro interno (DI). Mientras menor sea el diámetro de la columna mayor es la eficiencia de ésta. El diámetro externo (DE) de las columnas analíticas estándar es de 0.3 y 0.6 cm. En las columnas capilares el diámetro externo es de 0.15 cm y el diámetro interno de 0.025 a 0.05 cm.

4) Fase Líquida.

La fase líquida debe cumplir con las siguientes propiedades:

- ** Ser un buen disolvente absoluto para los componentes de la muestra, dado que si la solubilidad es baja, los componentes eluirán rápidamente y la separación será pobre.
- ** Debe exhibir la capacidad como disolvente diferencial para los componentes de la muestra.
- ** Ser no volátil con una presión de vapor de 0.01-0.1 mmHg.

**** Ser térmicamente estable ya que una inestabilidad puede ser proporcionada por una influencia catalítica del soporte al incrementarse la temperatura.**

**** Ser químicamente inerte.**

La elección de la fase líquida depende de la composición de la muestra. Para tener una separación eficiente, la fase líquida deberá ser similar en estructura química a los componentes de la mezcla.

Ewell y colaboradores¹ clasificaron a varios grupos funcionales en 5 clases, los cuales se muestran en la tabla 1.

- a) Clase I: Compuestos capaces de formar enlace de hidrógeno.
- b) Clase II: Compuestos que contienen un átomo donador (O, N, F) y un átomo de hidrógeno activo.
- c) Clase III: Moléculas que contienen un donador pero no un átomo de hidrógeno activo.
- d) Clase IV: Moléculas que contienen un hidrógeno activo pero no átomos donadores.
- e) Clase V: Compuestos que no forman enlaces de hidrógeno.

1. Ewell, R. N., Harrison, J. M., and Berg, L., Ind. Eng. Chem. 87, (1945).

TABLA No 1
CLASIFICACION DEL SOLUTO

CLASE I (Más polar)	CLASE II (Polar)
Agua Glicol, Glicerol, etc. Amino alcoholes Hidroxi ácidos Polifenoles Acido dibásicos	Alcoholes Acidos grasos Fenoles Aminas primarias Aminas secundarias Oximas
CLASE III (Intermedia)	CLASE IV (Baja polaridad)
Eteres Cetonas Aldehidos Esteres Aminas terciarias	Hidrocarburos alifáticos Hidrocarburos aromáticos
CLASE V (No polar)	
Hidrocarburos saturados CS Sulfuros	

La tabla 2 muestra las fases líquidas que son comúnmente usadas de acuerdo a la clasificación anterior; la tabla 3 muestra el efecto de la retención de un soluto de acuerdo a la fase líquida.

5) Soporte sólido.

El propósito de la fase sólida es sostener una película delgada y uniforme de la fase líquida. Un soporte óptimo deberá poseer determinadas características:

- ** Una superficie específica extensa de 1 a 20 m²/g.
- ** Un diámetro de poros uniforme del orden de 10μ o menos.
- ** Inactividad: Un mínimo de interacción química y adsorbtiva con la muestra.
- ** Partículas de forma regular de tamaño uniforme para un relleno eficiente.
- ** Resistencia mecánica: No deberá desmoronarse al ser manipulado.

La materia prima para la mayoría de los soportes de cromatografía de gases es la diatómica, también denominada tierra de diatomeas, formada por esqueletos de algas unicelulares microscópicas que son fundamentalmente sílice hidratada y amorfa.

Hay cinco formas o tipos de chromosorb A, B, P, W y T.

TABLA No 2

CLASIFICACION DE LAS FASES LIQUIDAS

CLASE A (I)	CLASE B (II)
FFAP 20M-TPA CARBOWAX VERSAMID MANTOL	ZONYLE - 7 XE - 60 XF - 1150 AMINE 220 EPON 1001
CLASE C (III)	CLASE D (IV, V)
SAIB STAP CIANURO DE BENCILO QF - 1 OV - 17	SE - 30 SF - 95 DC - 200 ESCUALENO OV - 1

TABLA No 3

EFFECTO DE LA CLASE SOBRE LA RETENCION DEL SOLUTO

SOLUTO	FASE	EFFECTO
III IV V	C D C, D	El soluto se separa de acuerdo al punto de ebullición.
IV	C	El soluto es bien retenido por la fase líquida.
I II III	A, B A, B A, B	El soluto generalmente se retiene por la fase líquida.
II IV V	D B B	El soluto no es bien retenido por la fase líquida.
I IV V	D A A	El soluto no es bien retenido por la fase líquida, su solubilidad es muy limitada.

- a) Chromosorb A: para la cromatografía de gases en escala preparativa tiene buena capacidad para fijar la fase líquida (máxima 25%) es de una estructura difícil de romper al ser manipulada en una superficie que no es muy adsorbente. Esta disponible en tamaños de mallas de 10/20, 20/30 y 30/40 que permiten utilizar columnas preparativas largas con baja caída de presión.
- b) Chromosorb B: se emplea para separar compuestos polares por su baja área superficial y sus características de dureza y resistencia a la manipulación es un sustituto del chromosorb W; debido a su menor superficie y densidad elevada, el chromosorb B se utiliza con una impregnación más baja de la fase líquida.
- c) Chromosorb P: preparado a partir de la producción de ladrillos refractarios Sil-O-Cel c-22; es una diatomeita calcinada, de color rosa y relativamente dura. Es más adsorbente que la de otros grados de chromosorb y se emplea para hidrocarburos.
- d) Chromosorb I: Es una resina de hidrocarburo fluorado obtenida al tazar el polvo de teflón-6 se emplea para separar compuestos altamente polares tales como agua, hidracina, dióxido de azufre y halógenos.

e) Chrososorb M: Es un soporte de diatomita calcinado con fundente obtenido durante la fabricación del celite, es de color blanco y quebradizo su superficie es relativamente no adsorbente y se usa para separar compuestos polares. Cuando se lava con ácido y se trata con Silano su comportamiento es excelente. (5)

e. Detectores.

1) Características de un detector.

El detector es un dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración. Las características de un detector son:

** **Sensibilidad:** denota la cantidad de señal generada para determinada concentración de una muestra. El detector sensible generara una señal eléctrica grande para un determinado tamaño de muestra.

** **Ruido:** se refiere a la respuesta del detector de corta duración y al azar determinada por las propiedades eléctricas, de temperatura o la sensibilidad al caudal. El ruido determina como detectar una muestra pequeña. Por lo general se define como cantidad mínima detectable (c.m.d) aquella muestra lo suficientemente grande para

generar una señal dos veces mayor que su nivel de ruido.

** Respuesta Universal: significa que el detector generara una respuesta para todos los componentes de la muestra, exceptuando el gas portador.

** Respuesta selectiva: significa que el detector sólo responde a determinado tipo de compuestos; por ejemplo, el detector fotométrico de llama solo responde a compuestos que contienen átomos de azufre o fósforo.

** Linealidad: Es la región sobre la cual la señal del detector es directamente proporcional a la concentración de la muestra (6).

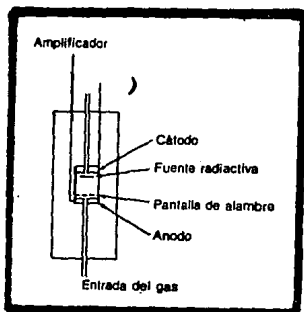
2) Detector de captura de electrones.

a) Principios operativos.

El detector de captura de electrones mide las disminuciones de una señal en vez del aumento de la corriente eléctrica. A medida que el gas portador nitrógeno fluye a través de un detector, una lamina de tritio o de níquel-63 radiactivo ioniza las moléculas de nitrógeno y forma electrones lentos. Estos electrones se desplazan hacia el ánodo, cuyo potencial es de 90 voltios. Al colectarse estos electrones lentos, se produce una corriente constante que se amplifica por un electrómetro. Esta corriente de fondo es de unos 10^{-9} Amp. Si en ese momento se introduce en el detector una muestra que

contenga moléculas que capturen electrones, se reducirá esa corriente. La disminución de corriente es una medida de la cantidad y afinidad electrónica de los compuestos de la muestra como se observa en la figura 11.

Figura 11. Esquema de un detector de captura de electrones.



b) Fuente radiactiva.

La fuente radiactiva es una parte esencial del detector de captura de electrones. Realiza la ionización primaria del gas portador. Se han utilizado tanto el tritio ($H-3$) como el Níquel-63. La lámina de tritio sólo es utilizable hasta $220^{\circ}C$. La fuente de Níquel-63 puede calentarse hasta $350^{\circ}C$ mantenerse a temperatura más alta y, por tanto puede operar durante meses sin tener que limpiarse la lámina.

c) Selectividad y sensibilidad de un detector.

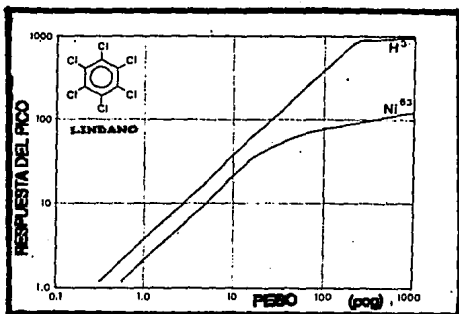
El detector de captura de electrones es muy sensible a ciertas moléculas, tales como haluros de alquilo, carbonilos conjugados, nitrilos, nitratos y compuestos organometálicos. es insensible a los hidrocarburos, alcoholes y cetonas. Por su sensibilidad selectiva respecto a los haluros este detector permite analizar plaguicidas que pueden detectarse a niveles de nano y picogramos.

En el análisis de plaguicidas por ejemplo el aldrin y el lindano los cuales contienen 6 átomos de cloro, el primero exhibe una mayor sensibilidad que el lindano. Esta puede ser atribuida a la presencia de dobles enlaces en su estructura entre los átomos de carbono 2,3 y 6,7 los enlaces insaturados en la posición 2,3 unen a los átomos de cloro (7).

d) Linealidad

En los detectores de captura de electrones el recorrido lineal es muy limitado. los detectores se saturan con facilidad y hay que inyectar muestras muy pequeñas. Las muestras deben de estar secas, ya que trazas de agua destruyen la respuesta normal del detector. (figura No 12).

Figura 12. Linearidad del detector de captura de electrones.



3. ANALISIS CUANTITATIVO.

a. Porcentaje de Área.

Corresponde al cálculo de la composición porcentual mediante la medición del área de cada pico y la división de cada área por el área total es decir:

$$\% A = \frac{\text{Área de A}}{\text{Área total}} \times 100 \quad (\text{ec. 13})$$

b. Normalización.

Las áreas de los compuestos no son directamente proporcionales a la composición porcentual, es decir compuestos diferentes tienen diferentes respuestas del detector; por lo tanto es necesario determinar los factores de corrección. Estos factores una vez determinados pueden usarse para calcular la composición porcentual:

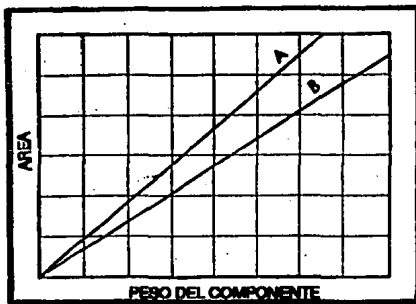
$$\% A = \frac{\text{Área de A}/F_a}{\text{Área}/\text{factor}} \times 100 \quad (\text{ec. 14})$$

c. Estandarización Externa.

En este método se inyectan cantidades exactas de la muestra pura. Se traza una curva de calibración del Área con respecto a la concentración. Se inyecta una cantidad exacta de la muestra; se mide el Área de pico y a partir de la curva de calibración se calcula la cantidad de muestra presente en el material desconocido (fig No 13):

$$\% \text{ en peso de A} = \frac{\text{Área (A)} * (\text{g/área})}{\text{g inyectados}} * 100 \quad (\text{ec.15})$$

Figura 13. Curva de calibración absoluta.



d. Estandarización Interna.

Se preparan estándares a diferente concentración con un estándar interno a concentración constante y se traza una curva de calibración. De igual forma a la muestra se adiciona el estándar interno a la misma concentración en que fue adicionada al estándar, se determina el Área de la muestra se interpola en la gráfica y se determina la cantidad de muestra presente en el material desconocido.

El estándar interno debe tener los siguientes requisitos:

- ** Separarse bien de los otros picos.
- ** Eluirse cerca del pico de interés.
- ** Tener una concentración aproximada a la de la sustancia a determinar.
- ** Tener una similitud estructural con la sustancia a determinar (8).

B. VALIDACION DE METODOS ANALITICOS.

1. Generalidades.

En la actualidad uno de los principales objetivos de la industria farmacéutica, alimenticia y química, es asegurar un adecuado control de calidad tanto de la materia prima, como del producto en proceso y producto terminado. Es por lo que, la validación retrospectiva y prospectiva ha tomado gran importancia.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas es decir, incluye una evaluación de la precisión, linealidad y exactitud para evaluar el comportamiento del método.

Las etapas previas importantes a la validación que deben ser tomadas en consideración son:

a. Etapas de diseño

Comprende una revisión bibliográfica exhaustiva, con la finalidad de conocer las propiedades físicas, químicas, estabilidad e interacciones del anólito, así como referencias para la cuantificación del mismo por el método analítico adecuado.

b. Etapas de desarrollo

Esta deberá cubrir las siguientes condiciones:

** Condiciones analíticas preliminares.

Optimización y tipo de detección.

** Eficiencia de la extracción, digestión y desarrollo de la reacción.

** Selección de la sustancia patrón de referencia interna o estándar interno (9).

2. Definiciones.

a. Linealidad.

La linealidad de un sistema o método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado.

b. Rango.

Es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la sustancia, el cual se ha demostrado que es preciso exacto y lineal utilizando el método descrito.

c. Exactitud.

Es la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente del valor de referencia que corresponde al 100 %.

Se expresa como el % de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia.

d. Precisión.

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico, bajo las condiciones normales de operación.

1) Repetibilidad.

Es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos aparatos y técnicas.

2) Reproducibilidad.

Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas, en diferentes días, en el mismo y/o diferentes laboratorios utilizando el mismo y/o diferentes equipos.

e. Límite de detección.

Es la mínima concentración de una sustancia en una muestra la cual puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.

f. Límite de cuantificación.

Es la menor concentración de la sustancia en una muestra que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables bajo condiciones de operación establecidas.

g. Especificidad.

Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

h. Tolerancia.

Es el grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones de las condiciones normales de operación, tales como diferentes temperaturas, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque (soporte, fase estacionaria, etc), condiciones ambientales, etc. (10)

3. Determinaciones.

a. Linearidad del sistema.

Se determina construyendo una curva de calibración de una misma solución patrón utilizando cuando menos 5 diluciones, y haciendo análisis por duplicado para cada dilución.

El intervalo entre las concentraciones a analizar dependera del propósito del método para fines del control de calidad y de seguimiento de la estabilidad de un fármaco en una forma farmacéutica, deberá estar incluida la concentración seleccionada como 100% .

Criterios:

$$a = 0, r \geq 0.99, r^2 \geq 0.98$$

Donde:

a = ordenada al origen.

r = coeficiente de regresión.

r^2 = coeficiente de determinación.

b. Linealidad del método.

Se determina con placebos adicionados del principio activo, (placebos cargados), cada uno de manera independiente, cuando menos a tres diferentes concentraciones incluyendo el 100%, haciendo los análisis por triplicado de cada concentración.

La amplitud del estudio dependerá del uso y aplicaciones del método (control de calidad, estabilidad, investigación, etc.) y preferentemente deberá llevarse a cabo por un mismo analista en las mismas condiciones de operación.

Criterio:

- Cantidad adicionada vs cantidad recuperada:

$$\text{Pendiente (m)} = 1$$

$$\text{Ordenada al origen (a)} = 0$$

$$\text{Coef. de determinación (r}^2\text{)} \geq 0.98.$$

- Porcentaje recuperado: en el intervalo de confianza para la media, debe localizarse el 100%

$$\text{- Coeficiente de variación (c.v.)} \leq 2 \%$$

c. Precisión del sistema.

Se determina por el análisis sextuplicado de una misma

solución estándar correspondiente al 100% establecido en la linealidad del sistema.

Criterio.

Coef. de variación (cv) \leq 1.5%

d. Exactitud

Se debe cuando menos analizar 6 placebos cargados con el 100% de principio activo, de manera independiente por el mismo analista y en las mismas condiciones de operación.

Criterio.

- El intervalo de confianza para la media debe incluir el 100%

- Coef. de variación (c.v.) \leq 2 %

e. Reproducibilidad.

Se debe llevar a cabo cuando menos por dos analistas, en dos días diferentes y por triplicado cada muestra.

Trabajar de manera independiente partiendo de una muestra homogénea del producto cercana al 100% de la concentración teórica.

Criterio.

Coef.de variación (c.v.) \leq 2 %

f. Límite de detección.

Hacer diluciones seriadas de la sustancia patrón de referencia hasta obtener una respuesta de dos veces por encima del nivel de ruido del sistema.

Criterio:

$$\text{Límite de detección} = Z^2 \cdot N$$

Donde:

N = Altura del ruido.

Z = Variable aleatoria normal estándar.

g. Cantidad mínima cuantificable.

Eplea los resultados de linealidad.

Criterio:

Debe ser por lo menos 10 veces menor del valor equivalente al 100% (11).

El anexo 1, muestra el formulario general que es aplicado para la validación de métodos analíticos.

C. ALDRIN

1. Generalidades.

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias destinadas a prevenir o combatir cualquier plaga siendo aplicable a cualquier sustancia o mezclas de sustancia destinadas a utilizarse como regulador del crecimiento de la planta o como un agente de defoliación o desecación. El término excluye los fertilizantes y antibióticos y demás sustancias químicas administradas a los animales con otros fines .

Un residuo de plaguicida es cualquier sustancia de éstos presente en los alimentos el cual es destinado al consumo humano o animal originado por el uso de un plaguicida; ello engloba a cualquier derivado específico como son los productos de degradación y conversión, los metabolitos y los productos de reacción considerados toxicológicamente importantes.

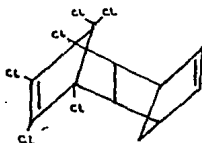
La concentración máxima de un residuo de plaguicida es aquella que el Codex Alimentarius permite legalmente estar presente en un alimento o producto alimenticio. Esta concentración se expresa en miligramos de residuo de plaguicida por kilogramo del alimento o producto alimenticio.

En general, el límite máximo del Codex para residuos se refiere al residuo resultante del uso de un plaguicida en

circunstancias destinadas a proteger el alimento o producto alimenticio contra las plagas, con arreglo a una práctica agrícola correcta. Cuando un residuo resulta de circunstancias no destinadas a proteger el alimento o producto alimenticio en cuestión contra los insectos nocivos, la concentración máxima recomendada se designa con la expresión límite práctico de residuo (12).

2. Nombre Científico.

(1 alfa, 4 alfa, 4a beta, 5 alfa, 8 alfa, 8a beta)
 -1, 2, 3, 4, 10, 10 - Hexacloro - 1, 4, 4a, 5, 8, 8a -
 Hexahidro - 1, 4:5, 8 - Dimetanonaftaleno.



3. Nombres Comerciales y Comunes.

Agrichem	Aldersten EC 30	Aldocit	Aldrec
Aldrex	Aldrex 2	Aldrex 30	Aldrex 40
Aldrex 5	Aldrimul	Aldrin 30	Altax

4. Clasificación de Peligrosidad.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) a clasificado a los plaguicidas de acuerdo a su grado de peligrosidad en cuatro grupos principales:

Clave	Descripción
IA	Extremadamente Peligrosos
IB	Altamente Peligrosos
II	Moderadamente Peligrosos
III	Ligeramente Peligrosos

Para el caso del Aldrin este ha sido clasificado dentro del grupo IB por lo que en México desde el año de 1987 como medida legislativa se prohíbe su importación al territorio nacional (13).

5. *Propiedades Fisicoquímicas.*

El aldrin es un sólido blanco cristalino con un punto de fusión de 104 a 104.5°C, su presión de vapor es de 2.31×10^{-5} , 4.87×10^{-5} , 7.48×10^{-5} y 1.03×10^{-4} mmHg a 20,30,40 y 50°C. respectivamente. Su solubilidad en agua entre 25 y 29°C. es de 27 ppm. La solubilidad en diferentes disolventes orgánicos se presenta en la tabla No. 4

Es estable al calor, a los álcalis, a los ácidos diluidos, emulsificantes, agentes humectantes y a los disolventes; sin embargo, los agentes oxidantes, los ácidos minerales concentrados y varias catálisis ácidas pueden causar descomposición.

El Aldrin es compatible con la mayoría de los insecticidas comunes como son los acaricidas, herbicidas, fungicidas y fertilizantes por lo que pueden ser usados en forma conjunta (14).

TABLA No. 4
SOLUBILIDADES DEL ALDRIN

DISOLVENTE	g/100 ml.
ACETONA	109
ACETATO DE AMILO	38
BENCENO	183
ALCOHOL n-BUTILICO	9
TETRACLORURO DE CARBONO	303
CICLOHEXANONA	---
DIESEL	30
DIPENTENO	109
ETANOL	5
DICLORO ETILENO	312
ISOPROPANOL	4
KEROSENO	28
METANOL	5
METIL ETIL CETONA	28
TOLUENO	267
XILENO	235

6. Mecanismo de acción y toxicidad sobre insectos.

El aldrin, sobre los insectos presenta un mecanismo de acción muy similar a los de su mismo grupo. Por ejemplo, en las moscas su período de actividad normal es alterado primero por una serie de espasmos y una incoordinación durante el vuelo, lo que ocasiona que impida volar por una disminución en su actividad motora por lo que provoca su muerte. En cucarachas americanas se ha observado que éste actúa a través del sistema nervioso central provocando un incremento frecuente de descargas en el tendón central originando su muerte (15).

7. Usos.

El aldrin es utilizado principalmente para el control de insectos que atacan principalmente los cultivos de trigo, cebada, centeno, maíz, papa, varias cosechas de raíz, caña de azúcar y de tabaco, higueras y cosecha de fibras (16).

8. Toxicidad en seres vivos.

Para conocer la acción tóxica del aldrin es necesario conocer como llega este a los tejidos, donde actúa y que función comprometen en el nivel subcelular o molecular, con la finalidad de reducir sus efectos tóxicos o evitar que ocurra alguna intoxicación.

El efecto tóxico provocado por el aldrin esta influido por el tiempo de exposición, que puede ser breve o prolongado, por el nivel de concentración que puede ser desde muy bajo hasta muy alto, también depende por su capacidad de penetración, estabilidad,

distribución, persistencia, degradación y por su capacidad de causar una lesión y por las características del organismo.

a. Absorción, distribución, biotransformación.

El aldrín puede ingresar al organismo por ingestión, inhalación o por contacto con la piel. Su absorción se facilita cuando se encuentra disuelto en la grasa animal o vegetal.

Una vez absorbido el aldrín pasa a la sangre y es distribuido por todo el organismo estableciéndose un equilibrio de concentración entre los elementos grasos y protéicos constitutivos de la sangre y otros tejidos ricos en grasas, especialmente el tejido adiposo. También se pueden encontrar diferentes concentraciones en el hígado, riñones y en otros órganos.

En el cerebro, el nivel de este plaguicida relacionado con la estimulación del sistema nervioso central puede ser alcanzada por una dosis aguda única o por dosis repetidas más pequeñas.

El aldrín se metaboliza lentamente en el hígado, en donde sufre un proceso de degradación o transformación metabólica catalizado por enzimas de la fracción microsomal del retículo endoplásmico hepático. Se ha identificado en sangre humana o,p-DDE como un producto de biotransformación de este plaguicida.

Así, la eliminación del aldrín se realiza lentamente a través de las heces y la orina ya sea inalterado o transformado (17).

b. Mecanismo de acción.

El mecanismo de la acción tóxica del aldrín no está

bien aclarado pero al parecer se debe a que interfiere en la transmisión del impulso nervioso en el axón de las células del ganglio nervioso, probablemente por la formación de un complejo transportador con la membrana presináptica (18).

c. Efecto tóxico a largo plazo.

Los efectos crónicos son usualmente producidos por la exposición prolongada del aldrin a niveles de baja concentración y quizás no aparezcan como toxicidad aguda, pero, en cambio podrían aparecer como dificultades reproductivas, desordenes nerviosos, daños en algún órgano, carcinogenicidad, mutagenicidad y teratogenicidad.

Como resultado de pruebas en animales se ha demostrado su efecto carcinogénico por el incremento de tumores en el hígado de ratones expuestos a dosis elevadas (19).

Como en este capítulo se refirió únicamente al aldrin, el anexo 2 muestra una relación de otros plaguicidas organoclorados.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cuando se desarrollo el aldrin, se pensó que sería uno de los compuestos ideales para el control de plagas así como un medio para aumentar la disponibilidad de alimentos a corto plazo. Sin embargo, su efecto tóxico no fue considerado y paralelamente a este problema se presenta su persistencia debido a su alta estabilidad química lo que trae como consecuencia su acumulación en el medio ambiente, muchas veces con un efecto drástico en las cadenas alimenticias o bien destruyendo algunas especies de insectos útiles como las abejas, así como algunos peces y aves. Por lo anterior, diversas organizaciones a nivel mundial como la Association of Oficial Analytical Chemists (AOAC), la Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), han tomado medidas severas al grado de prohibir su uso total de este insecticida; sin embargo, en la actualidad estudios realizados en algunos alimentos principalmente en vegetales se han detectado trazas de este insecticida dado que aun en la actualidad se encuentra presente en la atmósfera contaminando de esta forma a la fuente alimenticia del ser humano.

Para el control del Aldrin, la Association of Oficial Analytical Chemists (AOAC) ha editado métodos por Cromatografía de Bases con Detector de Captura de Electrones que permite su

cuantificación a niveles inferiores del valor máximo permitido por el Codex Alimentarius, debido a que este detector es altamente selectivo para todos los compuestos electronegativos. Sin embargo, el proceso de extracción indicado para cada tipo de alimento es totalmente diferente, lo cual hace que para un laboratorio de control de calidad el costo y tiempo de análisis sea sumamente elevado.

Por lo anterior, en el presente trabajo se vio la necesidad de desarrollar un método generalizado desde su extracción hasta su cuantificación del aldrin en tres tipos diferentes de alimentos (cebolla deshidratada, harina y carne) por Cromatografía de Gases con Detector de Captura de Electrones apoyado además en la evaluación estadística que incluye una validación de métodos analíticos para tener una alta confiabilidad en el futuro.

IV. OBJETIVOS

A. *Objetivo General.*

Desarrollar y validar un método de análisis para cuantificar residuos de pesticidas organoclorados en diferentes alimentos.

B. *Objetivos Específicos.*

1. Desarrollar un método por cromatografía de gases para cuantificar Aldrin, empleando detector de captura de electrones con fuente radiactiva de níquel 63
2. Validar el método obtenido en base a los parámetros de precisión, exactitud, linealidad, especificidad y límite de detección.

V. HIPOTESIS

Al contener el Aldrin en su estructura química grupos electronegativos como el cloro, entonces podrá ser cuantificado a nivel de trazas por cromatografía de gases empleando detector de captura de electrones con fuente radiactiva de Níquel 63.

VI. MATERIAL Y METODO

A. Material.

1. Matraces volumétricos de 100 ml.
2. Pipetas volumétricas de 10 ml.
3. Pipetas volumétricas de 5 ml.
4. Vasos de precipitados de 100 ml.
5. Columna de elución de 25 cm.
6. Probetas de 25 ml.
7. Matraces erlenmeyer con tapón de rosca de 125 ml.
8. Microjeringa de 10 μ l.

B. Equipo.

1. Balanza analítica de precisión Mettler AM 50
2. Cromatógrafo de gases Perkin Elmer modelo sigma 300, equipado con detector de captura de electrones con fuente radiactiva de níquel 63.
3. Registrador Perkin Elmer modelo R100
4. Columna de vidrio de 3 m empacada con metil silicona (SE-30) al 4% con metil silicona líquida (OV-101) al 6% sobre Chromosorb W lavada con hexametil dicloro silano (HMDS) malla 80/100.

C. Reactivos.

1. Benceno grado analítico Merck
2. Pentano grado analítico Merck
3. Fluorocil activado y pasivado Alltec Laboratories.
4. Aldrín (estándar primario) pureza 99.9 % , lote 30900-2
Alltec Laboratories.
5. Nitrógeno grado cromatográfico INFRA.

D. Desarrollo del método.

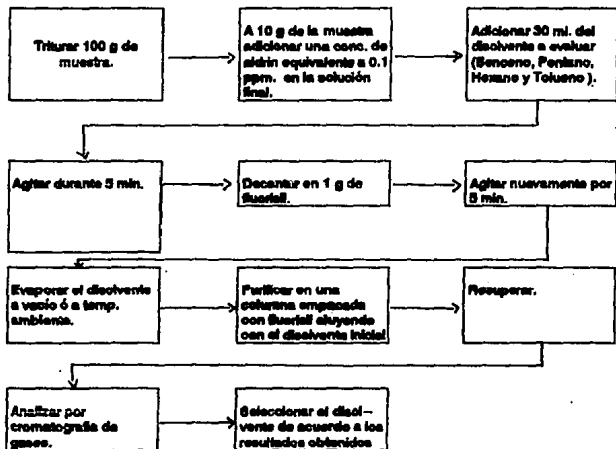
Ver esquema No. 1

E. Validación del método analítico seleccionado.

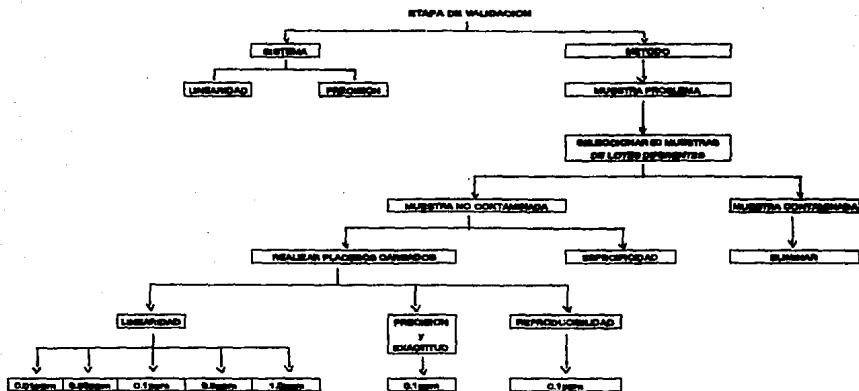
En el esquema No. 2 se muestra en forma general el seguimiento realizado durante la validación del método analítico.

ESQUEMA N.º 1 DESARROLLO DEL METODO

SELECCION DEL DISOLVENTE



ESQUEMA No 2 VALIDACION DEL METODO ANALITICO



1. Preparación de estándares.

a. Solución stock de referencia. (100 ppm)

Pesar 10 mg de Aldrin en un matraz volumétrico de 100 ml disolver y aforar con benceno.

b. Solución de dilución 1 (10 ppm).

Pipetear 10 ml de la solución stock a un matraz de 100 ml., disolver y aforar con benceno.

c. Solución de dilución 2 (1 ppm).

Pipetear 10 ml de la solución de dilución 1 a un matraz de 100 ml. y aforar con benceno.

d. Solución de dilución 3 (0.5 ppm).

Pipetear 5 ml de la solución de dilución 1 a un matraz de 100 ml. y aforar con benceno.

e. Solución de dilución 4 (0.1 ppm).

Pipetear 10 ml de la solución de dilución 2 a un matraz de 100 ml y aforar con benceno.

f. Solución de dilución 5 (0.05 ppm).

Pipetear 10 ml de la solución de dilución 3 a un matraz de 100 ml y aforar con benceno.

2. Preparación de la muestra.

a. Tratamiento previo:

Para muestras derivadas de carnes y vegetales en su forma natural triturar aproximadamente 100g de muestra; en el caso de harinas y/o vegetales deshidratados mezclar adecuadamente 100g del

producto a analizar.

b. Método general para extraer el Aldrin en las muestras de cebolla deshidratada, harina de trigo y carne de pollo.

- 1) Pesar aproximadamente con exactitud 10 g del alimento a analizar previamente molido, en un matraz erlenmeyer con tapón de rosca
- 2) Adicionar 15 ml. de benceno y 10 ml de pentano y agitar durante 5 min.
- 3) Decantar o filtrar en un vaso de precipitado que contenga 1 g. de fluorisil.
- 4) Agitar nuevamente durante 5 min. y evaporar los disolventes con vacío a temperatura ambiente.
- 5) Empacar una columna de elución con 5 g. de fluorisil.
- 6) Colocar el fluorisil completamente seco en la parte superior de la columna preparada.
- 7) Eluir con benceno hasta recuperar 15 ml.
- 8) Concentrar a 10 ml.

c. Especificidad.

Con las muestras previamente seleccionadas y libre de contaminación por aldrin proceder a realizar su extracción de acuerdo al método general.

3. Condiciones cromatográficas:

Gas acarreador: Nitrógeno.

Flujos: 40 ml/min.

Columna: SE-30 al 4% con OV-101 al 6% sobre Chrom
WHP 100-120.

Temperatura del horno: 220°C.

Temperatura de inyector y detector: 250°C.

4. Estabilizar la columna durante 30 min.
5. Inyectar 3 μ l de la soluciones de referencia correspondientes a 1, 0.5, 0.1, 0.05 hasta que haya repetibilidad y finalmente proceder a inyectar 3 μ l del extracto de la muestra.
6. Calcular el área del pico del Aldrin midiendo la altura, amplitud y atenuación, posteriormente cuantificar la concentración de Aldrin por el método de estandarización externa.

VII RESULTADOS

A continuación se anexán las tablas de resultados correspondientes a la validación del método analítico para cada alimento así como también cromatogramas obtenidos durante este trabajo.

TABLA No. 1
LINEARIDAD DEL SISTEMA

DATOS	CONC. (ppm.)	AREA
1.	0.01	0.5175
2.	0.01	0.5100
3.	0.01	0.5100
4.	0.01	0.5175
5.	0.05	2.5500
6.	0.05	2.5500
7.	0.05	2.5550
8.	0.05	2.5425
9.	0.10	5.1000
10.	0.10	5.1300
11.	0.10	5.1300
12.	0.10	5.0700
13.	0.50	25.5800
14.	0.50	25.4400
15.	0.50	25.6800
16.	0.50	25.5800
17.	1.00	50.6400
18.	1.00	51.1200
19.	1.00	50.6800
20.	1.00	51.3800
Pendiente (m)		51.0028
Ordenada al origen (a)		0.01154
Coef. de correlación (r)		0.99998
Coef. de determinación (r ²)		0.99998

CONCLUSIONES:

Como $r > 0.99$ y $r^2 > 0.98$, el sistema se comporta lineal.

LINEARIDAD DEL SISTEMA PARA CUANTIFICAR ALDRIN

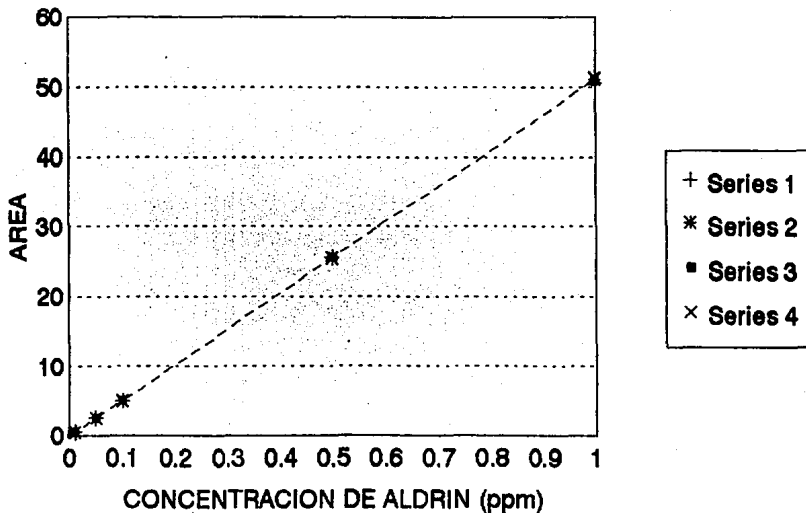


TABLA No. 2
PRECISION DEL SISTEMA

DATOS	AREA
1.	5.10
2.	5.13
3.	5.13
4.	5.07
5.	5.07
6.	5.10
7.	5.13
8.	5.13
Coef. de variación (c.v.)	0.487

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H_0): $\sigma = 2\%$
 Alternativa (H_a): $\sigma \neq 2\%$

Estadístico de contraste:

$X^2_{\text{cálculo}}$: 0.8286
 $X^2_{\text{teórica}}$: 16.013

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-16.013 < 0.8286 < 16.013$

No existe diferencia significativa entre el parámetro $X^2_{\text{teórica}}$ y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a .

CONCLUSION:

Como el c.v. $< 1.5\%$ y se acepta la hipótesis nula, el sistema se considera preciso

TABLA No 3
LINEARIDAD DEL METODO
EN CEBOLLA

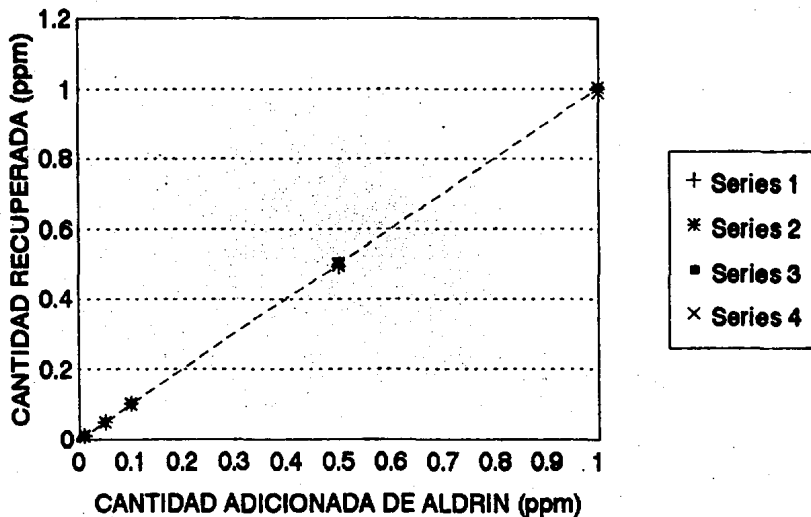
DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	CANTIDAD RECUPERADA (ppm.)
1.	0.0100	0.0103
2.	0.0100	0.0097
3.	0.0100	0.0098
4.	0.0100	0.0104
5.	0.0500	0.0494
6.	0.0500	0.0502
7.	0.0500	0.0496
8.	0.0500	0.0494
9.	0.1000	0.1009
10.	0.1000	0.0992
11.	0.1000	0.1003
12.	0.1000	0.1003
13.	0.5000	0.4953
14.	0.5000	0.5023
15.	0.5000	0.5093
16.	0.5000	0.4976
17.	1.0000	0.9999
18.	1.0000	1.0046
19.	1.0000	1.0046
20.	1.0000	0.9905
Pendiente (m)		1.00023
Ordenada al origen (a)		0.00011
Coef. de correlación (r)		0.99996
Coef. de determinación (r ²)		0.99991

CONCLUSIONES :

Como $m \approx 1$, $a \approx 0$, $r > 0.99$ y $r^2 > 0.98$, el método se comporta lineal

LINEARIDAD DEL METODO

PARA CUANTIFICAR ALDRIN EN CEBOLLA



CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA AL ORIGEN

Hipótesis:

Nula (H_0): $a = 0$
Alternativa (H_a): $a \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : 0.0995
 t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < 0.0995 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(-0.00224 --- 0.0025)

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Hipótesis:

Nula (H_0): $m = 0$

Alternativa (H_a): $m \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : 0.0377

t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < 0.0377 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(0.957 --- 1.013)

TABLA No 4
PRECISION DEL METODO
EN CEBOLLA
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	100.9297
2.	99.1693
3.	100.3429
4.	100.3429
5.	99.1693
6.	100.9297
7.	99.7561
8.	99.5825
Coef. de variación (c.v.)	0.8176

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H_0): $\sigma = 2 \%$

Alternativa (H_a): $\sigma \neq 2 \%$

Estadístico de contraste:

X^2 cálculo: 2.3350

X^2 teórica*: 16.013

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

- 16.013 < 2.3350 < 16.013

No existe diferencia significativa entre el parámetro X^2 teórica y el X^2 calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a .

CONCLUSION:

Como el c.v. < 2 % y se acepta la Hipótesis nula, el método se considera preciso

TABLA No 5
EXACTITUD DEL METODO
EN CEBOLLA
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	100.9297
2.	99.1693
3.	100.3429
4.	100.3429
5.	99.1693
6.	100.9297
7.	99.7561
8.	98.5825
Coef. de variación (c.v.)	0.8175

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H_0): $\mu = 100\%$

Alternativa (H_a): $\mu \neq 100\%$

Estadístico de contraste:

t_c cálculo : -0.3367

t_c teórica *: 2.3646

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-2.3646 < -0.3367 < 2.3646$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_c teórico y el t_c calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a .

INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 %

(99.22 --- 100.59)

CONCLUSION:

Como el c.v. < 2 % , y el intervalo de confianza incluye el 100 % , el método es exacto.

TABLA No 6
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO
EN CEBOLLA

DIA	ANALISTA	
	1	2
1	100.93 99.17 100.34	99.17 100.93 99.76
2	98.00 99.76 99.17	99.76 100.34 98.00

TABLA No 7
ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	F cálculo	F teórica
ANALISTA	0.0226	18.51
DIA	1.3204	4.46

CONCLUSIONES:

El método analítico es reproducible por los analistas así como también, en distintos días por un mismo analista.

TABLA No 8

LIMITE DE DETECCION DEL METODO
EN CEBOLLA

DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	AREA	AREA AJUSTADA (-1.99 Sy/h)
1.	0.01	0.5250	0.1832
2.	0.01	0.4950	0.1532
3.	0.01	0.5025	0.1607
4.	0.01	0.5325	0.1907
5.	0.05	2.5275	2.1857
6.	0.05	2.5650	2.2232
7.	0.05	2.5350	2.1932
8.	0.05	2.5275	2.1857
9.	0.10	5.1600	4.8182
10.	0.10	5.0700	4.7282
11.	0.10	5.1300	4.7882
12.	0.10	5.1300	4.7882
13.	0.50	25.3200	24.9782
14.	0.50	25.6800	25.3382
15.	0.50	26.0400	25.6982
16.	0.50	25.4400	25.0982
17.	1.00	51.1200	50.7782
18.	1.00	51.1200	50.7782
19.	1.00	51.3600	51.0182
20.	1.00	50.6400	50.2982
Limite de detección			0.0009 ppm.

DETERMINACION DEL LIMITE DE DETECCION PARA LA CUANTIFICACION DE ALDRIN EN CEBOLLA

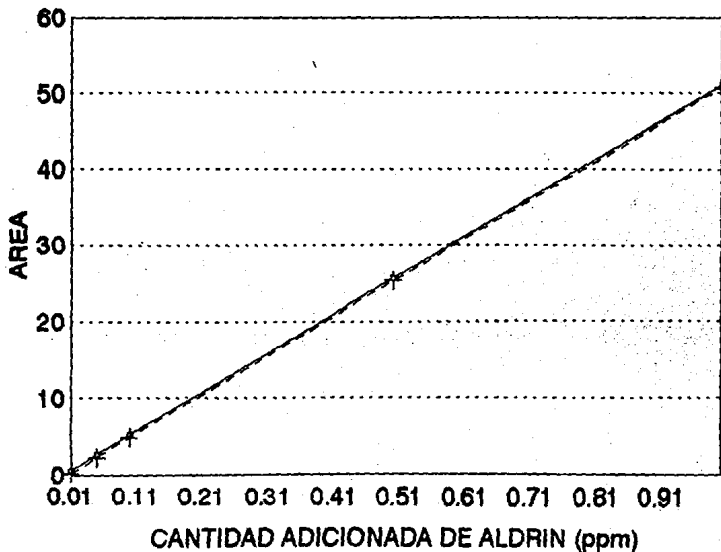


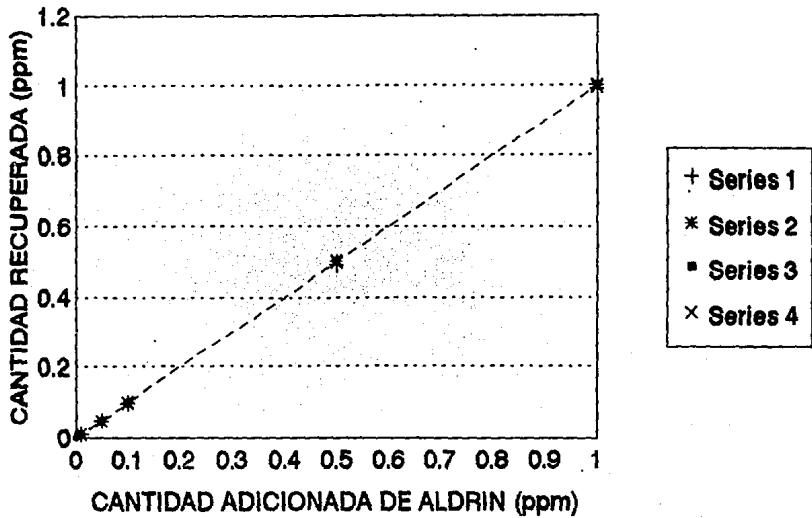
TABLA No 9
LINEARIDAD DEL METODO
EN HARINA

DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	CANTIDAD RECUPERADA (ppm.)
1.	0.0100	0.1070
2.	0.0100	0.0101
3.	0.0100	0.0101
4.	0.0100	0.0104
5.	0.0500	0.0499
6.	0.0500	0.0497
7.	0.0500	0.0493
8.	0.0500	0.0497
9.	0.1000	0.0998
10.	0.1000	0.1015
11.	0.1000	0.0998
12.	0.1000	0.1009
13.	0.5000	0.4906
14.	0.5000	0.5023
15.	0.5000	0.5000
16.	0.5000	0.4976
17.	1.0000	0.9905
18.	1.0000	0.9999
19.	1.0000	0.9999
20.	1.0000	0.9952
Pendiente (m)		0.99586
Ordenada al origen (a)		0.00027
Coef. de correlación (r)		0.99997
Coef. de determinación (r ²)		0.99995

CONCLUSIONES :

Como $m \approx 1$, $a \approx 0$, $r > 0.99$ y $r^2 > 0.98$, el método se comporta lineal

LINEARIDAD DEL METODO PARA CUANTIFICAR ALDRIN EN HARINA



CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA AL ORIGEN

Hipótesis:

Nula (H_0): $a = 0$
Alternativa (H_a): $a \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : 0.3199
 t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < 0.3199 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cuál se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(-0.0015 --- 0.0020)

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Hipótesis:

Nula (H_0): $m = 0$
Alternativa (H_a): $m \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : -0.9056
 t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < -0.9056 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cuál se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(0.9663 --- 1.0055)

TABLA No 10
PRECISION DEL METODO
EN HARINA
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	99.7561
2.	101.5165
3.	99.7561
4.	100.9297
5.	99.1693
6.	99.7561
7.	98.5625
8.	97.9057
Coef. de variación (c.v.)	1.0789

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H₀): $\sigma = 2\%$

Alternativa (H_a): $\sigma \neq 2\%$

Estadístico de contraste:

$\chi^2_{\text{cálculo}}$: 4.0486

$\chi^2_{\text{teórica}}$: 16.013

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-16.013 < 4.0486 < 16.013$

No existe diferencia significativa entre el parámetro $\chi^2_{\text{teórico}}$ y el $\chi^2_{\text{calculado}}$ experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H₀ y se rechaza H_a.

CONCLUSION:

Como el c.v. $< 2\%$ y se acepta la Hipótesis nula, el método se considera preciso

TABLA No 11
EXACTITUD DEL METODO
EN HARINA
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	99.7561
2.	101.5165
3.	99.7561
4.	100.9297
5.	99.1693
6.	99.7561
7.	98.5825
8.	97.9857
Coef. de variación (c.v.)	1.0789

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H_0): $\mu = 100\%$

Alternativa (H_a): $\mu \neq 100\%$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : -0.8344

t_0 teórica *: 2.3646

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-2.3646 < -0.8344 < 2.3646$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el t_0 calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a .

INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 %

(98.78 --- 100.58)

CONCLUSION:

Como el c.v. $< 2\%$, y el intervalo de confianza incluye el 100 %, el método es exacto.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA No 12
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO
EN HARINA

DIA	ANALISTA	
	1	2
1	99.76	99.17
	101.52	99.76
	100.93	98.58
2	99.17	100.34
	98.58	98.00
	99.17	98.58

TABLA No 13
ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	F cálculo	F teórica
ANALISTA	0.7797	18.51
DIA	3.4323	4.46

CONCLUSIONES:

El método analítico es reproducible por los analistas así como también, en distintos días por un mismo analista.

TABLA No 14
LIMITE DE DETECCION DEL METODO
EN HARINA

DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	AREA	AREA AJUSTADA (-1.98 Sv/x)
1.	0.01	0.5475	0.2057
2.	0.01	0.5175	0.1757
3.	0.01	0.5175	0.1757
4.	0.01	0.5325	0.1907
5.	0.05	2.5500	2.2082
6.	0.05	2.5425	2.2007
7.	0.05	2.5200	2.1782
8.	0.05	2.5425	2.2007
9.	0.10	5.1000	4.7582
10.	0.10	5.1900	4.8482
11.	0.10	5.1000	4.7582
12.	0.10	5.1600	4.8182
13.	0.50	25.0800	24.7382
14.	0.50	25.6800	25.3382
15.	0.50	25.5600	25.2182
16.	0.50	25.4400	25.0982
17.	1.00	50.4000	50.0582
18.	1.00	50.6400	50.2982
19.	1.00	51.1200	50.7782
20.	1.00	50.8800	50.5382
Limite de detección			0.0005 ppm.

DETERMINACION DEL LIMITE DE DETECCION PARA LA CUANTIFICACION DE ALDRIN EN HARINA

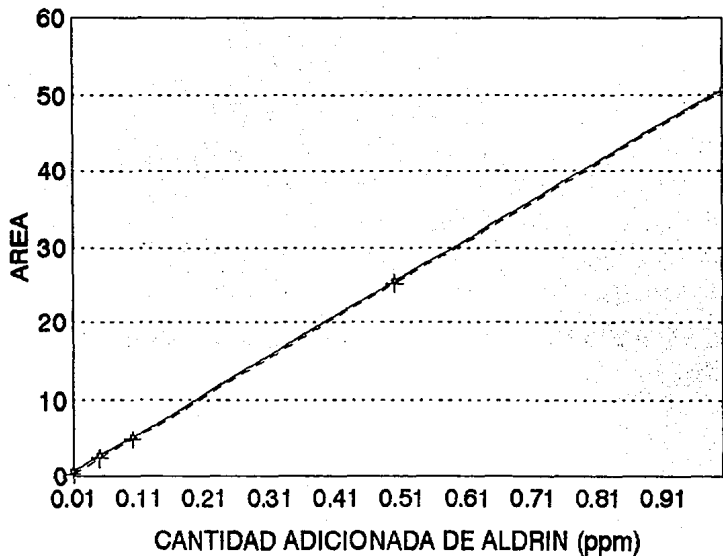


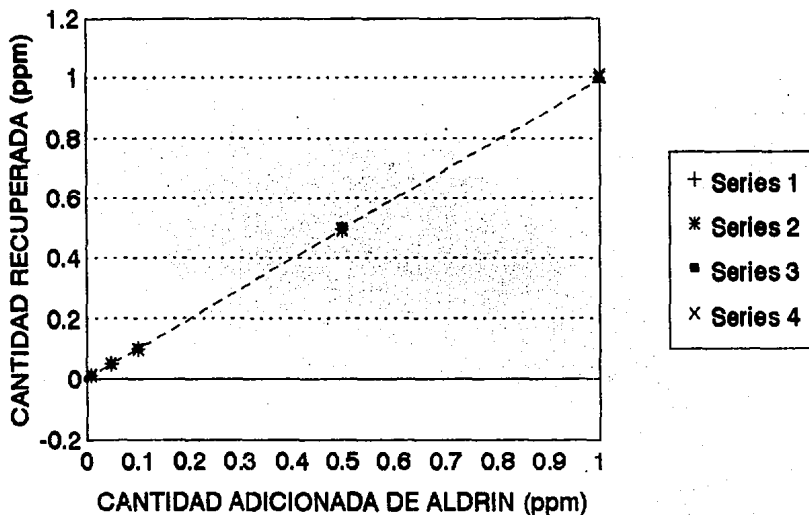
TABLA No 15
LINEARIDAD DEL METODO
EN CARNE

DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	CANTIDAD RECUPERADA (ppm.)
1.	0.0100	0.0103
2.	0.0100	0.0103
3.	0.0100	0.0106
4.	0.0100	0.0101
5.	0.0500	0.0491
6.	0.0500	0.0496
7.	0.0500	0.0493
8.	0.0500	0.0494
9.	0.1000	0.0992
10.	0.1000	0.0980
11.	0.1000	0.1003
12.	0.1000	0.0998
13.	0.5000	0.4953
14.	0.5000	0.4929
15.	0.5000	0.5023
16.	0.5000	0.4976
17.	1.0000	0.9858
18.	1.0000	0.9999
19.	1.0000	0.9999
20.	1.0000	1.0093
Pendiente (m)		0.99844
Ordenada al origen (a)		-0.00054
Coef. de correlación (r)		0.99994
Coef. de determinación (r ²)		0.99988

CONCLUSIONES :

Como $m \approx .1$, $a \approx 0$, $r > 0.99$ y $r^2 > 0.98$, el método se comporta lineal

LINEARIDAD DEL METODO PARA CUANTIFICAR ALDRIN EN CARNE



CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA ORDENADA AL ORIGEN

Hipótesis:

Nula (H_0): $a = 0$
Alternativa (H_a): $a \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : -0.4082
 t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < -0.4082 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(-0.00329 --- 0.0022)

CONTRASTE DE HIPOTESIS PARA LA PENDIENTE

Hipótesis:

Nula (H_0): $m = 0$
Alternativa (H_a): $m \neq 0$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : -0.2191
 t_0 teórica * : 2.1009

* con $\alpha = 0.05$ y 18 grados de libertad

Como:

$-2.1009 < -0.2191 < 2.1009$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cuál se acepta H_0 y se rechaza H_a

Intervalo de confianza al 95 %

(0.9835 --- 1.0134)

TABLA No 16

PRECISION DEL METODO
EN CARNE
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	99.1693
2.	97.9857
3.	100.3429
4.	99.7561
5.	99.1693
6.	100.9297
7.	102.1033
8.	100.9297
Coef. de variación (c.v.)	1.2091

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H₀): $\sigma = 2\%$
 Alternativa (H_a): $\sigma \neq 2\%$

Estadístico de contraste:

$\chi^2_{\text{cálculo}}$: 5.1220
 $\chi^2_{\text{teórica}}$: 16.013

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-16.013 < 5.1220 < 16.013$

No existe diferencia significativa entre el parámetro $\chi^2_{\text{teórica}}$ y el $\chi^2_{\text{cálculo}}$ experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cual se acepta H₀ y se rechaza H_a.

CONCLUSION:

Como el c.v. $< 2\%$ y se acepta la Hipótesis nula, el método se considera preciso

TABLA No 17
EXACTITUD DEL METODO
EN CARNE
(CONC. 0.1 ppm.)

DATOS	% RECOBRO
1.	99.1669
2.	97.9957
3.	100.3429
4.	99.7581
5.	99.1669
6.	100.9297
7.	102.1033
8.	100.9297
Coef. de variación (c.v.)	1.2091

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Hipótesis:

Nula (H_0): $\mu = 100 \%$

Alternativa (H_a): $\mu \neq 100 \%$

Estadístico de contraste:

t_0 cálculo : 0.1156

t_0 teórica *: 2.3646

* con $\alpha = 0.05$ y 7 grados de libertad.

Como:

$-2.3646 < 0.1156 < 2.3646$

No existe diferencia significativa entre el parámetro t_0 teórico y el t_0 calculado experimentalmente a un $\alpha = 0.05$, por lo cuál se acepta H_0 y se rechaza H_a .

INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 %

(99.04 --- 101.06)

CONCLUSION:

Como el c.v. $< 2\%$, y el intervalo de confianza incluye el 100 %, el método es exacto.

TABLA No 18
REPRODUCIBILIDAD DEL METODO
EN CARNE

DIA	ANALISTA	
	1	2
1	99.17	99.17
	98.00	100.99
	100.34	102.10
2	99.17	100.34
	99.76	99.17
	99.76	97.41

TABLA No 19
ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	F cálculo	F teórica
ANALISTA	0.2913	18.51
DIA	1.6720	4.48

CONCLUSIONES:

El método analítico es reproducible por los analistas así como también, en distintos días por un mismo analista.

TABLA No 20
LIMITE DE DETECCION DEL METODO
EN CARNE

DATOS	CANTIDAD ADICIONADA (ppm.)	AREA	AREA AJUSTADA (-1.96 Sy/x)
1.	0.01	0.5250	0.1832
2.	0.01	0.5250	0.1832
3.	0.01	0.5400	0.1982
4.	0.01	0.5175	0.1757
5.	0.05	2.5125	2.1707
6.	0.05	2.5350	2.1932
7.	0.05	2.5200	2.1782
8.	0.05	2.5275	2.1857
9.	0.10	5.0700	4.7282
10.	0.10	5.0100	4.6682
11.	0.10	5.1300	4.7882
12.	0.10	5.1000	4.7582
13.	0.50	25.3200	24.9782
14.	0.50	25.2000	24.8582
15.	0.50	25.6800	25.3382
16.	0.50	25.4400	25.0982
17.	1.00	49.9200	49.5782
18.	1.00	50.4000	50.0582
19.	1.00	51.1200	50.7782
20.	1.00	51.6000	51.2582
Limite de detección			0.0011 ppm.

DETERMINACION DEL LIMITE DE DETECCION PARA LA CUANTIFICACION DE ALDRIN EN CARNE

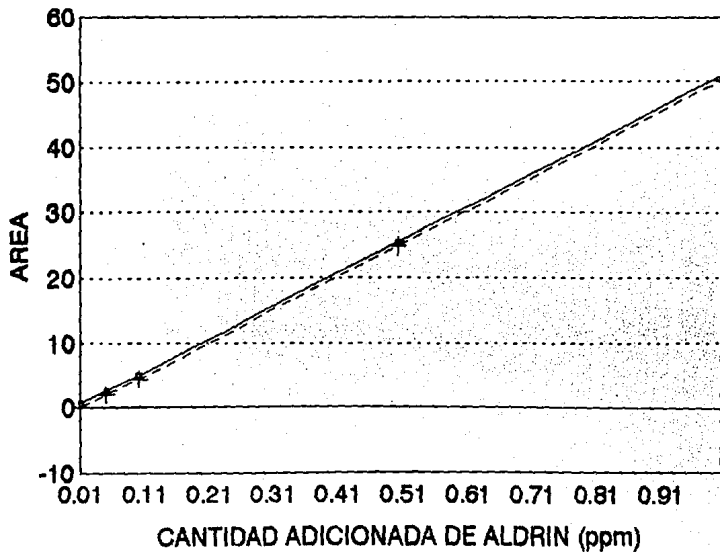
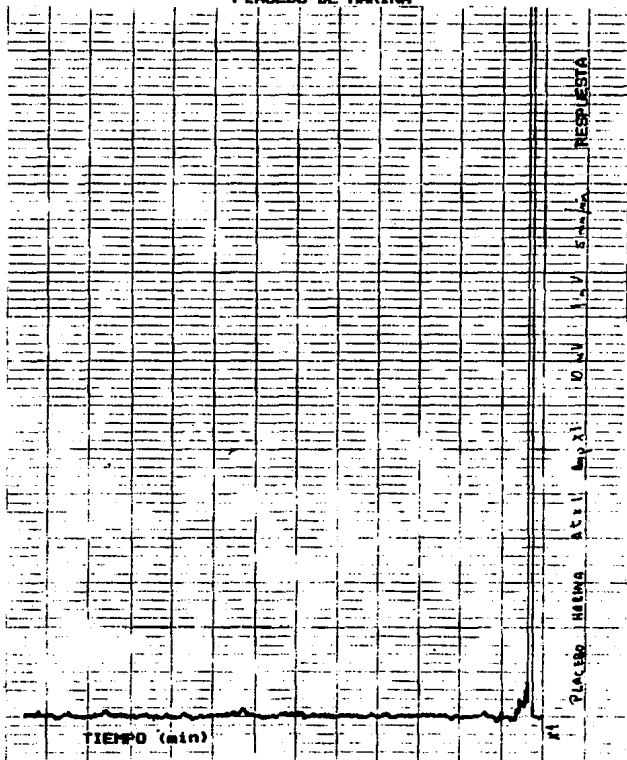


TABLA No 21
RESULTADOS COMPARATIVOS

PARAMETRO	VALIDACIÓN DEL SISTEMA	VALIDACIÓN DEL MÉTODO EN		
		CEBOLLA	HARINA	CARNE
LINEARIDAD				
Pendiente	-----	1.0023	0.9959	0.9984
Ordenada al origen	-----	0.0001	0.0008	-0.0005
Coef. de determinación	0.99996	0.99991	0.99995	0.99988
PRECISION				
Coef. de variación	0.50	0.8	1.1	1.2
Contraste de hipótesis	Correcto	Correcto	Correcto	Correcto
EXACTITUD				
Coef. de variación	-----	0.8	1.1	1.2
Contraste de hipótesis	-----	Correcto	Correcto	Correcto
Intervalo de confianza	-----	(99.2 - 100.6)	(98.8 - 100.6)	(98.0 - 101.1)
REPRODUCIBILIDAD				
Análisis de varianza				
Día	-----	Correcto	Correcto	Correcto
Analista	-----	Correcto	Correcto	Correcto
LIMITE DE DETECCIÓN	-----	0.0009 ppm.	0.0005 ppm.	0.0011 ppm.
ESPECIFICIDAD	-----	Correcto	Correcto	Correcto

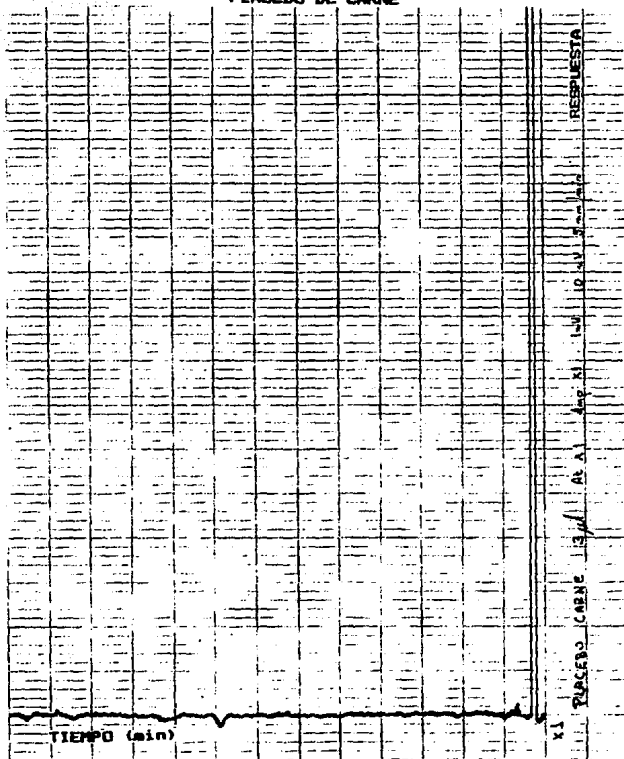
CROMATOGRAMA No 1

PLACEBO DE HARINA



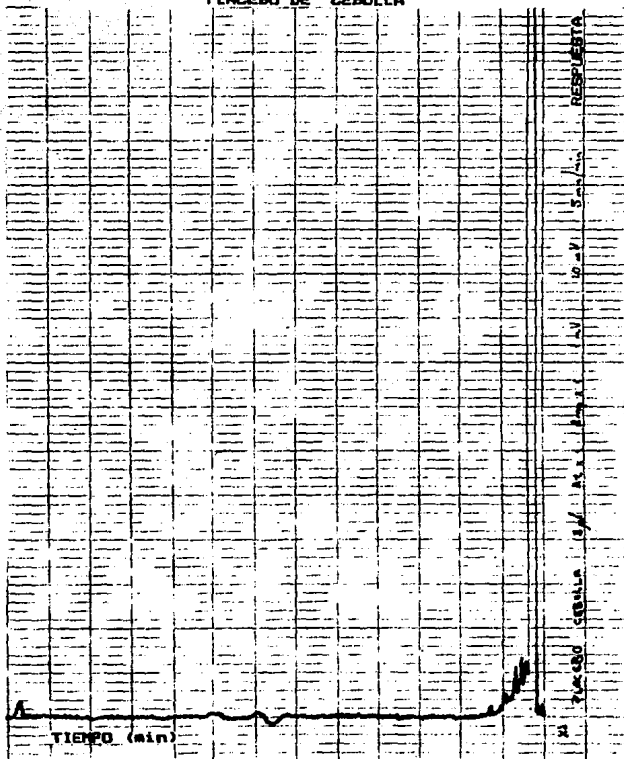
CROMATOGRAMA No 2

PLACEBO DE CARNE



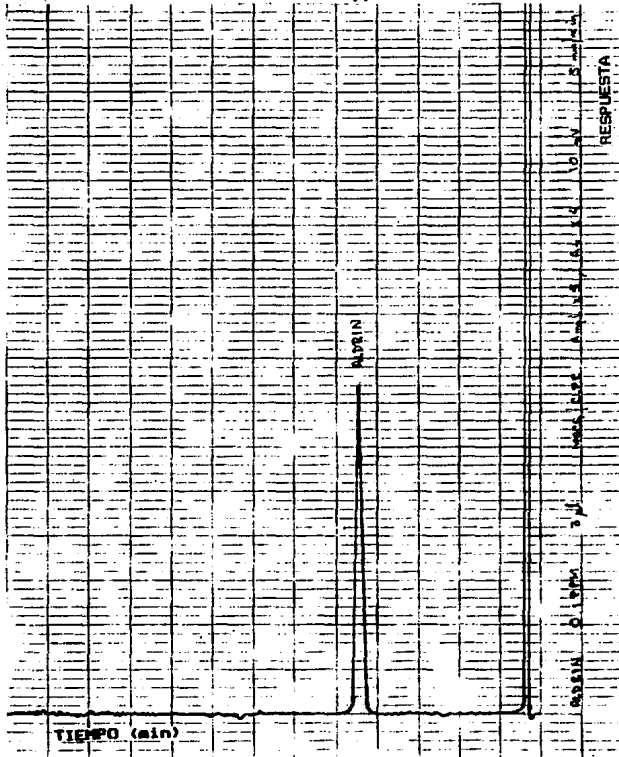
CROMATOGRAMA No 3

PLACEBO DE CEBOLLA

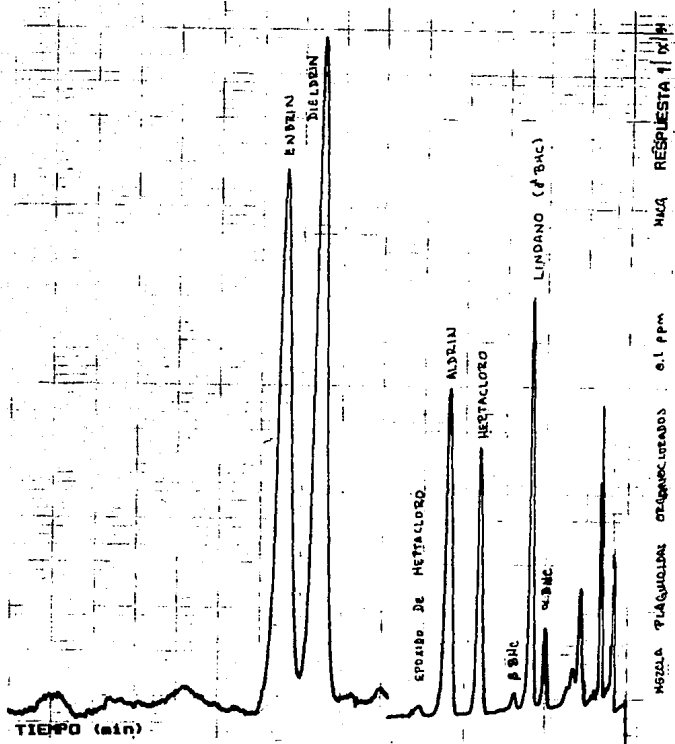


CROMATOGRAMA No 4

ALDRIN 0.1 ppm.



CROMATOGRAMA No 5
PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS



VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

La detección y cuantificación de plaguicidas en alimentos en concentraciones inferiores a 0.1 ppm. es de vital importancia, fundamentalmente por los efectos tóxicos que producen. En este trabajo se desarrolló un método analítico via cromatografía de gases.

Normalmente para cada alimento se desarrolla o adecua un método específico que permita cuantificar la sustancia de interés, sin embargo en nuestro caso se desarrolló un método generalizado que nos permite cuantificar con una alta confiabilidad al plaguicida aldrin en diferentes alimentos a concentraciones inferiores de 0.1 ppm.

Inicialmente una de las mayores dificultades fue el conocer en que tipo de alimento se realizaría es decir, si era fresco, enlatado, deshidratado o en cualquier otra forma de conservación, sin embargo se optó por realizarlo en cebolla deshidratada, harina de trigo y en carne de pollo dado que son productos de mayor comercialización y/o exportación.

Una vez definidos los productos se realizó la búsqueda de información para la extracción del aldrin en estos alimentos, encontrando que en la mayoría de los métodos preestablecidos se

realiza una purificación con fluorisil sin embargo, los disolventes empleados son totalmente diferentes y en algunos casos la extracción muy compleja. Por lo anterior se vió la necesidad de encontrar al solvente más adecuado que nos permitiera obtener una extracción del plaguicida en su totalidad además de que sea factible trabajar con él en los diferentes alimentos sin interferencia de otras sustancias que están presentes en el producto (principalmente los ácidos grasos).

Al evaluar diferentes solventes (Benceno, Pentano, Hexano, Tolueno y Benceno-Pentano), se observó que una vez molida la muestra contaminada, el aldrín es extraído fácilmente con una mezcla de benceno-pentano en cualquiera de los tres casos debido a su afinidad en dicho solvente. Así mismo, se observó que trabajar con fluorisil presenta amplias características de purificación que nos permitió aislar completamente a dicho plaguicida de las demás sustancias lipofílicas presentes en la muestra sin depender cual fuera el origen de esta y que no fue factible el obtener este resultado al evaluar los otros disolventes.

Teniendo la etapa de desarrollo se llevó a cabo la validación del método analítico para cada alimento obteniendo los resultados que se muestran en la tabla No 21, de la cual podemos destacar los siguientes aspectos:

- ** El sistema cumple con los parámetros de linealidad y precisión.
- ** El método analítico en cada alimento cumple con los

parámetros de linealidad, precisión, exactitud, reproducibilidad, límite de detección, y especificidad.

** No existe una diferencia significativa en los parámetros evaluados para cada alimento.

Por lo anterior, podemos considerar que el proceso de extracción seleccionado resultó ser el más adecuado.

Respecto el obtener un límite de detección inferior a 0.001 ppm se constata que el detector de captura de electrones en realidad es altamente selectivo y específico para aquellos compuestos electronegativos como lo es el aldrín, aunque cabe mencionar que para lograr lo anterior el flujo del gas acarreador es de suma importancia dado que ligeras variaciones en el mismo puede ocasionar que el límite de detección sea superior a 1 ppm.

Para evaluar la especificidad del método, se seleccionó una muestra de cada alimento libre de contaminación por aldrín, obteniéndose como resultado que las sustancias lipofílicas de estos no ocasionan interferencias en la determinación del mismo (ver cromatograma No 1,2,3).

Aunado a lo anterior, al evaluar el aldrín junto con otros plaguicidas organoclorados más comunes tales como: Hexaclorociclohexano (BHC), Heptacloro, Dieldrín, Endrín y el 1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano (DDT) se encontró que no existe interferencia en su cuantificación, dado que la resolución es mayor de 1.5 y ello debido a las diferencias en sus coeficientes de partición en relación a la fase estacionaria

además del efecto de la temperatura (ver cromatograma 5).

IX. CONCLUSIONES

La cromatografía de gases es una excelente técnica de separación y cuantificación para diversos compuestos dependiendo del tipo de detector seleccionado, así la alta especificidad del detector de captura de electrones para compuestos electronegativos nos permitió cuantificar al plaguicida aldrin en concentraciones inferiores a 0.1 ppm con una alta confiabilidad, pero cabe señalar que las condiciones establecidas del gas acarreador, la fase estacionaria y la temperatura juegan un papel importante en el éxito de la técnica.

La validación constituye una herramienta útil para ofrecer una confiabilidad del método establecido, considerando que cumple con los parámetros obtenidos de linealidad, precisión, exactitud y reproducibilidad para los límites establecidos.

En cuanto al método desarrollado no interfieren la forma de conservación ni de sustancias presentes utilizadas durante el proceso para los alimentos que se trabajaron (cebolla deshidratada, carne de pollo y harina de trigo).

Habiendo obtenido resultados satisfactorios durante el desarrollo y la validación del método, los objetivos planteados al inicio de esta investigación así como la hipótesis se cumplen en su totalidad por lo que esta metodología puede ser empleada para

el análisis de aldrin en diferentes alimentos con resultados bastante confiables.

X. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES

Cabe señalar que este método además de poder cuantificar aldrín a nivel de trazas permite analizar otros plaguicidas de su mismo grupo ya que también presentan una respuesta altamente sensible al detector de captura de electrones por contener grupos electronegativos tales como son: Hexaclorociclohexano (BHC) heptacloro, dieldrin, endrín, 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4 clorofenil)etano (DDT) y metoxicloro en bajas concentraciones que permite detectar si el alimento cumple con las especificaciones establecidas por el Codex Alimentarius, sin embargo se recomienda realizar la validación del método para cada plaguicida.

XI ANEXO 1

FORMULARIO

1. Linearidad del Sistema y Método:

Pendientes:

$$M = \frac{\sum X_i Y_i - n \bar{X} \bar{Y}}{\sum X_i^2 - n \bar{X}^2}$$

Ordenada al origen:

$$A = \bar{Y} - M \bar{X}$$

Recta de ajuste:

$$\hat{Y} = A + MX$$

Coefficiente de correlación lineal:

$$R^2 = M \frac{S_x}{S_y}$$

Error típico de estimación:

$$S_{y/x} = \frac{(\sum Y^2) - A(\sum Y) - M(\sum XY)}{N}$$

$$\hat{S}_{y/x} = S_{y/x} \frac{N}{N-2}$$

Contraste de hipótesis para la pendiente:

$$T_a = \frac{(M - M_0) S_x (N-1)}{\hat{S}_{y/x}}$$

Intervalo de confianza:

$$M \pm T_{1-\alpha/2} \cdot \frac{\hat{S}_{y/x}}{S_x \sqrt{N-1}}$$

Contraste de hipótesis para la ordenada al origen:

$$T_a = \frac{A - A_0}{\frac{\hat{S}_{y/x}}{S_x} \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{N \sum (X_i - \bar{X})^2}}}$$

Intervalo de confianza:

$$A \pm T_{1-\alpha/2} \cdot \hat{S}_{y/x} \cdot \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{N \sum (X_i - \bar{X})^2}}$$

2. Precisión del sistema y método:

Contraste de hipótesis:

$$\chi^2_i = \frac{(N-1)S^2}{\sigma^2}$$

Coefficiente de variación:

$$CV = \frac{S}{\bar{X}}$$

3. Exactitud del método:

Contraste de hipótesis:

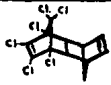
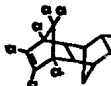
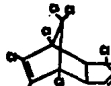


$$T = \frac{\bar{X}_m - \mu}{S/\sqrt{N}}$$

Intervalo de confianza:

$$\bar{X} \pm T_{1-\alpha/2} \cdot \frac{S}{\sqrt{N}}$$

ANEXO No 2

NOMENCLATURA, FORMULAS Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DE ALGUNOS PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS

FORMULA	NOMBRE COMUN	NOMBRE *	DATOS FISICOQUIMICOS
	ALDRIN	1, 2, 3, 4, 10, 10'-HEXACLORO-1, 4, 4a, 8, 8', 8a-HEXAHIDRO-1, 4, 8, 8'-DIMETANO NAFTALENO	SOLIDO, p.f. 104 C EL PRODUCTO TECNICO TIENE UN PUNTO DE FUSION DE p.p.-CL Y NO DEFINIDO, CON UN 78 % DE PRODUCTO PURO INSOLUBLE EN AGUA, SOLUBLE EN XILENO, TETRACHLORURO DE CARBONO, BENZENO, ACETONA Y OTROS SE OXIDA FACILMENTE PARA DAR DIELDRIN ES ESTABLE EN MEDIO BASICO
	DIELDRIN	1, 2, 3, 4, 10, 10'-HEXACLORO-1, 4, 4a, 8, 8', 7, 8, 8a-OCTAHIDRO-8, 7-EPOXI-1, 4, 8, 8'-DIMETANO NAFTALENO	SOLIDO p.f. 178 C EL PRODUCTO TECNICO ES UN SOLIDO CON 78 % DE PRODUCTO PURO. INSOLUBLE EN AGUA, SOLUBLE EN BENZENO, XILENO, TETRACHLORURO DE CARBONO Y OTROS. ESTABLE EN MEDIO BASICO.
	HEPTACLORO	1, 4, 8, 8', 7, 8, 9-HEPTACLORO-3a, 4, 7, 7a-TETRAHIDRO-4, 7-METANO-1H-INDENO	SOLIDO p.f. 80 C EL PRODUCTO TECNICO TIENE 80 % DE HEPTACLORO Y EL RESTO DE COMPUESTOS RELACIONADOS CON EL, CON UN INTERVALO DE FUSION ENTRE 48 Y 75 C. SOLUBLE EN DISOLVENTES ORGANICOS, ES ESTABLE A LA LUZ, EL AIRE, LA HUMEDAD, LOS ACIDOS Y LOS ALKALIS.
	ENDOSULFAN	8, 7, 8, 8', 10, 10'-HEXACLORO-1, 8, 8a, 8', 8a-HEXAHIDRO-8, 8'-METANO-8, 4, 3-BENZO (4) DIOKATEPINA-3-OXIDO	SOLIDO, p.f. 108 C. EL PRODUCTO TECNICO TIENE UN INTERVALO DE FUSION ENTRE 70 - 110 C. SOLUBLE EN CLOROFORMO, XILENO, ACETONA Y OTROS. ESTABLE A LA LUZ SOLAR, SE HIDROLIZA EN MEDIO ACIDO Y BASICO.
	MIREX	1, 1a, 2, 2a, 3, 3a, 4, 5, 5a, 5b, 6, 6a-OCTACLORO-OCTAHIDRO-1, 3, 4-METENO-1H-CICLOBUTA (2a) PENTALENO	SOLIDO p.f. 148 C. INSOLUBLE EN AGUA, MODERADAMENTE SOLUBLE EN BENZENO, XILENO, ACETONA Y OTROS. NO ES ESTABLE A LOS ACIDOS.

* DE ACUERDO AL REGISTRO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS QUIMICOS POTENCIALMENTE TOXICOS (IPPT) O POR EL PROGRAMA INTERNACIONAL DE SEGURIDAD DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS (PCB)

ANEXO No 2 (CONTINUA)

NOMENCLATURA, FORMULAS Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DE ALGUNOS PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS

FORMULA	NOMBRE COMUN	NOMBRE *	DATOS FISICOQUIMICOS
	DDT	1,1,1-TRICLORO-2,2-BIS(4-CLOROFENIL) ETANO	SOLIDO EL PRODUCTO TECNICO ES UNA MEZCLA DE 70% DE p,p'-D D Y EL RESTO DE OTROS ISOMEROS INSOLUBLE EN AGUA, SOLUBLE EN BENCENO, ACETATO D, ETILO, ACETONA, HEXANO, DIOXANO, CICLO-HEXANO Y OTROS
	METOXICLORO	1,1,1-TRICLORO-2,2-BIS(4-METOXFENIL) ETANO	SOLIDO, p.f. 80 C EL PRODUCTO TECNICO ES UNA MEZCLA DE 80% DEL ISOMERO p,p' Y EL RESTO DE p,p' SU SOLUBILIDAD ES SIMILAR A LA DEL DDT.
	DDE (TDE)	1,1-DICLORO, 2,2-BIS(4-CLOROFENIL) ETANO	SOLIDO, p.f. 112 C SU SOLUBILIDAD ES SIMILAR A LA DEL DDT.
	HCH (BHC)	1,2,3,4-TETRACLORO-1,2,3,4-TETRAHIDRO-1,3-DIOXANO (MEZCLA DE ISOMEROS)	SOLIDO CASI. NO TIENE PUNTO DE FUSION DEFINIDO EL PRODUCTO TECNICO ES UNA MEZCLA DE ISOMEROS EN LA QUE EL ISOMERO HCH SE ENCUENTRA ENTRE UN 12 Y UN 16% CLOR DESAGRADABLE.
	LINDANO (GAMA HCH)	GAMA 1 ALFA, 2 ALFA, 3 BETA, 4 ALFA, 5 BETA - HEXACLOROCICLOHEXANO	SOLIDO, p.f. 112.9 C ES SOLUBLE EN BENCENO, ACETONA, HEXANO Y OTROS
	CLORDANO	1,2,3,4,5,6,7,8-OCTACLORO-2,2,3,4,7,7,8,8-TETRAHIDRO-1,4-METANONAFTELANO HEXAHIDRO-4,7-METANO-1H-NOBENO	SOLIDO. ISOMERO CIS: p.f. 108 - 109 C. ISOMERO TRANS: p.f. 104 - 105 C. EL PRODUCTO TECNICO DEBE TENER 70% DE CIS-CLORDANO, 28% DE TRANS-CLORDANO, 1% DE HEPTACLORO Y EL RESTO DE OTROS COMPUESTOS. INSOLUBLE EN AGUA, SOLUBLE EN DISOLVENTES ORGANICOS

* DE ACUERDO AL REGISTRO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS QUIMICOS POTENCIALMENTE TOXICOS (IPCP)
O POR EL PROGRAMA INTERNACIONAL DE SEGURIDAD DE LAS SUSTANCIAS QUIMICAS (PQS)

XIII. BIBLIOGRAFIA

1. Jones, R., An Introduction to Gas Liquid, Chromatography, Academic Press; Londres 1970.
2. Dabrio, M. D., Cromatografía de Gases, Vol. II, John Wiley, Madrid, 1973.
3. Dalmogare, S. and Juvet, R. S.; Gas Liquid Chromatography Theory and Practice, Interscience, N. Y. 1965.
4. García de Marina, Cromatografía Líquida de Alta Resolución, Noriega, México, 1988.
5. Jeffrey, P.G., Gas Analisis by Gas Chromatography, Pergamon Press, Oxford, 1972.
6. Mc Nair, H. M., Basic Gas Chromatography, 5a ed. Varian, Palo Alto California, 1969.
7. Littlewood, A. B., Gas Chromatography Principles Techniques and Applications, Academic Press, New York, 1970.
8. Sorch, J. M., Fundamentos de Cromatografía de Gases, Alhambra, Barcelona, 1975.
9. Validación de Métodos Analíticos, Reporte interno del Colegio Nacional de Q.F.B. Elaborado por el Comité de Validaciones, México 1988.
10. Alcantara A., Validación de Métodos Analíticos, Material

de apoyo editado por la Asociación Farmacéutica Mexicana, México, 1989.

11. Duarte J. and Vest D., "Validating Alternate Laboratory Assay Methods". Pharmaceutical Technology. vol IV, pag. 85 USA 1979.
12. Límites Máximos Internacionales Recomendados para los Residuos de Plaguicidas, Comisión del Codex Alimentarius CAC/Rs 100-1978.
13. Brooks B.T., Chlorinated Insecticides, Vol II, Crc Press Inc., Florida, 1979.
14. Arias Verdes J. A., Plaguicidas Organoclorados, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud., México, 1990.
15. Gudzinowicz B. J., Gas Chromatographic Analysis of Drugs and Pesticides, Marcel Dekker, Inc., New York, 1967.
16. Gunter Zweig, Pesticides and Plant Growth Regulators, Vol. VI, Academic Press, New York, 1976.
17. Dickes G.J., Gas Chromatography in Food Analysis, Butterworths, London, 1975.
18. Zlatkis A., Advances In Chromatography, University off Houston, Houston, TX, 1982.
19. Hamastrand K., Gas Chromatographic Analysis of Pesticides, Varian Associates, New York, 1976.