1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación de los plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo operado en el modo de monitoreo de reacciones múltiples.

2. ALCANCE

Este método es aplicable para la determinación de plaguicidas organoclorados (clorotalonil, propanil, clorpirifos, endosulfan α y endosulfan β) en extractos líquidos de aguas superficiales de acuerdo con el método de referencia EPA 525.3 versión 1 del 2012.

En el Cuadro 1, 2, 3, 4 y 5 son presentados los resultados obtenidos en la validación del método:

Cuadro 1. Parámetros de validación del método para la determinación del clorotalonil.

NOMBRE DEL MÉTODO: Determinación de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo.			
CÓDIGO DEL PSO: N.A.			
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:	29/11/2017		
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN	11,85	µg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE %CV	10,9	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	4,9	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-9,4	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	-3,9	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	10-120	µg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	10-120	µg/L	Con la mayor dilución posible o aceptable de 1000.
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	79,1	%	Adicionado bajo 10 µg/L
	79,1	%	Adicionado alto 100 µg/L

Cuadro 2. Parámetros de validación del método para la determinación del propanil.

NOMBRE DEL MÉTODO: Determinación de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo.			
CÓDIGO DEL PSO: N.A.			
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		29/11/2017	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN	12,65	µg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE %CV	10,3	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	6,1	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-2,0	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	-2,0	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	10-120	µg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	10-120	µg/L	Con la mayor dilución posible o aceptable de 1000.
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	88,9	%	Adicionado bajo 10 µg/L
	72,8	%	Adicionado alto 100 µg/L

Cuadro 3. Parámetros de validación del método para la determinación del clorpirifos.

NOMBRE DEL MÉTODO: Determinación de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo.			
CÓDIGO DEL PSO: N.A.			
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		29/11/2017	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN	9,07	µg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE %CV	7,9	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	4,2	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-25,7	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	-6,1	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	10-120	µg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	10-120	µg/L	Con la mayor dilución posible o aceptable de 1000.
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	73,2	%	Adicionado bajo 10 µg/L
	78,9	%	Adicionado alto 100 µg/L

Cuadro 4. Parámetros de validación del método para la determinación del endosulfan α.

NOMBRE DEL MÉTODO: Determinación de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo.			
CÓDIGO DEL PSO: N.A.			
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		29/11/2017	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN	12,64	µg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE %CV	14,3	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	4,2	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-9,9	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	-4,0	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	10-120	µg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	10-120	µg/L	Con la mayor dilución posible o aceptable de 1000.
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	78,8	%	Adicionado bajo 10 µg/L
	84,3	%	Adicionado alto 100 µg/L

Cuadro 5. Parámetros de validación del método para la determinación del endosulfan β.

NOMBRE DEL MÉTODO: Determinación de plaguicidas organoclorados en aguas superficiales por cromatografía de gases acoplada al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo.			
CÓDIGO DEL PSO: N.A.			
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		29/11/2017	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN	11,65	µg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE %CV	10,3	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	3,8	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-9,7	%	AL NIVEL DE 10 µg/L
	-2,1	%	AL NIVEL DE 60 µg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	10-120	µg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	10-120	µg/L	Con la mayor dilución posible o aceptable de 1000.
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	82,5	%	Adicionado bajo 10 µg/L
	85,6	%	Adicionado alto 100 µg/L

3. DEFINICIONES

- OCP: *Organochlorine Pesticides* (plaguicidas organoclorados).
- GC: *Gas Chromatography* (cromatografía de gases).
- MS: *Mass Spectrometry* (espectrometría de masas).
- GC-MS/MS: *Gas Chromatography- Tandem Mass Spectrometry* (cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem).
- GC-QqQ: *Gas Chromatography- triple quadrupole* (cromatografía de gases-triple cuadupolo).
- MSD: *Mass Selective Detector* (detector selectivo de masas).
- SIM: *Selected Ion Monitoring* (monitoreo de ion seleccionado).
- MRM: *Multiple Reaction Monitoring* (monitoreo de reacción múltiple).
- LDM: Límite de Detección del Método.
- CV: Coeficiente de Variación.
- EPA: *Environmental Protection Agency* (Agencia de Protección Ambiental)
- SPE: *Solid Phase Extraction* (extracción en fase sólida).
- MB: *Method Blank* (blanco de reactivos o blanco de Método). Agua ultra pura que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos solventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra.
- LFB: *Laboratory Fortified Blank* (Blanco fortificado). Es una muestra de agua de reactivo a la que se ha añadido una concentración conocida del analito. Se utiliza para evaluar el desempeño de laboratorio, y la recuperación del analito en una matriz en blanco. (El LFB son los estándares de control de la técnica).
- LFM: *Laboratory Fortified Matrix* (Matriz fortificada). Es una porción adicional de una muestra la que se añade una cantidad conocida del analito de interés. Se utiliza para evaluar la recuperación del analito en una matriz de la muestra.
- LFMD: *Laboratory Fortified Matrix Duplicate* (duplicado de matriz fortificada). Es el duplicado de la matriz fortificada (LFM) que se analiza de forma idéntica. Se utiliza en lugar del duplicado de una muestra para evaluar la precisión y exactitud cuando la ocurrencia de un analito es poco frecuente.

4. ASPECTOS DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO

Antes de iniciar el análisis químico, revisar el Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio y las hojas de seguridad que reposan en las AZ del mueble ubicadas a la entrada; en el área de recepción de muestras.

Utilizar los implementos de seguridad, en la preparación de reactivos. En este método son: bata, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, media máscara de protección con filtro para vapores orgánicos y guantes de nitrilo. Utilizar la cabina de extracción para la preparación de muestra.

Los residuos producto del análisis en la determinación de los plaguicidas, se tratan de acuerdo al procedimiento para disposición de muestras y residuos de análisis, Disposición final de residuos.

5. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Antes de operar los equipos verificar que se encuentran en óptimas condiciones siguiendo los instructivos de manejo de equipos y realizando las verificaciones indicadas al respecto como lo indica el instructivo de cada equipo. Diligenciar el formato de control diario de manejo del equipo; formato M-S-LC-F007.

5.1 Equipos

- Cromatógrafo de gases *Agilent* serie 7890B acoplado al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo *Agilent* serie 7000D (véase Figura 1).
- Automuestreador para líquidos con bandeja para 150 muestras *Agilent* 7693 (véase Figura 1).
- Balanza analítica de precisión de 0,00001 g.
- Equipo básico para filtración al vacío con membrana de 0.45 µm (véase Figura 2).
- Equipo básico para extracción en fase sólida por medio de los cartuchos con adsorbente de octadecilsilano (C18) con colector de vacío adaptado a la bomba de vacío (véase Figura 3).
- Equipo básico para concentrar la muestra mediante la evaporación de solvente con flujo de corriente de nitrógeno (véase Figura 4).
- Cabina de extracción.

Figura 1. Cromatógrafo de gases *Agilent* 7890B acoplado al detector selectivo de masas de tiple cuadrupolo *Agilent* 7000D. Muestreador automático de líquidos ALS, *Agilent* 7693.

Figura 2. Equipo básico para filtración de muestras al vacío con membrana de 0,45 µm.

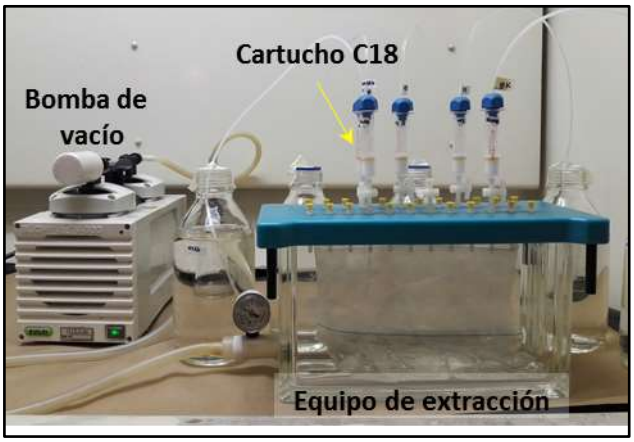


Figura 3. Equipo para extracción en fase sólida por medio de los cartuchos con adsorbente de octadecilsilano (C18) con colector de vacío adaptado a la bomba de vacío.

Figura 4. Equipo para concentrar la muestra mediante la evaporación de solvente con flujo de corriente de nitrógeno.

5.2 Materiales

- Balones aforados con tapa esmerilada clase A de 1 mL, cantidad 5.
- Balones aforados con tapa esmerilada clase A de 10 mL, cantidad 5.
- Balones aforados con tapa esmerilada clase A de 25 mL, cantidad 1.
- Balones aforados con tapa esmerilada clase A de 1 L, cantidad 5.
- Transferpipeta de 10 a 100 µL.
- Transferpipeta de 100 a 1000 µL.
- Transferpipeta de 0,5 a 5 mL.
- Puntas plásticas para micropipetas.
- Pipeta graduada de vidrio clase A de 1 mL, cantidad 2.
- Pipetas Pasteur de vidrio, cantidad 100 unidades.
- Filtros de membrana *nylon*, tamaño de poro 0,45 µm, diámetro 47 mm.
- Tubos de evaporación de solvente de 10 mL, cantidad 10.
- Cartuchos de extracción en fase sólida de 6 mL, fase estacionaria de octadecilsilano (C18), 1000 mg.
- Pipetas Pasteur de vidrio, cantidad 50 unidades.
- Viales de 2 mL de cromatografía. Cantidad una caja de 100 unidades.
- Viales ámbar de 4 mL, cantidad 100.
- Viales ámbar de 12 mL, cantidad 100.
- Vasos de precipitado de 25 mL, cantidad 5.
- Frascos de vidrio ámbar de volumen de 1 L con tapas de rosca de politetrafluoroetileno (PTFE).

5.3 Reactivos

- Clorotalonil, pureza 99,5%
- Propanil, pureza 99,0%
- Clorpirifos, pureza 99,9%
- Endosulfan α, pureza 99,4%
- Endosulfan β, pureza 98,0%
- Acetato de etilo, grado pesticida.
- Metanol, grado pesticida.
- Diclorometano, grado pesticida.
- Ácido sulfúrico, 95-97%.
- Nitrógeno grado 5,0, (99,999%).
- Helio grado 5,0, (99,999%).
- Agua Tipo I.
- Agua superficial.
- Ácido ascórbico-L, grado reactivo.
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sal trisódica, grado reactivo.
- Citrato de potasio dihidrogenado, grado reactivo.

5.3.1 Preparación de soluciones estándar

Las soluciones estándar stock se preparan en una concentración de 100 mg/L a partir de los patrones de referencia certificados de cada plaguicida de la marca Dr. *Ehrenstorfe*r o un fabricante certificado. El procedimiento a seguir es el siguiente: pesar individualmente aproximadamente 0.00100 g de los analitos (clorotalonil, propanil, clorpirifos, endosulfan α y endosulfan β) en una balanza con precisión de 5 cifras decimales. Se disuelven en 5 mL de acetato de etilo y se afora en un balón de 10 mL con el mismo solvente. De esta forma se obtienen cinco soluciones de los estándares individuales en una concentración aproximada de 100 mg/L. La solución estándar *stock*, se almacena en viales ámbar a una temperatura ≤ 4 °C y deben ser reemplazadas cada año o si los análisis indican un problema.

Luego, de cada solución de estándar se toma una alícuota de 100 µL, se adiciona a un balón de 25 mL y se afora con acetato de etilo. Esta solución *stock* corresponde a la mezcla de todos los analitos en una concentración de 500 µg/L. Registrar las soluciones estándar en el libro de registro de patrones y reactivos preparados, disponible en el área de preparación de muestras.

5.3.2 Preparación estándares para la curva de calibración

Los estándares de calibración se preparan en seis niveles de concentración diferentes los cuales contienen todos los analitos. La curva de calibración es preparada en el extracto del blanco de la matriz, a partir de diluciones sucesivas de la solución *stock* con la mezcla de los plaguicidas organoclorados en una concentración de 500 µg/L. El extracto final es aforado a un volumen final de 1 mL con acetato de etilo. Este tipo de calibración requiere aplicar el método de extracción previamente a 1 L de matriz blanco para obtener el extracto concentrado y doparlo con una concentración conocida de la solución estándar con la mezcla de los analitos. Se debe aplicar este procedimiento para cada uno de los niveles de la curva. En la Tabla 1 se muestran los valores de las concentraciones preparadas para los niveles de la curva de calibración de los OCP.

Tabla 1. Concentración de los OCP en las soluciones estándar de la curva de calibración.

Nivel de concentración	Concentración (µg/L) de la solución de calibración	Volumen (µL) de la solución stock
1	10	20
2	30	60
3	50	100
4	75	150
5	100	200
6	120	240

5.3.3 Preparación de estándares de control

Los estándares de control deben ser analizados el inicio de cada lote de muestras. Prepare un mínimo de dos estándares de control (Eb, estándar bajo y Ea, estándar alto) en el extracto del blanco de matriz a partir de diluciones de la solución *stock* que contenga la mezcla de los plaguicidas organoclorados. En la Tabla 2 se presentan las concentraciones y los valores de las alícuotas para la preparación de los estándares de control.

Tabla 2. Preparación de estándares de control.

Estándar de control	Concentración final (µg/L) del estándar	Volumen (µL) mix de OCP, Concentración, 500 µg/L	Volumen final (mL) en extracto
Eb	10	20	1
Ea	60	120	1

6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Las interferencias del método pueden originarse por contaminación de los solventes, reactivos (incluyendo el agua tipo I), limpieza de elementos de vidriería y otros equipos utilizados en el procesamiento de la muestra que pueden producir señales o línea base elevada en los cromatogramas. Se debe demostrar rutinariamente que todos los solventes, reactivos, elementos de laboratorios y equipos se encuentran libres de interferencias mediante el análisis de blancos de laboratorio sometidos a las mismas condiciones de análisis de las muestras.

Las interferencias de la matriz pueden ser causadas por contaminantes que se extraen conjuntamente de la muestra. Las interferencias de la matriz pueden variar considerablemente de una fuente a otra, dependiendo de la naturaleza de la muestra de agua. Las muestras de agua con un alto contenido de carbono orgánico total (COT) pueden tener línea base elevada o picos interferentes. Los componentes de la matriz pueden interferir directamente produciendo una señal en o cerca del tiempo de retención esperado del analito. También pueden aumentar la señal de los analitos del método.

Los ftalatos constituyen una fuente de contaminación potencial que puede interferir en el análisis cuando es usado material de plástico para el muestreo, almacenamiento de la muestra o productos químicos como los cartuchos de extracción en fase sólida. Se debe tomar precaución con el fin de minimizar la contaminación en el análisis.

Una interferencia cromatográfica puede ser generada cuando se presenta contaminación por *carry-over*. Este problema es posible que se presente en el cromatógrafo cuando se analiza una muestra con concentración muy alta de los analitos en secuencia con una muestra de concentración baja o relativamente limpia, provocando una mayor respuesta debido a la contaminación cruzada. Para evitar este problema, la jeringa se lava entre cada inyección varias veces con solventes como acetato de etilo y metanol. Además, se inyecta un blanco de solvente (acetato de etilo) entre la inyección de muestras para garantizar que no ocurra contaminación. En algunas ocasiones se requiere la limpieza cuidadosa de la jeringa y el puerto de inyección.

7. CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

- Utilizar el material de vidrio al cual se le ha realizo el control de calidad.
- Efectuar el análisis dentro del tiempo estipulado, asegurando la confiabilidad del resultado.
- La curva de calibración debe analizarse por cada día de trabajo. Verifique que la curva de calibración cumpla con un coeficiente de determinación, $R^2 \geq 0,99$ de la regresión lineal.

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluye la Tabla 3.

Tabla 3. Control de calidad método.

Blanco del Método (MB)	Blanco fortificado en Laboratorio (LFB)	Matriz Fortificada en Laboratorio (LFM)	Duplicado Matriz Fortificada en Laboratorio (LFMD)
X	X	X	X

Tomado del EPA *Method* 525.3.

Tener en cuenta los siguientes aspectos a la hora de reportar los análisis:

- Blanco del Método (MB): incluya al menos un blanco diario por cada lote muestras o por cada 20 muestras o menos. Si cualquier medición de MB es igual o superior al límite de detección, tome las medidas correctivas. Esto puede incluir el re-análisis del lote de muestras. Si el MB detecta un pico dentro de la ventana del tiempo de retención de cualquier analito, identifique la fuente de contaminación y elimine la interferencia antes de procesar las muestras.

  Las directrices para calificar los resultados de las muestras con respecto a la calidad del blanco del reactivo son las siguientes:
  - Si el blanco del reactivo es menor o igual a 1/3 del LDM no requiere calificación.
  - Si el blanco del reactivo es mayor que el LDM y los resultados de la muestra son mayores que el LDM, calificar los resultados para indicar que el analito fue detectado en el blanco del reactivo.
  - Si el blanco del reactivo es mayor que el LDM, requiere una acción correctiva y calificación adicionales, como volver a analizar el lote de la muestras.

- Incluir al menos un blanco fortificado (LFB) por cada lote muestras o por cada 20 muestras o menos. Idealmente, variar las concentraciones del blanco fortificado para cubrir el rango desde el punto medio a la parte inferior de la curva de calibración, incluyendo el límite. El LFB son los estándares de control de la técnica. Calcular el porcentaje de recuperación, gráficos de control y determinar los límites de control. Los gráficos de control pueden ser útiles para identificar posibles problemas. Se debe asegurar que el blanco fortificado (LFB) cumpla con los criterios de rendimiento del método cuando se especifican tales criterios. Establecer las acciones correctivas que deben tomarse si el LFB no cumple con los criterios de aceptación. La recuperación debe estar entre el 70-130%.

- Incluir una matriz fortificada (LFM) por cada lote muestras o por cada 20 muestras o menos. Añadir una concentración que sea al menos 10 veces inferior o igual al punto medio de la curva de calibración. Para

preparar la LFM añada una concentración conocida de analito (idealmente de una segunda fuente) a una muestra de rutina seleccionada al azar, sin aumentar su volumen en más del 5%. Lo ideal sería que la nueva concentración este en o por debajo del punto medio de la curva de calibración, si es necesario, diluya la muestra para que la medición este dentro de la curva de calibración.

Calcular el porcentaje de recuperación el error relativo porcentual, determine los límites de control en diferentes concentraciones. Asegúrese que se cumplen los criterios de desempeño del método. Si los resultados de la LFM están fuera del control, tome las medidas correctivas para rectificar el efecto de la matriz, vuelva a preparar el fortificado y verifique que el material este limpio y libre de contaminación. La recuperación debe estar entre 70 y 130%.

- Incluir como mínimo un duplicado de matriz fortificada (LFMD) o un duplicado de una muestra por cada lote muestras o por cada 20 muestras o menos; si un analito rara vez se detecta en un tipo de matriz, utilice un duplicado de la matriz fortificada (LFM). El coeficiente de variación entre los valores encontrados en la LFM y el duplicado LFMD debe ser ≤ 30%. Es posible encontrar una mayor variabilidad cuando la matriz tiene concentraciones de los analitos dos veces mayor al LMD, en este caso, el coeficiente de variación puede ser ≤ 50%. Si el duplicado de la matriz fortificada está fuera de control, tome las medidas correctivas necesarias para rectificar el efecto de la matriz, vuelva a preparar y vuelva a analizar la muestra. Tome las medidas correctivas adicionales, según sea necesario.

- Los estándares de control bajo y alto, deben ser corridos al inicio del lote de análisis, después de cada 10 muestras y al final del lote de muestras. La concentración calculada para cada analito en el rango lineal del nivel medio al alto debe estar dentro del ± 30% del valor verdadero. La concentración calculada para el nivel de calibración más bajo para cada analito debe estar entre el ± 50% del valor verdadero. Si no se cumple con este criterio, entonces los resultados para el analito en cuestión deben invalidarse y una acción correctiva deberá ser tomada. Diligencie la carta de control colocando las iniciales del analista y la fecha de análisis, grafique el valor promedio diario de la concentración de los estándares de control. Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revise todo el procedimiento para determinar que ocurre. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado y si es necesario, se debe repetir el análisis de todo el grupo de muestras, no realice más análisis hasta verificar que sucede; comuníquele la anomalía al líder de Físico –Química, revise e inicie nuevamente la marcha analítica cuando el líder lo autorice.

8. DESARROLLO

8.1 Principio del método

La cromatografía de gases (GC) es una técnica de separación en la que los componentes de una mezcla se reparten entre dos fases: una fase estacionaria, con una grande área superficial y, una fase móvil, que es un gas inerte. En esta técnica la muestra se vaporiza y es transportada por la fase móvil conocida como gas de arrastre (usualmente helio, hidrógeno o nitrógeno) a través de la columna que contiene la fase estacionaria. Los componentes de la mezcla o analitos son separados con base en sus presiones de vapor relativas y su afinidad por la fase estacionaria y posteriormente llegan al detector, la respuesta es mostrada en el monitor.

La espectrometría de masas (MS) es una técnica que permite estudiar las masas de átomos, moléculas o fragmentos de moléculas. El análisis por espectrometría de masas permite obtener espectros de masas, en el que las moléculas gaseosas se ionizan, los iones se aceleran en un campo eléctrico y posteriormente se separan según su relación masa/carga (*m/z*). En el caso en que las cargas sean igual a +1, la relación *m/z* corresponderá numéricamente a la masa molecular, o masa de los fragmentos.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS, *gas chromatography coupled mass spectrometry*, por sus siglas en inglés) constituye una de las técnicas de mayor interés para el análisis de mezclas complejas por su capacidad de separar, identificar y cuantificar los analitos. Para que una sustancia pueda ser analizada por GC/MS debe ser suficientemente volátil y térmicamente estable.

Un espectrómetro de masas unido al cromatógrafo de gases es conocido como detector de masas o detector selectivo de masas (MSD, *Mass Selective Detector*, por sus siglas en inglés). La espectrometría de masas se basa en el análisis iones que se mueven a través de vacío. En GC-MSD, generalmente la ionización de la muestra ocurre en la cámara de ionización o fuente de iones mediante la técnica clásica de ionización electrónica o impacto de electrones (EI, *electron ionization or electron impact*), también puede ser utilizada la ionización química (CI, *chemical ionization*).

En la EI un haz de electrones producido por un filamento de tungsteno cargado con alta energía bombardea a las moléculas retirando un electrón de la molécula en fase vapor generando pérdida de la neutralidad. De esta forma, son producidos iones positivos, iones negativos y especies neutras. Los iones positivos se dirigen al analizador por repulsión electrostática, los demás son expulsados a través del sistema de vacío. Los iones positivos se analizan por un analizador de masa que controla el movimiento de los iones a medida que viajan al detector para convertirse en señales reales. En la EI los electrones tienen tanta energía (70ev) que se producen muchos iones fragmento, producto de la energía excesiva que hace que la molécula se fragmente.

Uno de los analizadores de masas más usados en el acople GC-MSD es el analizador cuadrupolar, un analizador de barrido conocido como cuadrupolo o filtro de masas. Un cuadrupolo está formado por cuatro barras sólidas paralelas en la dirección de un haz de iones. Un voltaje de corriente continua e una radiofrecuencia son aplicados a las barras, generando un campo electrostático oscilante en la región entre las barras.

Dependiendo de la razón entre la amplitud de la radiofrecuencia y el voltaje de la corriente continua, los iones adquieren una oscilación en ese campo electrostático. De esta forma los iones son separados en relación con la estabilidad de sus trayectorias en el campo eléctrico formado. Las trayectorias serán dependientes del campo eléctrico producido de modo que apenas los iones de una particular relación *m/z* tendrán una trayectoria estable e llegarán al detector. Los demás valores de *m/z* tendrán trayectorias inestables y podrían colisionar o escapar de la región central del cuadrupolo, no llegando al detector. Debido a este proceso, es común decir que el analizador de masas cuadrupolar es un filtro de masas.

Una de las características más interesantes del MSD es su capacidad para funcionar como un detector universal, selectivo o específico. En la actualidad, la utilización de más de un analizador en una configuración multidimensional lo transforma en un detector específico, esta configuración también es conocida como tándem (MS/MS). Para realizar un análisis de masas en tándem en el espacio, es necesario tener múltiples analizadores conectados en serie. Uno de las configuraciones más comunes de espectrómetros de masas

en tándem es el triple cuadrupolo (QQQ o QqQ). Los componentes básicos del QqQ-MS consisten en una fuente de ionización, un cuadrupolo (Q1), una cámara de colisiones (Q2), un segundo cuadrupolo (Q3) y un detector.

Uno de los modos de análisis más utilizado en el QqQ es el monitoreo de reacción múltiple (MRM, *Multiple Reaction Monitoring*). En este modo de adquisición, la fuente de ionización produce los iones, el Q1 es el primer filtro de masas que permite la seleccionar el ion de interés, llamados de iones precursores (también conocidos como iones padre). En la cámara o celda de colisiones (Q2) ocurre la fragmentación del ion precursor. Un gas de colisión como el nitrógeno es introducido produciendo la fragmentación del ion precursor seleccionado generando los iones producto (conocidos como iones hijo). El Q3, actúa como un segundo cuadrupolo filtrando el paso de los iones productos seleccionado para permitir que lleguen al detector. Note que es poco probable que haya otro compuesto con las mismas transiciones de ion producto e ion precursor que las del analito. El QqQ-MS permite analizar específicamente los iones de interés, eliminando interferencias y disminuyendo el ruido en la medición. De esta forma se obtiene mejor sensibilidad y selectividad. Los plaguicidas organoclorados fueron detectados y cuantificados usando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem con analizador de triple cuadrupolo operado en el modo de monitoreo de reacciones múltiples.

8.2 Toma y preservación de muestras

- Las muestras deben ser colectadas usando botellas de vidrio ámbar de 1 L de capacidad con tapas de rosca de politetrafluoroetileno (PTFE). Los botellas de vidrio ámbar pueden ser sustituidas por frascos transparentes con tapas de rosca revestidas con PTFE si las botellas de muestra se envuelven con papel de aluminio, se almacenan en cajas o de otra manera son protegidas de la luz durante el transporte y almacenamiento de la muestra.
- Es indispensable no utilizar materiales plásticos en el equipo de muestreo incluyendo mangueras, frascos plásticos, protectores internos de las tapas de los frascos, entre otros, los cuales contienen compuestos derivados de los ftalatos que pueden interferir en la detección de los analitos por el método cromatográfico.
- Cada botella debe contener los reactivos de preservación de la muestra, como sólidos secos antes del envío a la salida de campo o antes de la colección de la muestra. Los preservantes utilizados son: ácido ascórbico-L, 0,10 g (0,10 g/L reduce el cloro residual), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sal trisódica, 0,35 g (0,35 g/L inhibe la hidrólisis catalizada por metales) y citrato de potasio dihidrogenado, 9,4 g (9,4 g/L, la muestra debe ser tamponada a pH 3,8 para inhibir la degradación microbiana de los analitos y reducir la hidrólisis alcalina de algunos analitos del método).
- Ubique la margen del río donde se encuentran los cultivos. Destape la botella y tome la muestra directamente en el cuerpo de agua en contracorriente, sin dejar rebosar la botella. Tener cuidado de no eliminar los reactivos para preservar las muestras. Las muestras no necesitan ser colectadas con espacio libre en el cuello de la botella.
- Después de colectar la muestra, tape firmemente la botella y homogenice manualmente el contenido invirtiéndola varias veces hasta que se disuelvan los preservantes.

- Coloque las botellas dentro de la nevera separando las botellas de vidrio entre sí para evitar rotura de las mismas. Colocar hielo suficiente para refrigerar. No exceder una temperatura de 10°C durante las primeras 48 horas después de la toma de la muestra.
- Almacene las muestras en el laboratorio a una temperatura menor de 4°C, pero sin congelar.
- Las muestras deben ser extraídas y analizadas lo más pronto posible dentro de un plazo de 14 días. Filtrar las muestras únicamente en el momento de realizar el análisis.
- Los extractos deben ser almacenados a una temperatura ≤ -5°C o menos, protegido de luz y analizados dentro de 28 días después de la extracción.

8.3 Limpieza de vidriería y material de campo

Remítase al instructivo relacionado del Lavado material de vidrio. La vidriería debe ser lavada usando jabón libre de fósforo. Utilice la vidriería a la que se le haya efectuado control de calidad y reserve esta vidriería únicamente para las determinaciones de cromatografía de gases.

8.4 Ejecución de la técnica

8.4.1 Acondicionamiento del equipo

Realizar la comprobación del estado del equipo. Remítase al instructivo de manejo del cromatógrafo de gases acoplado al detector selectivo de masas de triple cuadrupolo *Agilent* GC 7890B/QqQ 7000D. Realizar la prueba de presencia de aire y agua (*check air and water*). Seguir el procedimiento que se encuentra en la Sección 8.2 y 8.3 del Instructivo de manejo del equipo.

Calibrar el equipo a través del *autotune* y *check tune*. El espectrómetro de masas del GC-QqQ de ser calibrado a través del *High Sensitivity Autotune* con perfluorotributilamina (PFTBA). Masas utilizadas en la calibración *m/z* 69.00, *m/z* 219.00, *m/z* 264.00, *m/z* 414.00 y *m/z* 502.00. Asegúrese de haber comprendido las indicaciones que se dan en el instructivo para el manejo adecuado del equipo.

8.4.1.1 Verificar que los frascos de lavado del carrusel en la torre de inyección estén llenos con metanol y acetato de etilo.

8.4.1.2 Condiciones instrumentales del GC-QqQ *Agilent* 7890B/7000D

El método para el análisis de OCP se encuentra en la dirección D:\MassHunter\GCMS\1\methods\Validacion\Metodo plaguicidas DB-5.m, guardados con el nombre de Metodo plaguicidas DB-5. A continuación son presentados los parámetros del método cromatográfico y espectrométrico.

- **Parámetros del cromatógrafo de gases**

Sample Inlet:	GC
Injection Source:	GC ALS
Injection Location:	Front
Mass Spectrometer:	Enabled

Columna analítica

Tipo	(5%-fenilo)-polidimetilsiloxano, DB-5MS

Longitud	30 m
Diámetro de la columna	0.25 mm
Espesura del filme	0.5 µm
Gas de arrastre	Helio 5.0 (99,9995 %)
Gas de colisión	Nitrógeno 5.0 (99,9995%)

GC
GC Summary

Run Time	32 min
Post Run Time	5 min

Oven
Temperature

Setpoint	On
(Initial)	100 °C
Hold Time	1 min
Post Run	300 °C
Program	
#1 Rate	30 °C/min
#1 Value	180 °C
#1 Hold Time	2 min
#2 Rate	3 °C/min
#2 Value	220 °C
#2 Hold Time	0 min
#3 Rate	20 °C/min
#3 Value	280 °C
#3 Hold Time	10 min

Equilibration Time	1 min
Max Temperature	325 °C
Maximum Temperature Override	Disabled
Slow Fan	Disabled

Collision Cell/Backflush
Pressure

Setpoint	Off
(Initial)	10 psi
Post Run	0 psi

He Quench Gas	On 2.25 mL/min
N2 Collision Gas	On 1.5 mL/min

ALS
Front Injector

Syringe Size	10 µL
Injection Volume	2 µL

Solvent A Washes (PreInj)	1
Solvent A Washes (PostInj)	5
Solvent A Volume	8 µL
Solvent B Washes (PreInj)	1
Solvent B Washes (PostInj)	5
Solvent B Volume	8 µL
Sample Washes	2
Sample Wash Volume	2 µL
Sample Pumps	4
Dwell Time (PreInj)	0 min
Dwell Time (PostInj)	0 min
Solvent Wash Draw Speed	300 µL/min
Solvent Wash Dispense Speed	3000 µL/min
Sample Wash Draw Speed	300 µL/min
Sample Wash Dispense Speed	3000 µL/min
Injection Dispense Speed	6000 µL/min
Viscosity Delay	3 sec
Sample Depth	Disabled
Injection Type	Standard
L1 Airgap	0.2 µL
Solvent Wash Mode	A, B
Sample Overlap	
Mode	Sample overlap is not enabled
ALS Errors	Pause for user interaction
Front SS Inlet He	
Mode	Pulsed Splitless
Heater	On 280 °C
Pressure	On 8.8087 psi
Total Flow	On 54 mL/min
Septum Purge Flow	On 3 mL/min
Septum Purge Flow Mode	Switched
Gas Saver	On 15 mL/min After 3 min
Injection Pulse Pressure	25 psi Until 0.5 min
Purge Flow to Split Vent	50 mL/min at 1 min
Liner	sin división de flujo, 4mm D.I.
Thermal Aux 2 (MSD Transfer Line)	
Temperature	
Setpoint	On
(Initial)	300 °C
Post Run	0 °C
Column	

Column #1	
Flow	
Setpoint	On
(Initial)	1 mL/min
Post Run	1.2 mL/min
Column lock	Unlocked
In	Front SS Inlet He
Out	MSD
(Initial)	70 °C
Pressure	8.8087 psi
Flow	1 mL/min
Average Velocity	36.796 cm/sec
Holdup Time	1.3588 min

- **Parámetros del espectrómetro de masas**

Run Time	
Solvent Delay (min)	7
Time Filter	On
Time (min)	0
Peak Width (sec)	0.8
Source Parameters	
Ion Source	EI
Source Temperature (°C)	230
Quadrupoles Temperature (°C)	150 (Q1 and Q3)
Electon Energy Mode	Use Tune Setting
Electron Energy (eV)	70
Detector Setting	Use Gain Factor

Para todos los plaguicidas fueron seleccionadas dos transiciones MRM, una para cuantificar (Q, *Quantifier*) y la otra para confirmar (q, *qualifier*). Los tiempos de retención, iones precursores, iones productos, tipo de transición y energías de colisión son mostradas en la Tabla 4. La confirmación de la identidad del pico en la muestra se realiza por comparación del tiempo de retención y la relación Q/q entre la intensidad del pico de la transición de cuantificación (Q) y la transición de confirmación (q) para cada analito en relación con la de la solución del patrón certificado. Para el análisis de datos los *software Agilent MassHunter Qualitative Analysis*, *version* B.07.00 y *Quantitative Analysis for QQQ*, *version* B.07.01 SP2/Build 7.1.524.2 son utilizados.

Tabla 4. Método de adquisición por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de triple cuadrupolo (GC-QqQ) operado en el modo de monitoreo de reacciones múltiples (MRM) con columna capilar DB-5MS, 30m x 0.25 mm x 0.5 µm.

t_R (min)	t_R Segmento (min)	Compuesto	Ion precursor (*m/z*)	Ion producto (*m/z*)	Tipo de transición (Q, q)	Energía de colisión (eV)
10,5	10,0-13,0	Monocrotopos	127	109	Q	10
			127	95	q	20
11,8	10,0-13,0	Dimetoato	125	47,2	Q	10
			125	79	q	10
13,6	13,0-14,4	Metil paraoxón	229,9	106,1	Q	20
			229,9	200,1	q	10
15,7	14,4-16,4	Metil paratión	263	109	Q	15
			124,8	79	q	10
17,3	16,4-20,0	Malatión	127	99,1	Q	10
			173	99,1	q	20

Q: *quantifier*, ion de cuantificación q: *qualifier*, ion de confirmación

8.4.2 Calibración

Saque los estándares mixtos del congelador y permita que se aclimaten. Los estándares de calibración deben ser preparados en extractos de blanco de matriz obtenidos a través del procedimiento descrito en la Sección 8.4.3. Se debe disponer de una cantidad suficiente de muestra de agua superficial para realizar la extracción del blanco de matriz para los seis niveles de la curva de calibración, así como para los estándares de control bajo y alto.

8.4.3 Procedimiento para la preparación de muestra

8.4.3.1 Solicite las muestras mediante el formato de solicitud de muestras para análisis, código M-S-LC-F015. Para dar inicio al proceso de extracción deje acondicionar la muestra a temperatura ambiente durante 30 minutos.

8.4.3.2 Antes de comenzar el proceso de extracción, verificar que el pH de la muestra sea pH ≤ 4 con una tira de papel indicador de pH universal. Si el pH es aceptable, proceda con el análisis. Sino, ajuste el pH con 0,1 mL de ácido sulfúrico.

8.4.3.3 La muestra debe ser filtrada a través de una membrana de 0,45 µm con el equipo de filtración al vacío como se presenta en la Figura 2, para evitar que se tapone el cartucho.

8.4.3.4 Tome la muestra previamente filtrada y realice la medición del volumen en una probeta o balón aforado de 1 L de capacidad.

8.4.3.5 Acondicionamiento del cartucho

- La muestra se somete al proceso de extracción en fase sólida como se presenta en la Figura 3.
- Primero se realiza el lavado del adsorbente octadecilsilano (C18) contenido en el cartucho. Se debe colocar la llave de paso al *manifold* y se adapta encima de esta el cartucho de C18. Con la llave cerrada en posición horizontal se enciende la bomba para accionar el vacío (la bomba debe estar conectada a la cámara de vacío).

- Se adicionan lentamente 5 mL de acetato de etilo al cartucho esperando que pase por el adsorbente durante 1 minuto, se abre lentamente la llave (en posición vertical) para que pase el solvente a una velocidad de 5 mL/min.
- Después, se realiza el acondicionamiento del cartucho adicionando 10 mL de metanol, permita que el solvente remoje el adsorbente durante 1 min. Luego abra la llave para que pase el resto de metanol. Se debe dejar una cantidad aproximada de 500 µL sobre el adsorbente para evitar que se seque el cartucho.
- En seguida, adicione 10 mL de agua tipo I sin dejar secar el cartucho, de lo contrario debe repetir el procedimiento desde la adición de metanol. Cierre la llave de paso y apague la bomba de vacío. Tener en cuenta que se debe utilizar un recipiente dentro de la cámara de vacío para colectar los solventes y luego depositarlos en el frasco de residuos.

8.4.3.6 Adición de la muestra

- Adicione 5 mL de agua tipo I al cartucho. Luego, adapte la tubería de teflón en la parte superior del cartucho. Inserte el otro extremo de la manguera en el frasco de la muestra a extraer permitiendo que este extremo llegue hasta el fondo del recipiente.
- Encienda la bomba para accionar el vacío y deje que pase toda la muestra a través del cartucho a una velocidad aproximada de 10 mL/min. Se debe mantener la bomba de vacío a una presión cerca de 15 pulgadas de mercurio. Recuerde utilizar un recipiente dentro de la cámara de vacío para colectar el agua que pasa a través del cartucho y luego depositarla en el frasco de residuos.
- Al finalizar el paso de la muestra, sin dejar secar el cartucho, purgue el frasco de la muestra con 20 mL de agua tipo I permitiendo lavar la tubería de teflón que estuvo sumergida en la muestra y deje que pase a través del cartucho. Retire la tubería de teflón de la muestra y del cartucho.
- Deje secar el adsorbente aplicando vacío durante unos 1 hora o el tiempo que requiera para eliminar el agua contenida dentro del cartucho. Pase corriente de N_2 durante 20 min por el cartucho para ayudar a secar el adsorbente. El secado excesivo puede causar pérdidas debido a la volatilidad del analito. Por otro lado, el secado insuficiente puede dejar una cantidad excesiva de agua atrapada en el cartucho y provocar recuperaciones deficientes.

8.4.3.7 Elución de los analitos

- El cartucho con los analitos retenidos en el adsorbente debe estar libre de agua. Inserte un tubo colector con 10 mL de capacidad en la cámara de vacío para recoger el extracto con los analitos.
- Adicione 5 mL de acetato de etilo al cartucho y eluya por gravedad. Permita que el adsorbente se remoje por un minuto con el solvente. Deje eluir el remanente del solvente en el cartucho por gravedad.
- Repita este paso con 5 mL de diclorometano.

8.4.3.8 Concentración del extracto

Luego evapore el extracto obtenido por extracción en fase sólida utilizando corriente de N_2 en el equipo evaporador como se muestra en la Figura 4, hasta reducir a un volumen alrededor de 0,7mL. Transfiera el extracto a un balón aforado, lave el tubo colector con pequeñas cantidades de acetato de etilo y afore hasta la marca de 1 mL. Transfiera la muestra cuantitativamente con una pipeta Pasteur a un vial de 2 mL para cromatografía. Almacenar los extractos a una temperatura ≤ -5 °C hasta análisis.

8.4.3.9 Inyecte en el GC-QqQ a través de la inyección automadica de acuerdo con la secuencia de análisis y el Método de Plaguicidas DB-5.

8.4.4 Procedimiento para la programación de la secuencia de análisis en l GC-QqQ

8.4.4.1 Crear la secuencia de análisis en la carpeta ubicada en D:\MassHunter\GCMS\1\sequence*Nombre de la secuencia. Seguir el siguiente formato para el nombre: Año_Mes_dia_nombre del lote. Véase el procedimiento para la creación dela secuencia en la Sección 8.8 del instructivo de manejo del equipo.

8.4.4.2 Crear una carpeta para guardar los datos (*data path*) en la dirección D:\MassHunter\GCMS\1\data\2017*Seleccionar mes correspondiente*Año_mes_dia_nombre del lote.

8.4.4.3 Para el análisis se debe leer inicialmente un blanco de solvente, estándares de control (Blancos fortificados) bajo y alto, posteriormente continúe con el lote de muestras, por cada 20 muestras o menos se debe inyectar una matriz fortificada y su duplicado para evaluar la recuperación o un duplicado 1 de las muestras. Para cada lote de análisis debe ser programada la secuencia en el siguiente orden.

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

1. Estándar bajo (Eb).

2. Estándar alto (Ea).

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

3. Estándares de calibración (seis niveles en orden de concentración ascendente).

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

4. Blanco del método (MB).

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

5. Muestras.

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

6. Matriz fortificada en Laboratorio (LFM).

7. Duplicado de matriz fortificada en Laboratorio (LFMD).

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

8. Re-inyectar Estándar bajo o estándar alto.

→ Blanco de solvente, acetato de etilo.

8.4.4.4 Verificar la posición correcta de los viales en la bandeja del automuestreador.

8.4.4.5 Someter el lote para inyección. Espere hasta que se realice la primera inyección para asegurarse que no hay problemas para inicial la secuencia de análisis.

8.4.4.6 Una vez finalizada la marcha analítica, registre los valores de los controles analíticos en las cartas de control, y diligencie el formato recepción de muestras y control de análisis M-S-LC-F002, deposite los residuos en la caneca correspondiente, solicite el lavado de material, diligenciando el formato de solicitud M-S-LC-F003.

8.5 Cálculos y resultados

La identificación del analito ocurre cuando un pico del extracto de la muestra inyectada está dentro de la ventana de t_R del compuesto de interés. La confirmación de la identidad del pico en la muestra está dada por la comparación de la relación Q/q entre las intensidades de las áreas de la transición de cuantificación (Q) y la transición de confirmación (q) del analito en la muestra con la del estándar de calibración preparado en

matriz, medidas bajo las mismas condiciones. Los márgenes de tolerancia utilizados como criterio de aceptación para la confirmación del analito se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Tolerancias permitidas de las intensidades relativas de los iones para la confirmación de la identidad del analito por espectrometría de masas en tándem.

Intensidad relativa (% del pico de cuantificación)	GC-MS^n, GC-MS/MS, GC-QqQ
> 50%	± 20%
> 20 – 50%	± 25%
> 10 – 20%	± 30%
≤ 10%	± 50%

La cuantificación es realizada mediante el cálculo de la concentración del analito utilizando el método de calibración externa. La concentración se calcula a través de la regresión lineal de la curva de calibración con base en la respuesta (y), la pendiente (m) y el intercepto (b) de la ecuación de la recta, para encontrar el valor de la concentración en el extracto (x) como se muestra en la Ecuación 2.

$$y = m\,(x) + b$$ **Ecuación 1.**

Luego, despejando la concentración

$$x = \frac{(y-b)}{m}$$ **Ecuación 2.**

x= Concentración ($\mu g/L$) del analito en el extracto final de 1 mL.

La concentración del analito en la muestra se calcula de acuerdo con la Ecuación 3. Reporte los resultados con tres cifras significativas.

$$Concentración\ (\frac{\mu g}{L}) = \frac{C_e * V_e * F_d}{V_m}$$ **Ecuación 3.**

Donde,
C_e= Concentración en el extracto final ($x = \mu g/L$);
V_e=Volumen (L) del extracto final concentrado, Ve=0,001 L;
F_d= Factor de dilución. Si la muestra fue diluida previo análisis. En caso contrario, Fd=1;
V_m= Volumen (L) de la muestra, (Vm=1L).

El cálculo del porcentaje de recuperación de los analitos en la matriz adicionada se realiza de acuerdo con la Ecuación 4. La recuperación debe estar entre el 70-130%.

$$\%\ Recuperación = \frac{C_{MA} - C_M}{C_A} * 100$$ **Ecuación 4.**

Donde,

C_{MA} = Concentración calculada de la matriz adicionada,
C_M = Concentración de la matriz no adicionada, y
C_A = Concentración conocida adicionada.

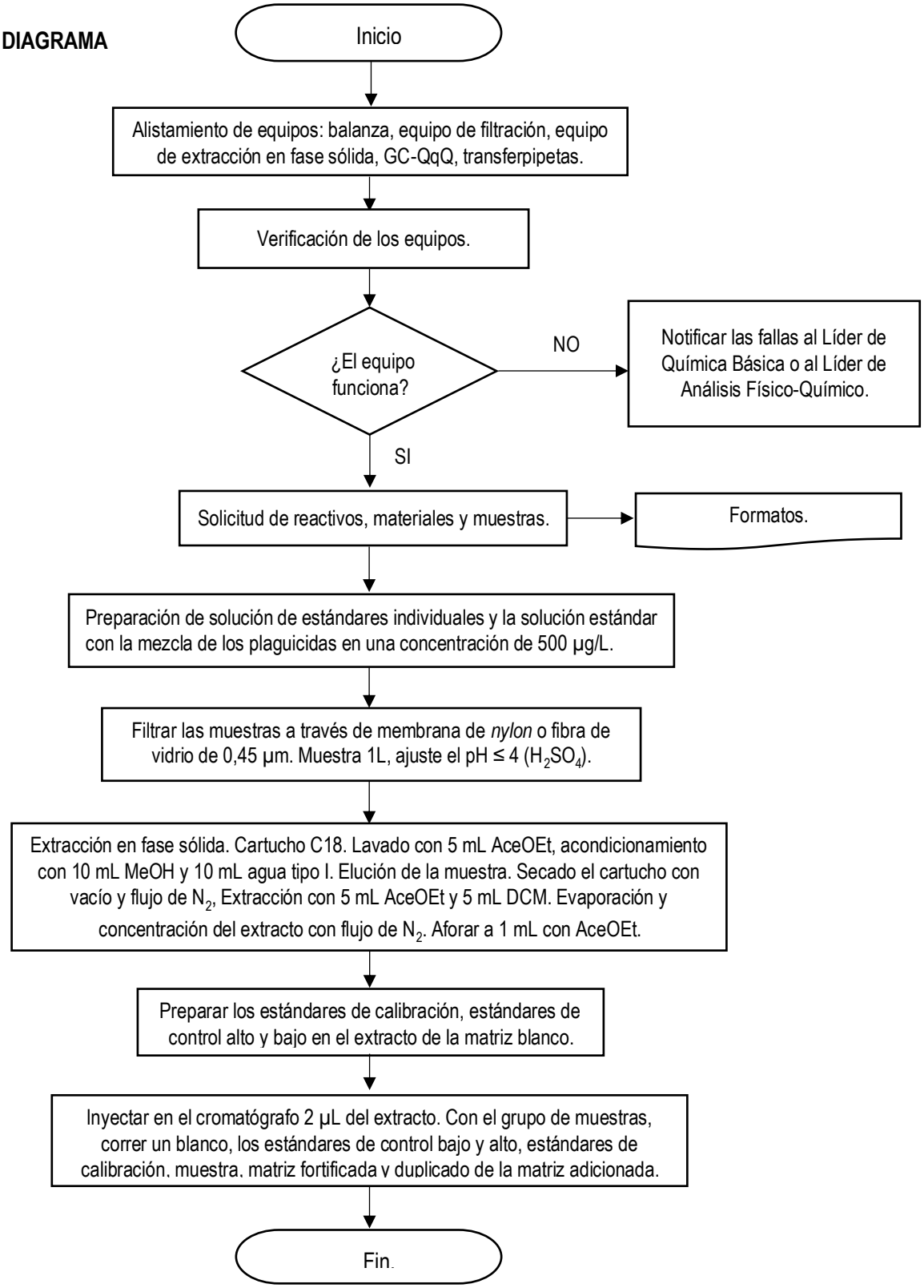
Una vez finalizado el análisis de resultados coloque el registro en la AZ de Cadena de control y vigilancia de formatos correspondiente al análisis, la cual es custodiada por el Líder Fisicoquímico.

Una vez el registro de los resultados es revisado por el Líder físico-Químico y el responsable de calidad, el analista deberá realizar la digitación en la base de datos del IDEAM.

9. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

- U.S. Environmental Protection Agency. Determination of organic compounds in drinking water by Liquid-Solid Extraction and Capillary column gas chromatography/mass spectrometry. Revision 1.0, Cincinnati, Ohaio. EPA 525.3 Method, 2012.
- Resolución Número 2115 del 22 Junio de 2007, Ministerio de la protección social Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial. Artículo 8 “Características químicas relacionadas con los plaguicidas y otras sustancias”. p. 4.
- Harris, D.C.; Quantitative Chemical Analysis, Eighth Edition, W. H. Freeman, EE. UU., 2010, p.p. 502-594.
- Miller, J.M.; McNair, H.M. Basic Gas Chromatography, John Wiley, Canada, 1997, p.p. 3-5.
- Decisión de la Comisión 2002/657/EC de 12 de agosto de 2002 por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados, Off.J.Eur.Communities, L221,17.08.2002,Bruselas, Bélgica, pp.0008–0036.
- Robles-Molina J.; Gilbert-López B.; García-Reyes J.F. ; Molina-Díaz A. Comparative evaluation of liquid–liquid extraction, solid-phase extraction and solid- phase micro extraction for the gas chromatography–mass spectrometry determination of multiclass priority organic contaminants in wastewater. Talanta, Talanta, 2013, 117, p.p. 382–391.
- Stashenko E.E.; Martínez J.R., (2010), GC-MS: Más de un Analizador de Masas, ¿para qué?, Scientia Chromatographica, 2(4), 25-48.
- Instructivo Lavado material de vidrio.
- Disposición final de residuos.
- Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio.
- Manual aseguramiento de calidad.
- Verificación y auditoria de datos analíticos.
- Lineamientos de control de calidad analítica.

10. DIAGRAMA


Inicio
Alistamiento de equipos: balanza, equipo de filtración, equipo de extracción en fase sólida, GC-QqQ, transferpipetas.
Verificación de los equipos.
¿El equipo funciona?
NO
Notificar las fallas al Líder de Química Básica o al Líder de Análisis Físico-Químico.
SI
Solicitud de reactivos, materiales y muestras.
Formatos.
Preparación de solución de estándares individuales y la solución estándar con la mezcla de los plaguicidas en una concentración de 500 µg/L.
Filtrar las muestras a través de membrana de *nylon* o fibra de vidrio de 0,45 µm. Muestra 1L, ajuste el pH ≤ 4 (H_2SO_4).
Extracción en fase sólida. Cartucho C18. Lavado con 5 mL AceOEt, acondicionamiento con 10 mL MeOH y 10 mL agua tipo I. Elución de la muestra. Secado el cartucho con vacío y flujo de N_2, Extracción con 5 mL AceOEt y 5 mL DCM. Evaporación y concentración del extracto con flujo de N_2. Aforar a 1 mL con AceOEt.
Preparar los estándares de calibración, estándares de control alto y bajo en el extracto de la matriz blanco.
Inyectar en el cromatógrafo 2 µL del extracto. Con el grupo de muestras, correr un blanco, los estándares de control bajo y alto, estándares de calibración, muestra, matriz fortificada y duplicado de la matriz adicionada.
Fin.

11. HISTORIAL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
01	30/11/2017	Creación del documento
02	21/10/2020	Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.

ELABORÓ:	REVISÓ:	APROBÓ:
Giohanna Katherine Santos Quitián Contratista Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	**Carlos M. Velásquez Martínez** Contratista Líder Técnico Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	**Nelson Omar Vargas Martínez** Subdirector de Hidrología