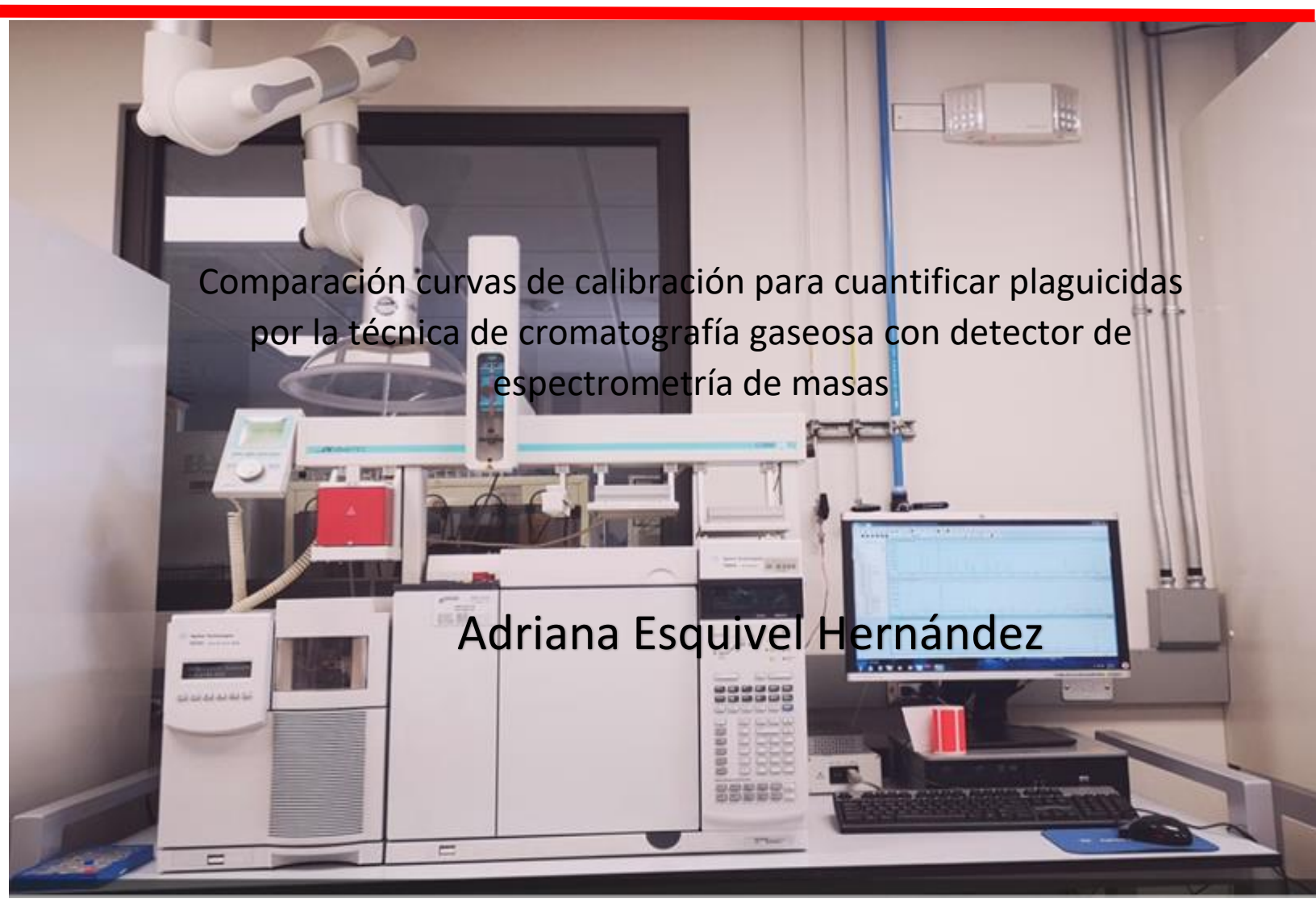


Serie Informes Técnicos IRET N°55

Heredia, Costa Rica, Abril 2024



Comparación curvas de calibración para cuantificar plaguicidas por la técnica de cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas

Adriana Esquivel Hernández



INFORME TÉCNICO

Comparación de curvas de calibración para cuantificar plaguicidas por la técnica de cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas.

Adriana Esquivel Hernández
adriana.esquivel.hernandez@una.cr

543.8

E77c

Esquivel Hernández, Adriana

Comparación de curvas de calibración para cuantificar plaguicidas por la técnica de cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas / Adriana Esquivel Hernández. -- 1 ed. -- Heredia, Costa Rica: IRET-UNA, 2024.

[42 páginas]: ilustraciones a color.

Publicado en la colección: Informes técnicos IRET, N° 55

ISBN 978-9968-924-55-9

1. CROMATOGRAFÍA 2. PLAGUICIDAS 3. LABORATORIOS DE ANÁLISIS
4. PRODUCTOS QUÍMICOS 5. ESPECTROMETRIA DE MASAS 6. ANÁLISIS QUÍMICO
7. CROMATOGRAFÍA DE GASES 8. CONTROL DE CALIDAD 9. CERTIFICACION
10. CALIBRACIÓN 11. SALUD PUBLICA

I. Esquivel Hernández, Adriana II. Título. III. UNA IV. IRET V. SALTRA. VI. Serie.

Referencia Bibliográfica

Esquivel Hernández, A. (2024). *Comparación de curvas de calibración para cuantificar plaguicidas por la técnica de cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas*. IRET-UNA.

Tabla de contenido

Introducción	4
Metodología	6
Resultados y discusión	7
Cuadro 1. Parámetros de las curvas de calibración obtenidas utilizando estándar interno.	25
Cuadro 2. Parámetros de las curvas de calibración obtenidas sin estándar interno.....	27
Cuadro 3. Límites de detección (LDO) y de cuantificación (LQO) calculados para cada plaguicida utilizando estándar interno y sin estándar interno.....	30
Cuadro 4. Resultados del análisis estadístico de la comparación entre pendientes utilizando estándar interno.....	32
Cuadro 5. Resultados del análisis estadístico de la comparación entre pendientes sin utilizar estándar interno.....	33
Conclusiones	35
Referencias bibliográficas	36
Anexo	37
Cuadro 6. Curva de calibración TOP02.....	37
Cuadro 7. Curva de calibración TOP03.....	39

Introducción

Los plaguicidas son compuestos químicos desarrollados para controlar plagas en la agricultura, pueden tener diferentes funciones como: insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, entre otros. Su presencia en el medio ambiente puede ser por aplicaciones agrícolas, liberaciones accidentales, residuos industriales, entre otras fuentes. (1)

Su uso extensivo puede tener efectos adversos en los ecosistemas acuáticos y terrestres (2,3,4), ya que pueden persistir en el suelo, el agua y el aire durante períodos prolongados y pueden bioacumularse a través de la cadena alimentaria.(2,3) Además, pueden provocar la mortalidad de diferentes especies, degradación de hábitats naturales, contaminación de fuentes de agua potable y alimentos(5,6), lo que podría llevar a la exposición humana y a la aparición de efectos adversos en la salud, como cáncer, trastornos hormonales, problemas reproductivos y daños neurológicos.(7,8)

La identificación y cuantificación de plaguicidas en muestras ambientales se realiza mediante técnicas analíticas avanzadas, como cromatografía de gases, cromatografía líquida y espectrometría de masas. Estas técnicas permiten la detección de plaguicidas a niveles trazas, lo que permite evaluar el cumplimiento de las regulaciones ambientales y agrícolas, así como para establecer límites seguros de exposición y mejorar las prácticas de gestión de plaguicidas.

La identificación y cuantificación de plaguicidas es un procedimiento meticuloso que se debe llevar a cabo en un laboratorio químico. Su inadecuada identificación y cuantificación pueden ocasionar enormes consecuencias legales, económicas y sociales.

Para poder llevar a cabo la identificación y cuantificación inequívoca de una sustancia se requiere de materiales de referencia certificados (MRC) de cada compuesto, algunas de las características que deben presentar están que tengan purezas mayores a 99%, ser estables, tener concentraciones exactamente conocidas, entre otros.

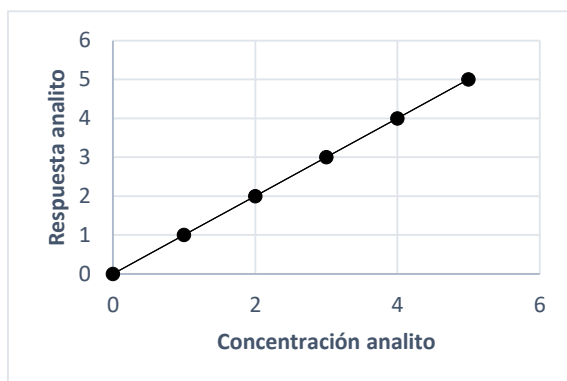
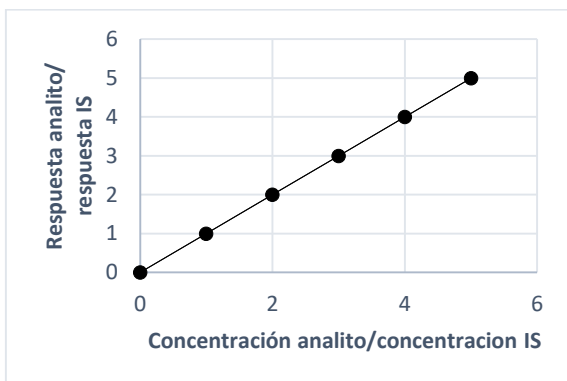
A partir de cada MRC se preparan disoluciones estándar de concentraciones conocidas que permiten el desarrollo de las curvas de calibración, estas disoluciones pueden estar en solución acuosa u orgánica, siendo que se puede utilizar gran variedad de solventes orgánicos dependiendo de la polaridad del analito a disolver y su estabilidad en el solvente escogido.

Los estándares internos (IS) también son MRC y son sustancias químicas que tienen la misma estructura química de ciertos analitos empero algunos o todos los hidrógenos presentes en el compuesto cambian el isótopo de protio, H_1^1 , por el isótopo de deuterio, H_1^2 . Estos estándares se añaden deliberadamente a todas las muestras, incluidas los estándares de calibración y las muestras de interés, antes o durante el proceso de análisis.

La función principal de los estándares internos es compensar las variaciones en el proceso de análisis, como las pérdidas durante la extracción, la derivatización o la ionización, así como las fluctuaciones en las condiciones experimentales, como la temperatura, el pH o la composición de la matriz. Al agregar una cantidad conocida de estándar interno a cada muestra, se puede corregir cualquier pérdida o variación que ocurra durante el análisis, lo que mejora la precisión y la fiabilidad de las mediciones. (9,10)

Además, los estándares internos también pueden ayudar a identificar y corregir posibles problemas durante el análisis, como la contaminación de las muestras o la presencia de interferencias. Si el IS muestra una recuperación anómala o una desviación significativa, puede indicar problemas en el procedimiento analítico que deben abordarse antes de continuar con el análisis de las muestras de interés.

Cuando se desarrollan curvas de calibración tomando en cuenta el estándar interno lo que se gráfica es una relación cuantitativa entre respuesta analito/respuesta estándar interno y concentración de analito/concentración de estándar interno, ver figura 1a. Las curvas de calibración sin estándar interno proporcionan una relación cuantitativa entre la concentración de analito y la respuesta instrumental (Figura 1b). En ambos casos se obtienen ecuaciones matemáticas que posteriormente se utilizan para determinar la concentración del analito de interés.



1a. Curva de calibración utilizando estándar interno

1b. Curva de calibración sin estándar interno

Figura 1. Gráficas de curvas de calibración por el 1a. Método de estándar interno y 1b. Sin estándar interno.

La estabilidad de las soluciones estándar garantiza la fiabilidad y precisión de los resultados analíticos. Cuando las soluciones estándar son estables, se minimiza la posibilidad de que ocurran cambios químicos o físicos en el tiempo que puedan alterar la concentración real de los plaguicidas objetivo. Esto es especialmente importante en el análisis de plaguicidas, donde incluso pequeñas variaciones en la concentración pueden tener un impacto significativo en la evaluación del riesgo para la salud pública y en la efectividad de las medidas de control.

Si las disoluciones estándar se llevan a cabo en solventes orgánicos se debe tener presente la susceptibilidad a la degradación química. Los plaguicidas, al ser compuestos químicos activos, pueden interactuar con el solvente y otros componentes de la solución estándar, lo que podría resultar en la formación de productos de degradación o en la adsorción a las superficies de los recipientes de almacenamiento.

Los MRC generalmente son costosos, tienen fecha de caducidad y se requiere uno por cada sustancia a analizar. Sin embargo, por la persistencia de los plaguicidas, si se da un buen almacenamiento de los mismos pueden mantenerse estables por años y se pueden seguir utilizando como estándares.

Para verificar lo anterior, se compararon las curvas de calibración de 62 plaguicidas realizadas a partir de una mezcla de disoluciones estándar preparada en el año 2021, y nuevas curvas de calibración preparadas a partir de esa misma mezcla de disoluciones estándar en el 2023. Para ello se realizó un análisis estadístico para determinar diferencias de las pendientes de las curvas de calibración utilizando el método de cuantificación con estándar interno y sin utilizar estándar interno. Además, se determinaron los límites de detección y cuantificación para cada plaguicida.

Metodología

Se prepararon disoluciones estándar de cada plaguicida a partir de MRC con purezas entre 99-100% con concentraciones entre 776-3195 µg/mL en diferentes solventes (acetona, metanol, isooctano, acetato de etilo, tolueno). Posteriormente se realizaron mezclas intermedias de las disoluciones estándar hasta obtener una mezcla con todos los plaguicidas a analizar con concentraciones entre 2-16 µg/mL en isooctano. A partir de esta última disolución se realizaron 6 niveles para el desarrollo de las curvas de calibración en solvente isooctano. Para las curvas preparadas en el año 2021 (TOP02) las concentraciones oscilan entre 45-474 ng/mL para el nivel menor, hasta 306-2620 ng/mL para el nivel mayor, ver anexo 1 cuadro 6. Para las curvas de calibración realizadas en el año 2023 (TOP03) las concentraciones oscilan entre 47-313 ng/mL para el nivel menor, hasta 379-2528 ng/mL para el nivel mayor, ver anexo 1, cuadro 7.

Se realizó un análisis por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas utilizando un cromatógrafo marca Agilent 7890A con detector Agilent 5975. Como gas portador se utilizó helio y la columna utilizada fue una SGE BPX35. La programación de la temperatura para la corrida cromatográfica fue la siguiente: 80°C por 1 minuto, aumentando a 25°C/min hasta 200°C mantenido por 4 minutos, posteriormente se aumentó 10°C/min hasta 260°C, mantenido por 6 minutos y por último se aumentó 30°C/min hasta 310°C mantenido por 8 min. La duración total de la corrida fue de 31.467 minutos. Se realizó una corrida simultánea en modo TIC (*Total Ion Chromatogram*) y SIM (*Selective Ion Monitoring*) utilizando los iones específicos de cada plaguicida.

Se analizó la integración de cada uno de los plaguicidas y la relación entre los iones cuantificador e iones cualificadores. Para la cuantificación con estándar interno se utilizó el clorpirifós D10 para todos los plaguicidas.

Se realizaron las curvas de calibración para todos los plaguicidas tanto para la curva TOP02, como TOP03. Se realizó una comparación gráfica de las pendientes de las curvas con y sin estándar interno y para cada uno de los niveles de las curvas para cada plaguicida se realizó las relaciones TOP02/TOP03 con estándar interno y sin estándar interno. Para calcular esas relaciones se estandarizaron los datos se tomaron las respuestas de cada plaguicida y se dividió entre la concentración de cada nivel.

Se calculó a partir de las curvas de calibración los límites de detección (LDO) y cuantificación (LQO) para cada plaguicida, utilizando las siguientes fórmulas:

$$LDO = \frac{\text{error típico de la curva} * 3,3 * 350}{\text{pendiente}}$$

$$LDO = \frac{\text{error típico de la curva} * 3,3 * X}{\text{pendiente}} \text{ Ec. 1}$$

$$LQO = \frac{\text{error típico de la curva} * 10 * X}{\text{pendiente}} \text{ Ec. 2}$$

X=- El valor promedio del estándar interno y solo se tomó en cuenta en las curvas calculadas con estándar interno, para la TOP02 ese valor fue de 364 ng/mL y para la TOP03 fue de 357ng/mL.

Además, se realizó un análisis estadístico de la regresión y el análisis de varianza, posteriormente se hizo una prueba de Fisher al 95% para determinar si las varianzas de las curvas tenían diferencias significativas y por último se realizó una prueba de t-student al 95% para determinar diferencias significativas entre pendientes de las curvas.

Para el análisis estadístico de la regresión y el análisis de varianza se realizó por medio del análisis de datos del software Excel. Para la prueba de Fisher se utilizó la siguiente fórmula:

$$F_{cal} = \frac{sb_1^2}{sb_2^2} > 1 \text{ Ec. 3}$$

Donde sb_x^2 = varianza de las pendientes, e, si el F_{cal} es menor al $F_{tabulado}$ al 95% las varianzas son homogéneas.

Para la prueba t-student al 95% si las varianzas fueron homogéneas se calculó como:

$$t_{cal} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{sb_1^2 + sb_2^2}} \text{ Ec. 4}$$

Donde b=pendientes

Si las varianzas fueron no homogéneas se utilizó la siguiente fórmula:

$$t_{cal} = \frac{t_1 * sb_1^2 + t_2 * sb_2^2}{sb_1^2 + sb_2^2} \text{ ecuación 5}$$

Donde t_1 y t_2 son datos tabulados para grados de libertad n-2

Si el $t_{cal} < t_{tab}$ las pendientes son estadísticamente similares.

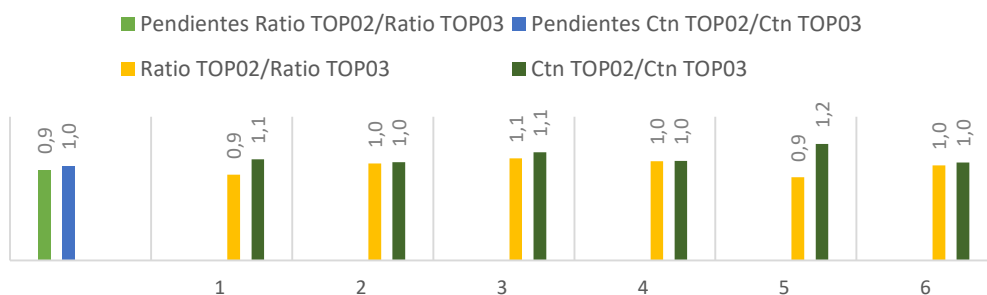
Resultados y discusión

Para realizar los gráficos en el cual se comparan las pendientes y cada uno de los niveles para cada plaguicida se estandarizaron los datos, para ello se tomó la respuesta de cada nivel y se dividió entre la concentración. Los valores que se indican como pendiente Ratio TOP02/Ratio TOP03 es la relación de las pendientes con estándar interno, las que aparecen como pendientes Ctn TOP02/ Ctn TOP03

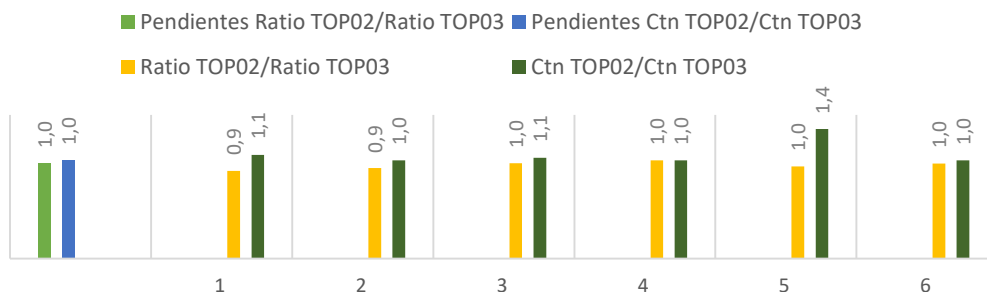
es la relación de las pendientes sin estándar interno, el Ratio TOP02/Ratio TOP03 es la relación de cada nivel con estándar interno y la Ctn TOP02/Ctn TOP03 es la relación de cada nivel sin estándar interno.

Estas relaciones en todos los casos deberían ser de 1 o próximo a la unidad. En aquellos casos que el valor es mayor a 1 es debido a que la TOP02 tuvo un aumento en la respuesta con respecto a la TOP03. Si por el contrario los valores son menores a 1 es porque la TOP03 tuvo una respuesta mayor con respecto a la TOP02.

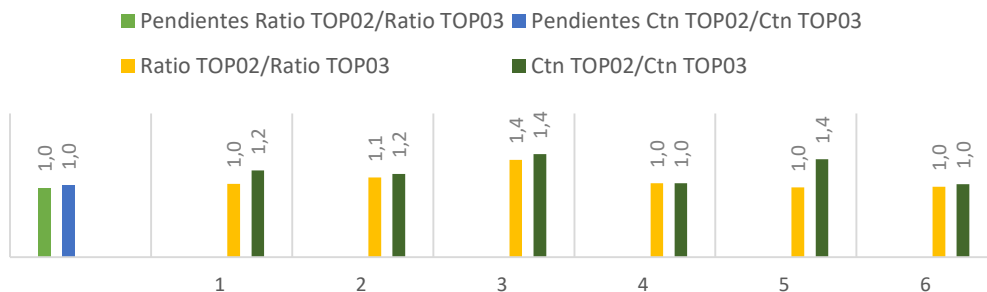
DICLOROANILINA 3,4



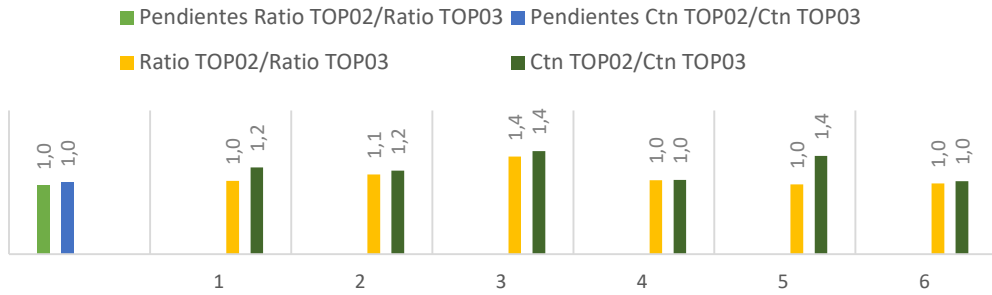
PENTACLOROBENCENO



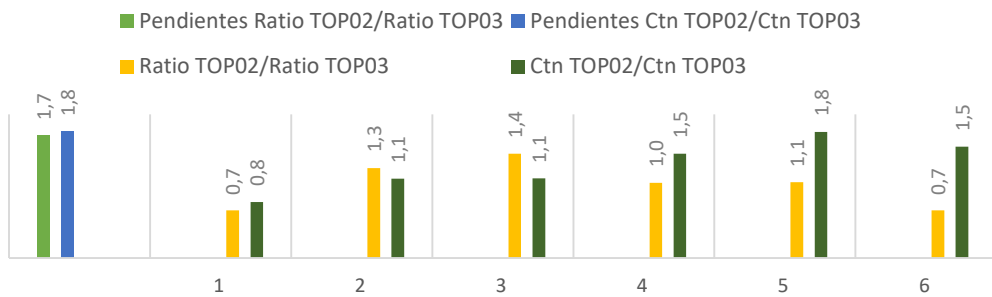
DEET



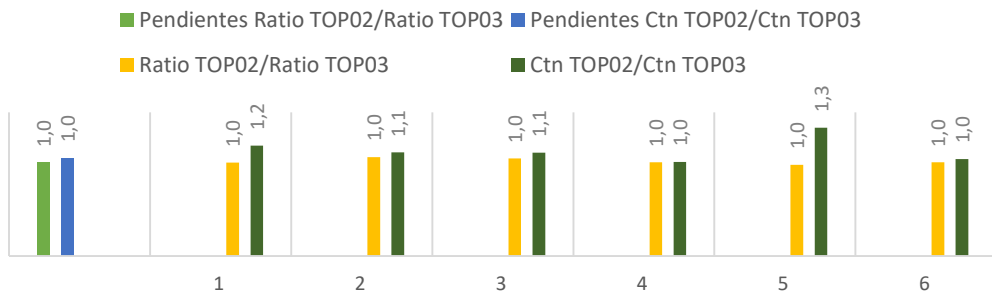
TECNACENO



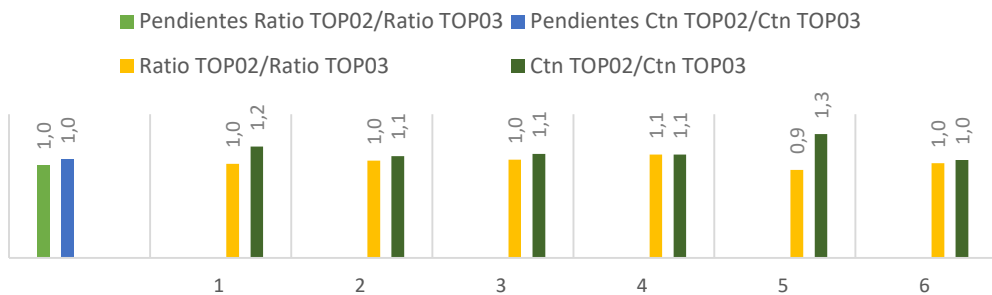
ETOPROFOS



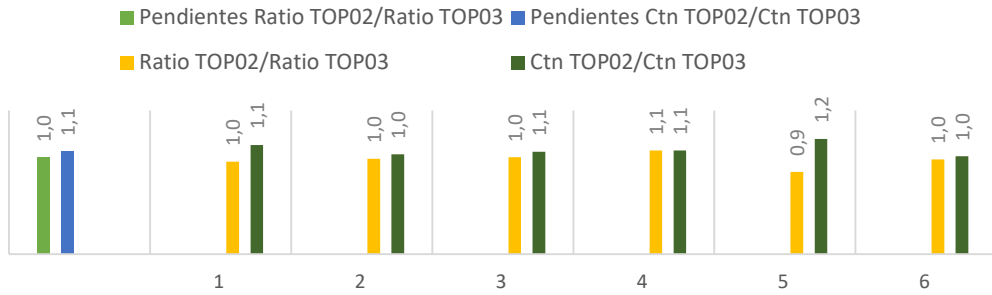
CADUSAFOS



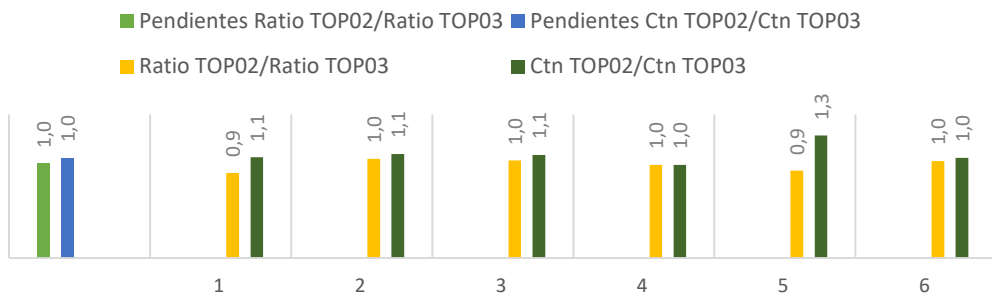
FORATO



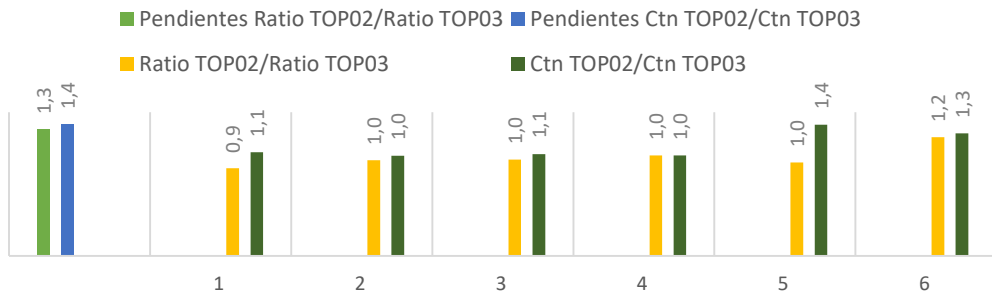
HCB



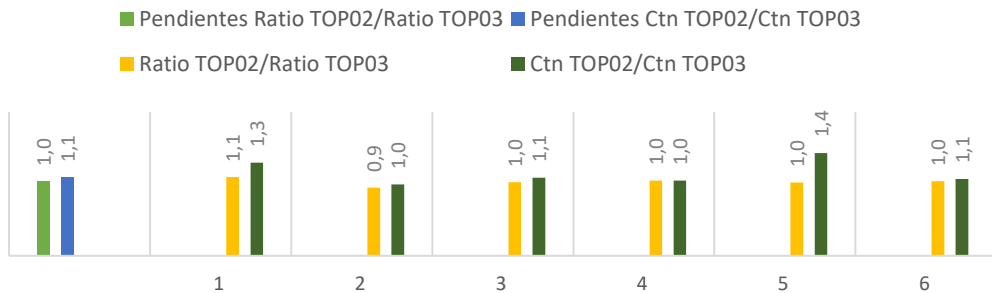
PENTACLOROANISOL



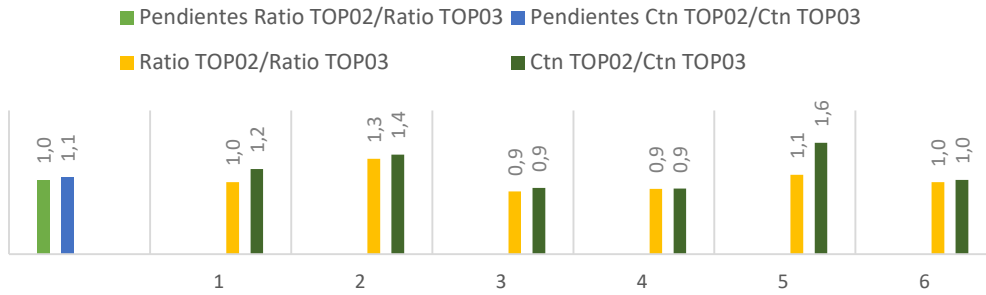
TERBUFOS



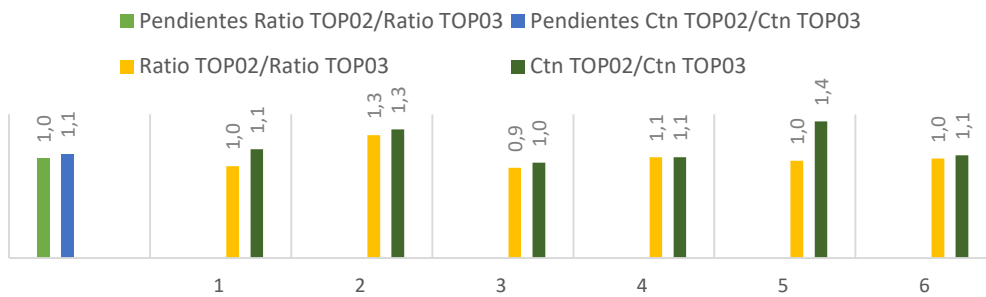
DIAZINON



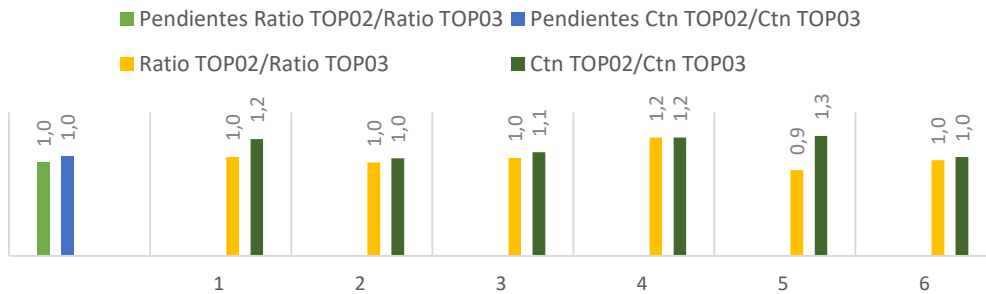
SPIROXAMINE I



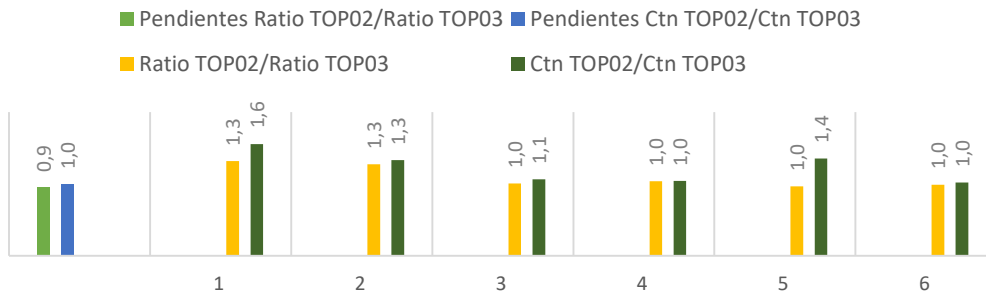
SPIROXAMINE II



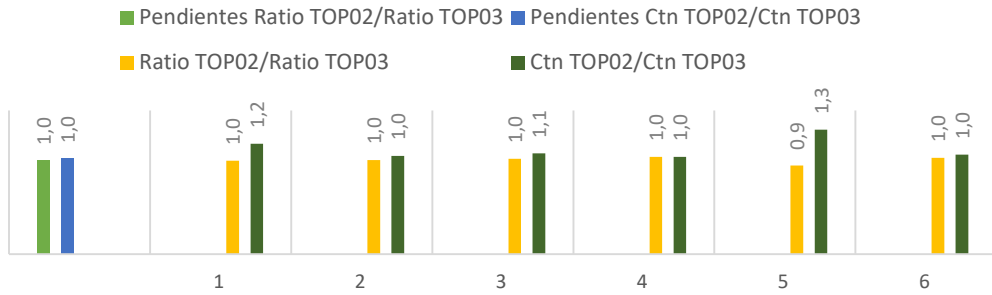
QUINTOCENO



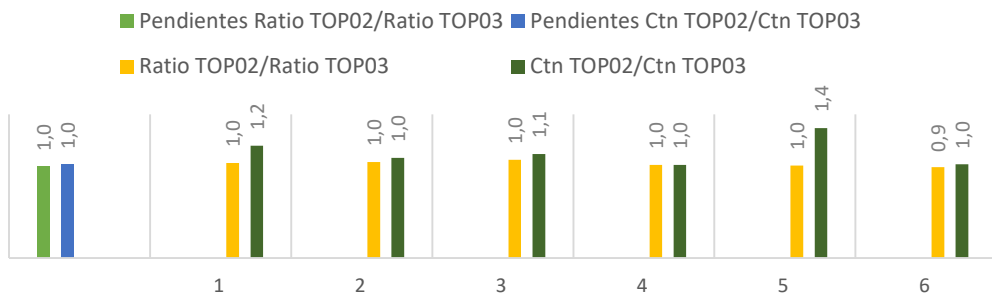
TERBUTILAZINA



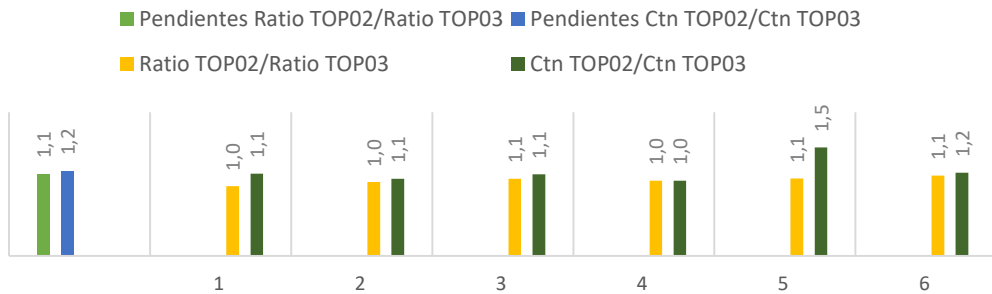
LINDANO



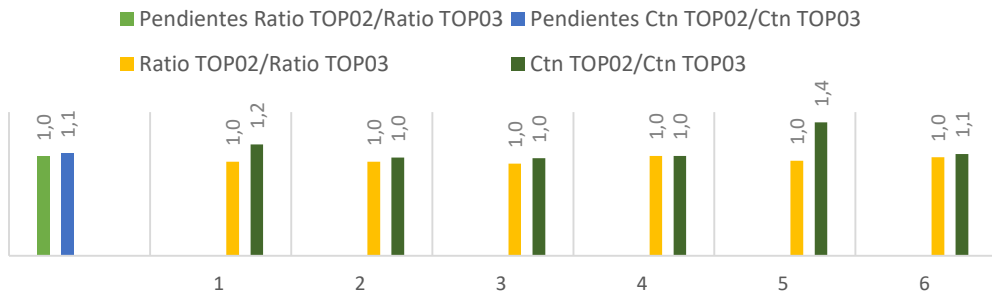
PIRIMETANIL



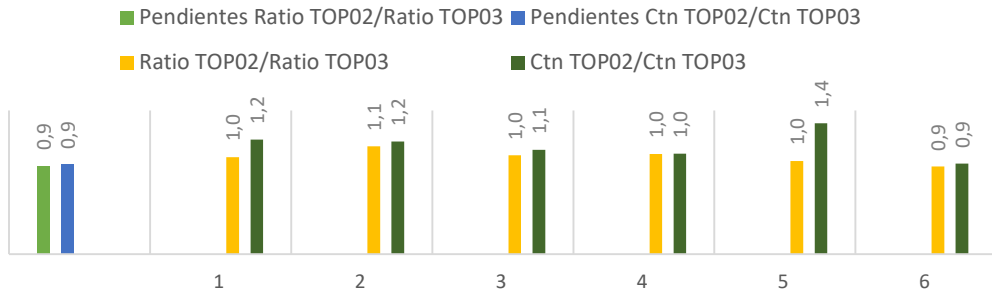
FENPROPIMORPH



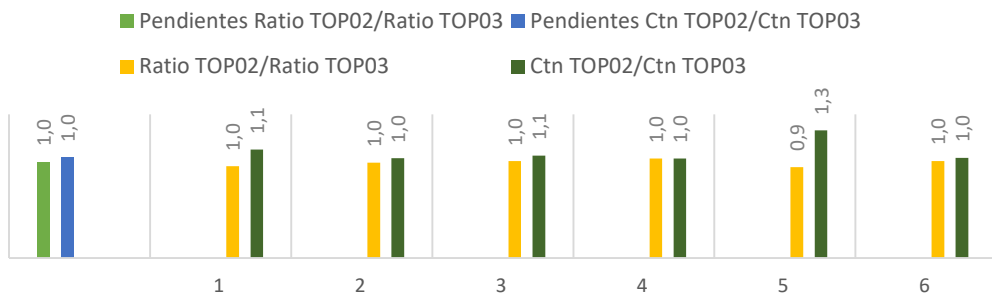
PENTAFLOROANILINA



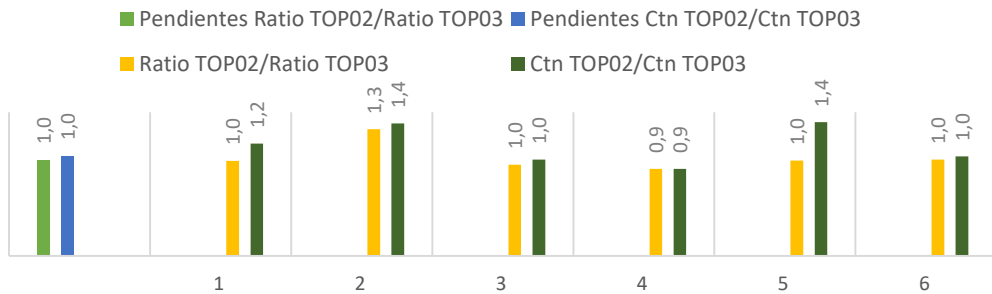
CLOROTALONIL



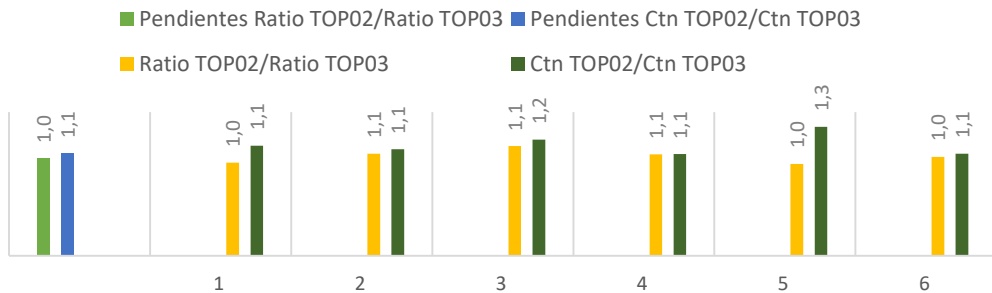
TOLCLOFOS METIL



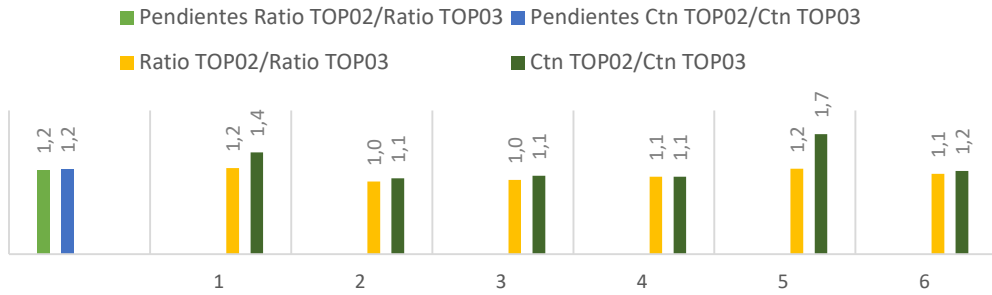
METALAXIL



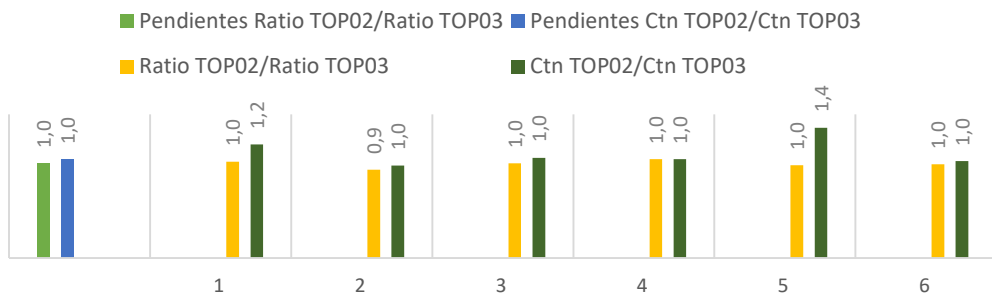
AMETRINA



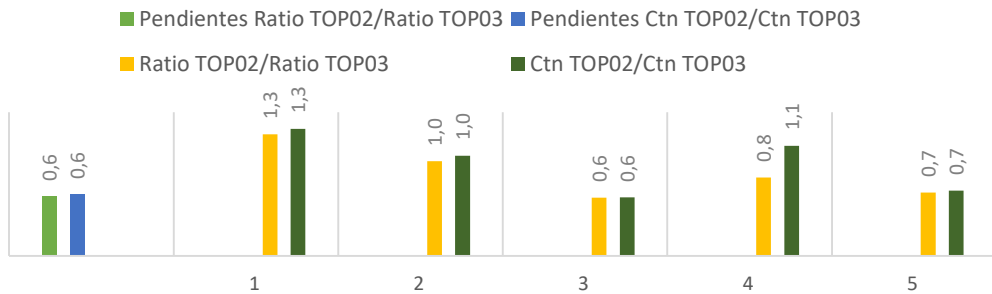
METIL PARATION



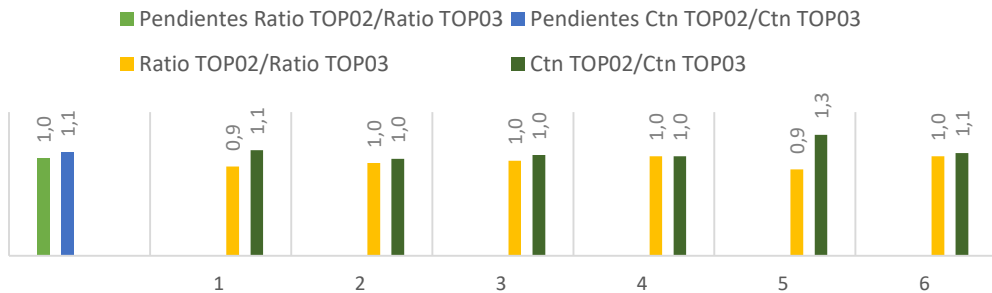
TERBUTRINA



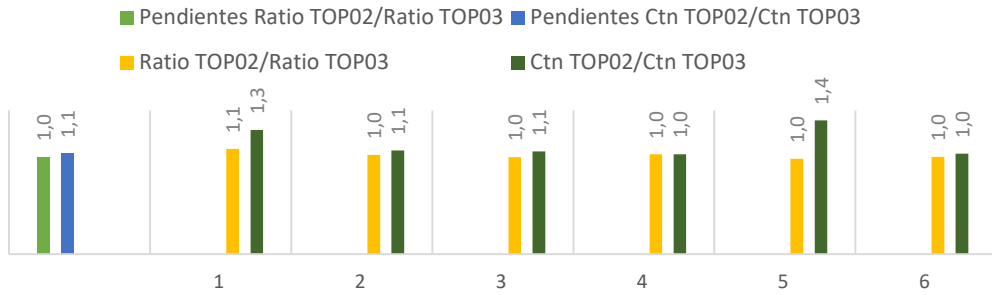
CAFEÍNA



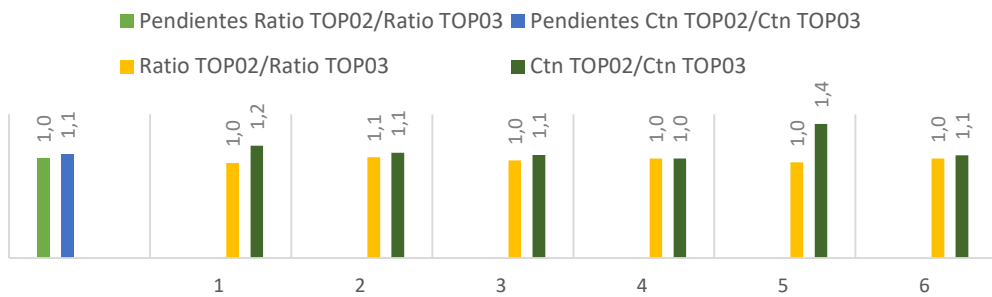
CLORPIRIFÓS



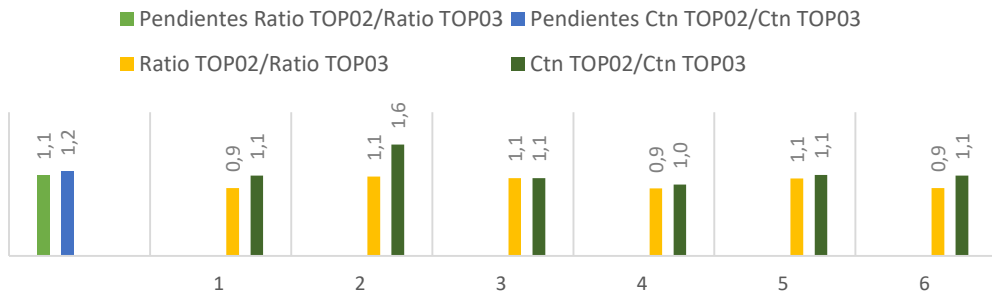
MALATION



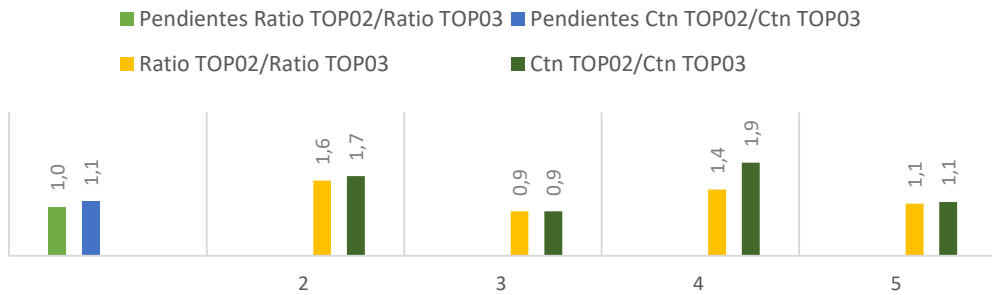
FENTION



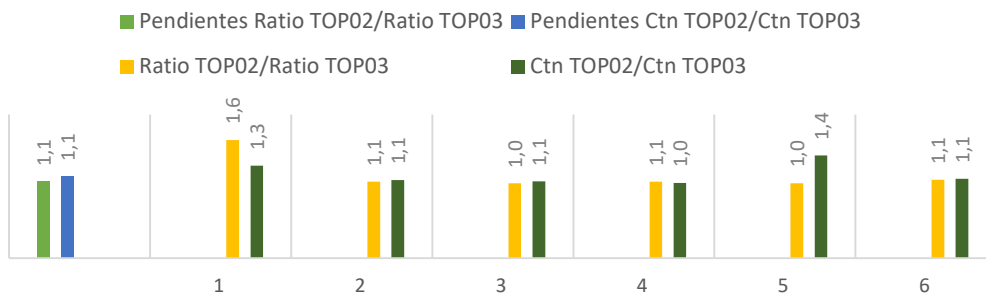
FLUOPRYRAM



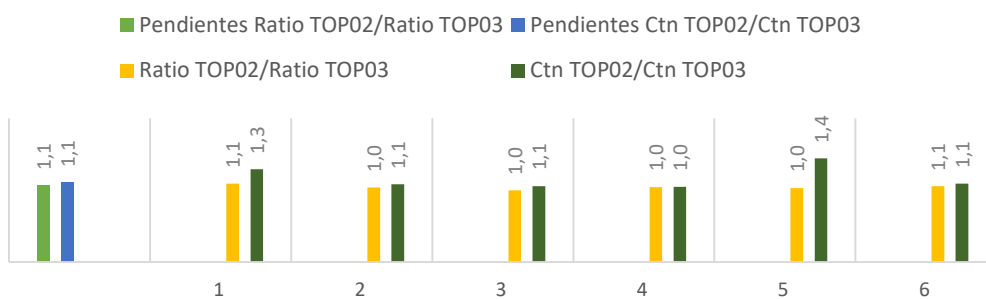
BROMACIL



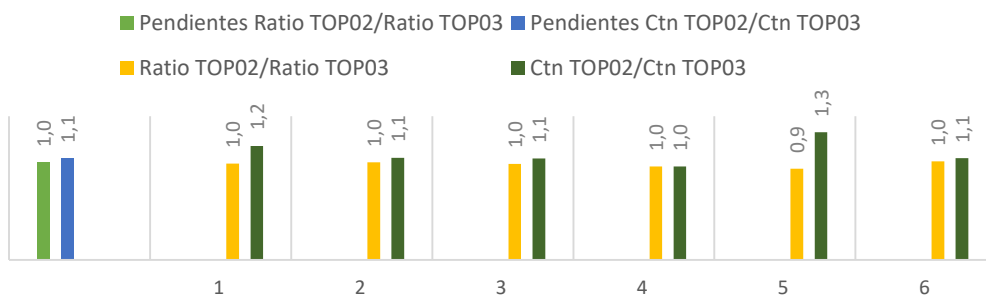
BUTACLORO



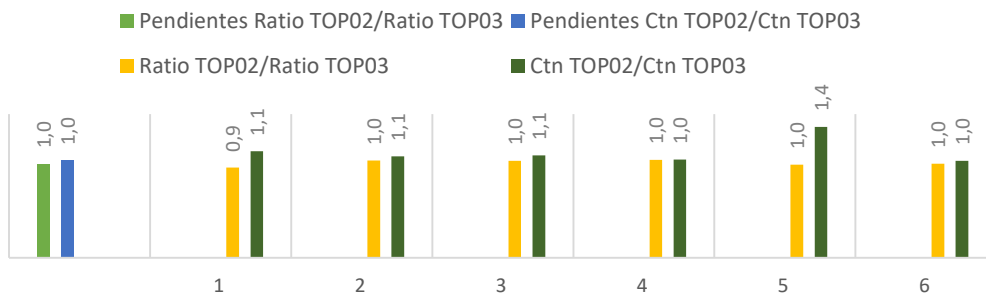
TERBUFOS SULFONE



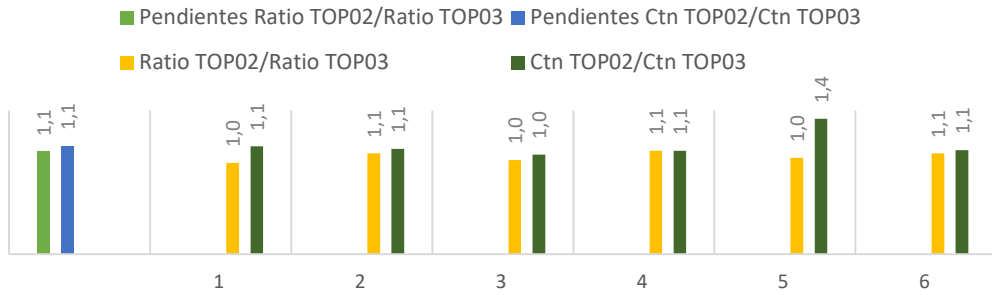
ENDOSULFAN-A



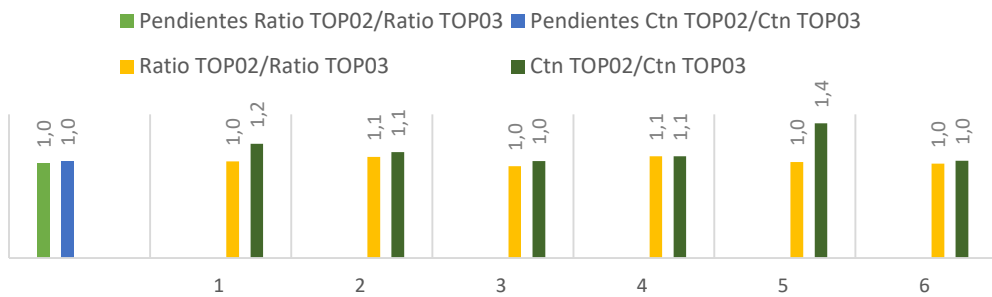
P.P DDE



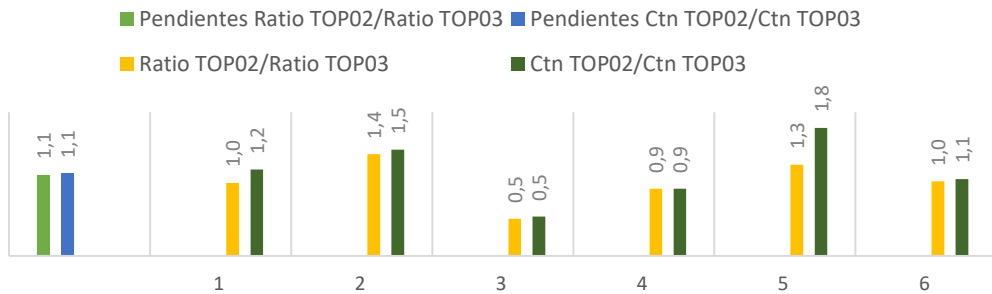
FLUTOLANIL



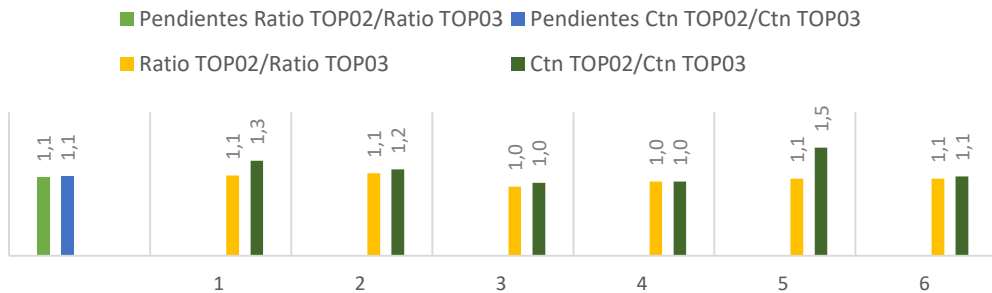
BUPROFEZIN



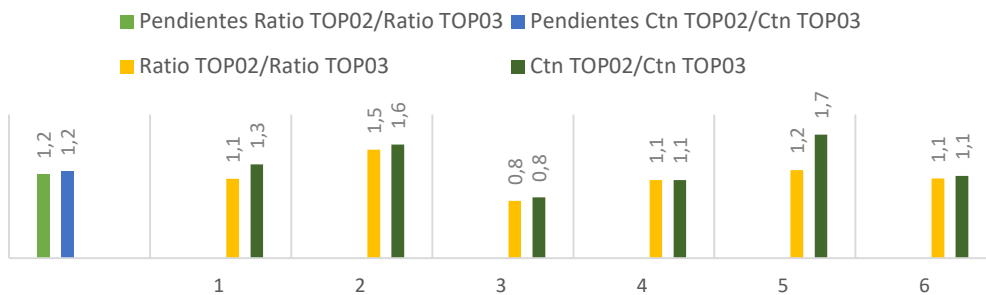
FENAMIFOS



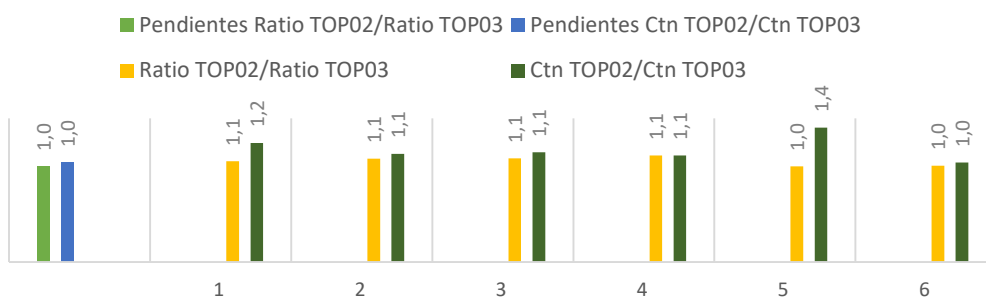
PROFENOFOS



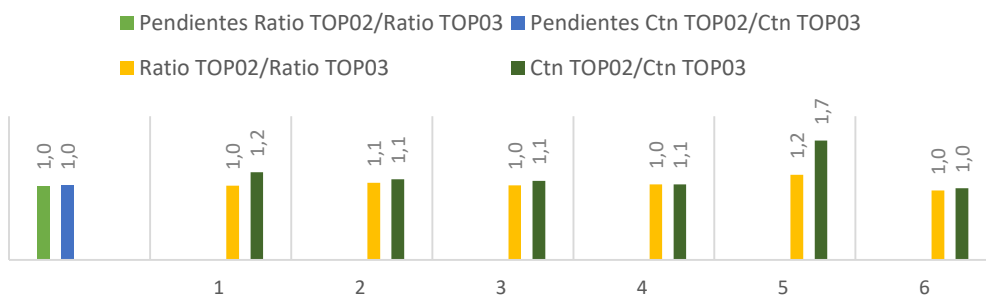
MICLOBUTANIL



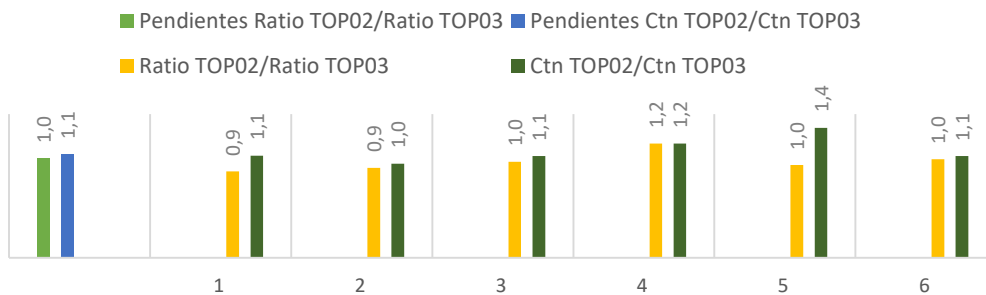
P.P DDD



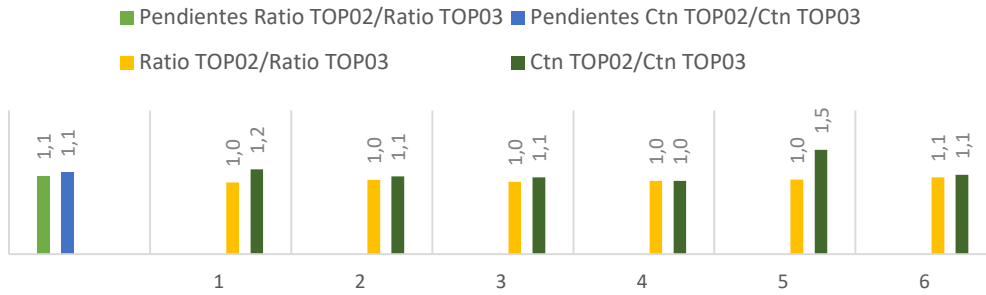
ETION



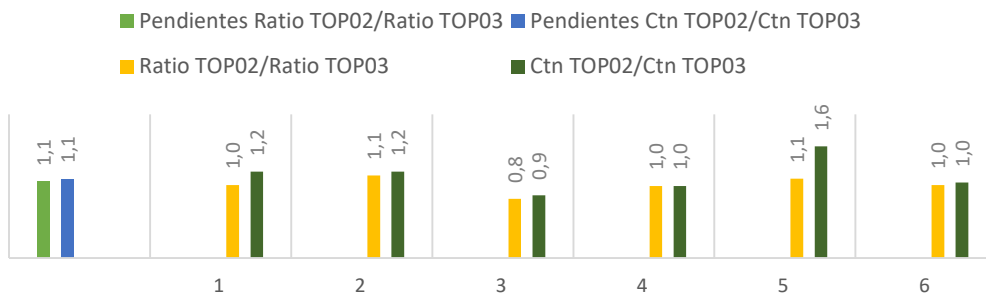
ENDOSULFAN-B



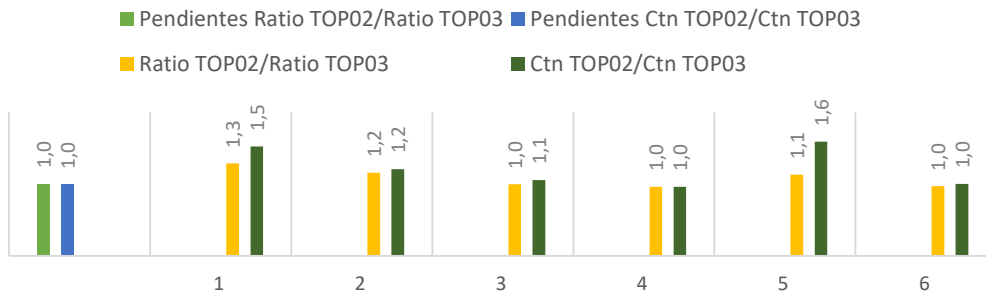
TRIFLOXISTROBINA



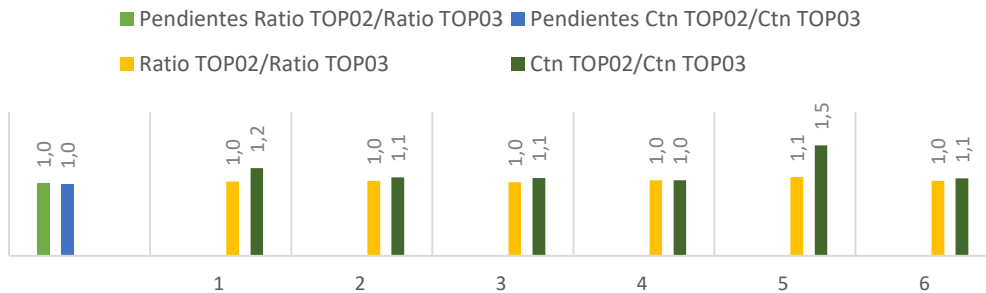
PROPICONAZOL I



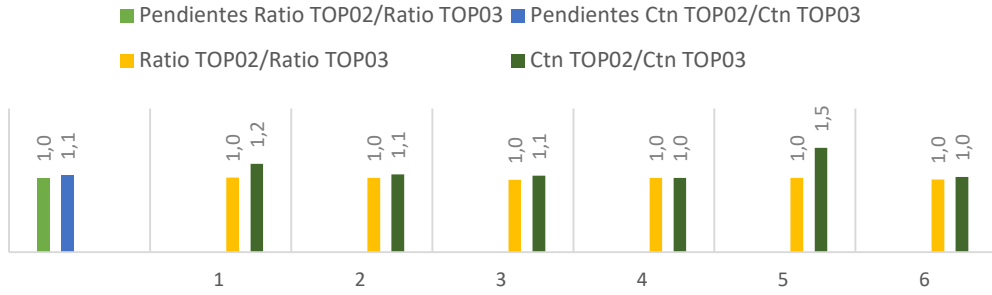
PROPICONAZOL II



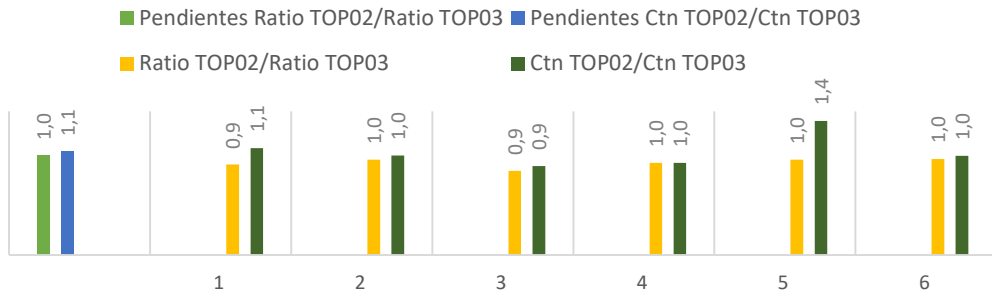
PIPERONIL BUTOXIDO



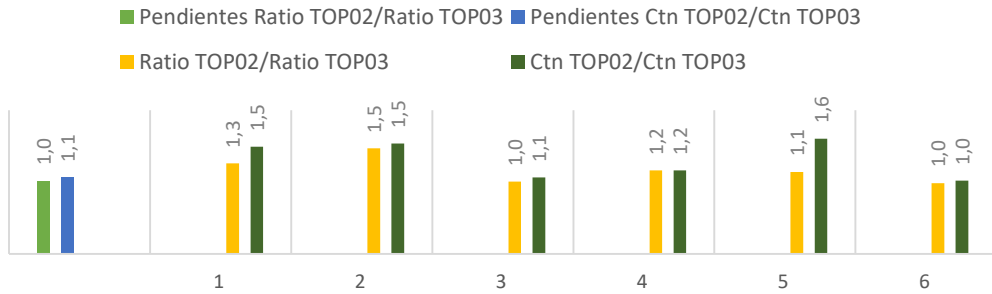
BIFENTRINA



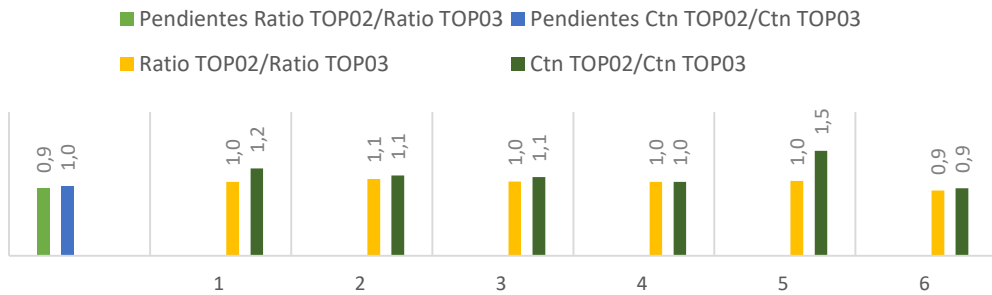
ENDOSULFAN SULFATO



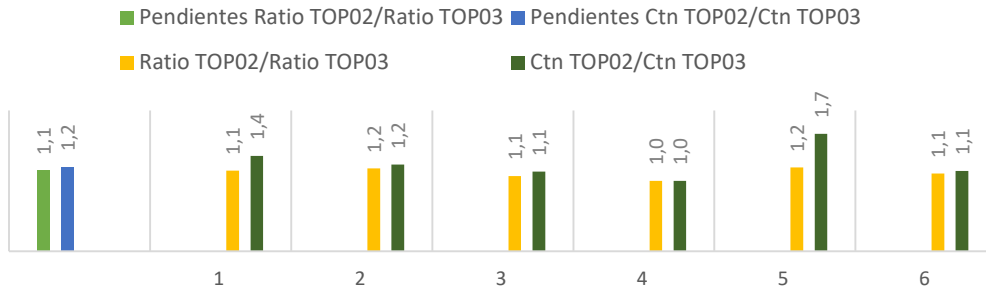
TEBUCONAZOL



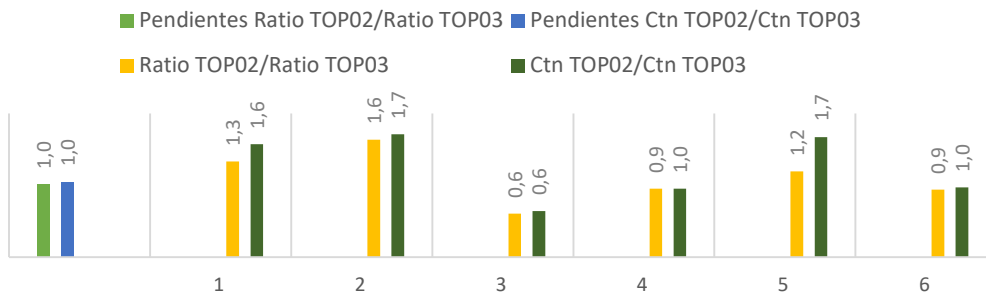
TRIAZOFOS



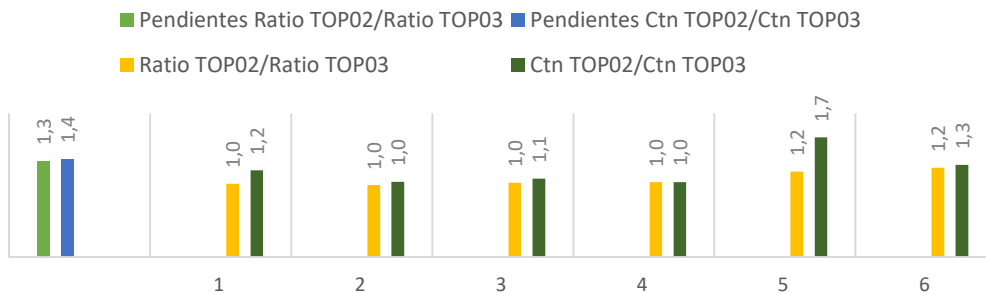
EPOXICONAZOL



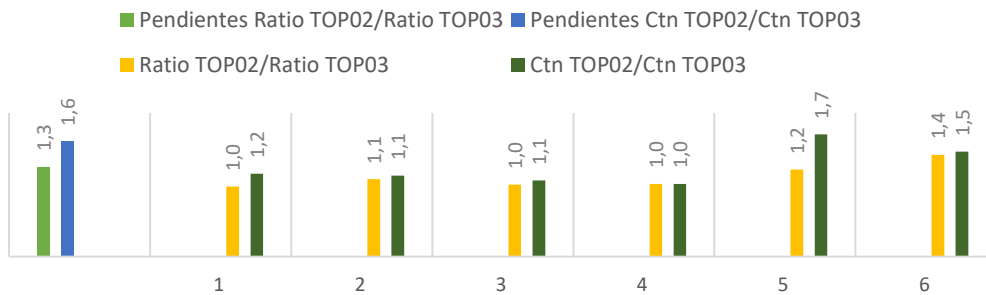
HEXAZINONA



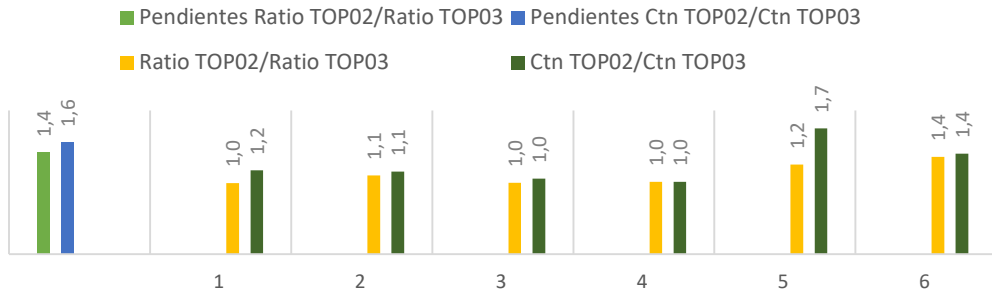
CIHALOTRINA



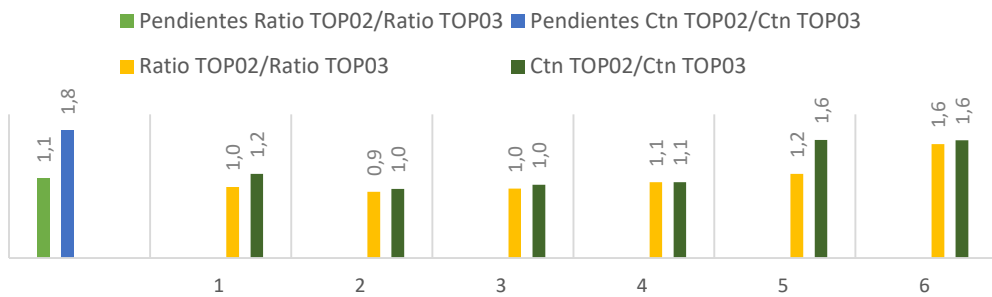
PERMETRINA I



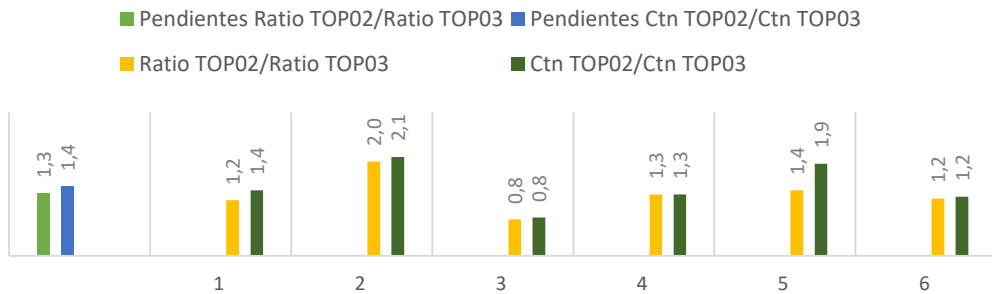
PERMETRINA II



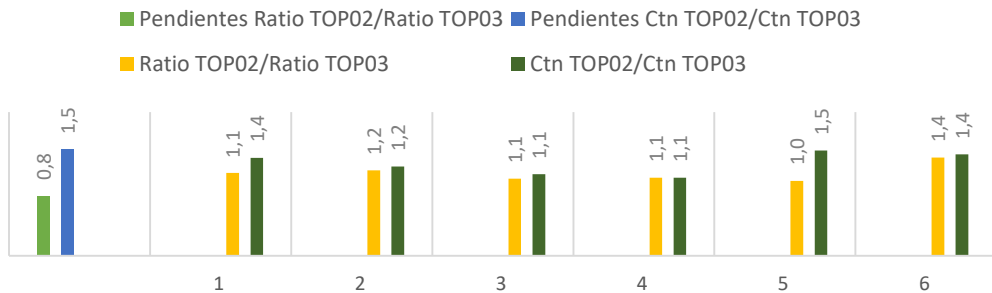
CIPERMETRINA I



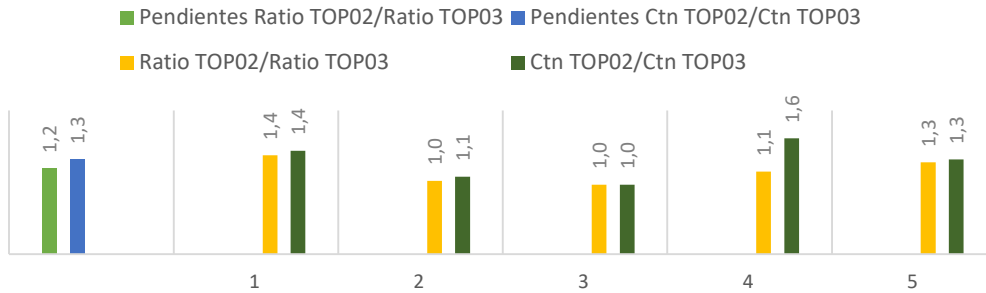
FENBUCONAZOL



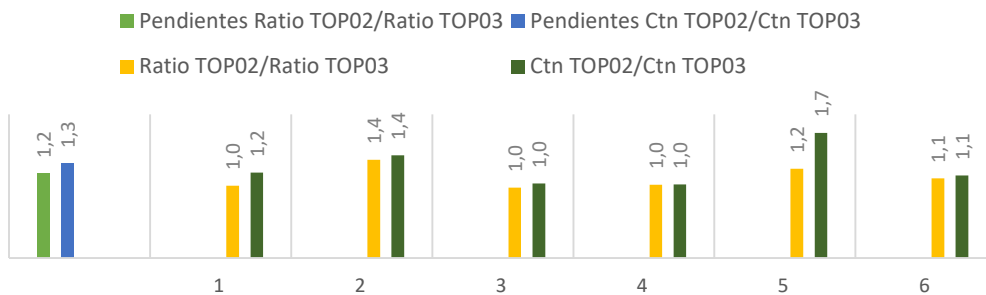
CIPERMETRINA II III IV



DELTAMETRINA



DIFENOCONAZOL



AZOXISTROBINA

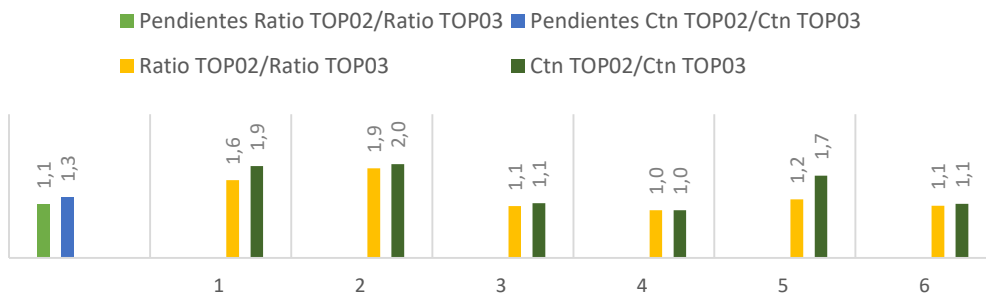


Figura 2. Comparación entre pendientes y cada uno de los niveles de las curvas de calibración de la TOP02 con respecto a la TOP03 utilizando estándar interno y sin estándar interno.

Para el etoprofos se puede observar que las pendientes son casi el doble del valor de 1, esto lo que indica es que la pendiente para la TOP02 tiene un valor casi del doble del valor de la TOP03, estos valores se pueden verificar en el cuadro 1 y cuadro 2, de esta variación lo que se determina es que, en la TOP02, hay un aumento en la respuesta en los niveles que, con respecto a la TOP03, es decir, que en la TOP02 ha pequeños cambios en la concentración, habrá mayor sensibilidad en la respuesta. Además, entre niveles existe variación, siendo que el nivel 1 indica que la TOP03 tuvo mayores respuestas que la TOP02, sin embargo, para el resto de los niveles aconteció lo contrario y estas variaciones son más notorias cuando se cuantifica sin estándar interno.

En el caso de la cafeína se dio un efecto inverso a lo ocurrido con el etoprofos, las pendientes son mayores en la TOP03 que con respecto a la TOP02, por lo que la TOP03 va a tener una mayor respuesta para cada una de las concentraciones de los niveles analizados, siendo más sensible la TOP03 que la curva TOP02.

En la cipermetrinas II, III y IV se observa que para las pendientes obtenidas utilizando estándar interno es de 0,8, mientras que las pendientes obtenidas sin estándar interno el valor es de 1,5, esto lo que indica es que el estándar interno está realizando una corrección entre las respuestas obtenidas y se puede concluir que para la TOP02 las respuestas son mayores que las respuestas de la TOP03, siendo más sensible la TOP02 sin estándar interno.

Para casi todos los plaguicidas, excepto el bromacil y fluopyram se puede observar que en el nivel 5, cuantificando sin estándar la respuesta de la TOP02 dio mayor a la TOP03. Por lo que este nivel, en este caso, se eliminó a la hora de realizar el análisis estadístico, ya que el coeficiente de ajuste mejoró para todos los plaguicidas. Además, en el caso del bromacil la respuesta en el nivel 1 no se pudo determinar ya que la señal fue muy baja.

Los plaguicidas que salen al final de la corrida cromatográfica (a partir de permetrina I) tienden a presentar una ecuación exponencial y no lineal, sin embargo, el coeficiente de determinación entre datos con estándar interno y sin estándar interno es similar, los valores fueron mayores a 0,94, por lo que se graficó la ecuación de la recta lineal, ya que lo que se quería determinar es la similitud entre pendientes.

En el cuadro 1 se presentan los parámetros de las curvas de calibración obtenidas utilizando estándar interno y sin estándar interno. Ratio TOP02 y Ratio TOP03 son los datos utilizados con estándar interno y los datos que aparecen como Ctn TOP02 y Ctn TOP03 son aquellos utilizados sin estándar interno. Estos datos fueron utilizados para realizar el análisis estadístico de las diferencias significativas entre las pendientes de las curvas, determinar límites de detección y límites de cuantificación.

Cuadro 1. Parámetros de las curvas de calibración obtenidas utilizando estándar interno.

Plaguicidas	Ratio Top02				Ratio Top03			
	Pendiente	Ordenada	Coeficiente	Error típico curva	Pendiente	Ordenada	Coeficiente	Error típico curva
Dicloroanilina	3,08	0,23	0,99	0,31	3,26	0,10	1,00	0,24
Pentaclorobenceno	3,83	0,10	1,00	0,09	3,87	0,12	1,00	0,08
DEET	6,95	-1,55	1,00	0,77	7,20	-2,42	1,00	1,00
Tecnaceno	1,17	-0,06	1,00	0,02	1,22	-0,11	0,99	0,04
Etoprofos	2,53	-0,45	0,99	0,11	1,48	-0,07	0,99	0,07
Cadusafos	2,94	-0,34	0,99	0,25	3,01	-0,37	0,99	0,24
Forato	3,64	-0,24	0,99	0,33	3,76	-0,35	0,99	0,25
HCB	3,49	0,02	1,00	0,04	3,46	-0,02	0,99	0,14
Pentacloroanisol	1,76	0,01	0,99	0,08	1,79	0,02	1,00	0,03
Terbufos	3,71	-0,50	0,99	0,21	2,81	-0,17	0,99	0,09
Diazinon	1,40	-0,09	0,99	0,09	1,35	-0,06	1,00	0,07
Spiroxamine I	3,28	-0,80	0,99	0,30	3,18	-0,70	0,98	0,34
Spiroxamine II	3,97	-0,95	0,99	0,26	3,81	-0,86	0,99	0,24
Quintozeno	0,76	-0,12	0,99	0,08	0,78	-0,14	0,99	0,09
Terbutilazina	2,37	-0,21	1,00	0,11	2,50	-0,41	1,00	0,12
Lindano	1,35	0,07	1,00	0,04	1,38	0,07	0,99	0,06
Pirimetanil	6,21	-0,50	1,00	0,05	6,53	-0,59	1,00	0,10
Fempropimorph	6,01	-0,65	0,99	0,24	5,28	-0,35	1,00	0,16
Pentacloroanilina	3,08	-0,06	1,00	0,08	2,98	-0,01	1,00	0,07
Clorotalonil	2,29	-0,30	1,00	0,03	2,49	-0,40	0,99	0,11
Tolclofos metil	6,23	-0,65	0,99	0,58	6,21	-0,57	1,00	0,26
Metalaxil	1,11	-0,13	0,99	0,05	1,11	-0,12	0,99	0,05
Ametrina	2,30	-0,27	0,99	0,09	2,27	-0,27	1,00	0,08
Metil paration	1,55	-0,47	0,99	0,12	1,33	-0,34	0,99	0,10
Terbutrina	2,21	-0,15	1,00	0,04	2,24	-0,14	0,00	0,04

Cafeina	1,34	-0,15	0,98	0,09	2,17	-0,50	0,98	0,15
Clorpirifós	1,13	-0,03	0,99	0,08	1,11	0,00	1,00	0,02
Malation	2,25	-0,36	1,00	0,11	2,22	-0,36	1,00	0,09
Fention	4,22	-0,75	1,00	0,28	4,07	-0,64	1,00	0,23
Fluopiram	3,42	-0,78	0,99	0,24	3,05	-0,57	0,98	0,27
Bromacil	0,14	-0,15	0,96	0,05	0,13	-0,19	0,92	0,07
Butacloro	2,62	-0,61	0,99	0,21	2,46	-0,62	1,00	0,09
Terbufos sulfone	2,13	-0,34	1,00	0,07	2,00	-0,27	1,00	0,05
Endosulfan-a	0,41	-0,04	0,99	0,02	0,40	-0,03	1,00	0,01
p.p DDE	3,14	-0,09	1,00	0,12	3,21	-0,13	1,00	0,12
Flutolanil	8,59	-2,03	0,99	0,68	8,04	-1,67	0,99	0,62
Buprofezin	1,93	-0,11	1,00	0,05	1,95	-0,13	1,00	0,03
Fenamifos	1,72	-1,08	0,96	0,39	1,53	-0,84	0,95	0,37
Profenofos	1,07	-0,22	1,00	0,04	0,99	-0,17	1,00	0,03
Miclobutanil	1,53	-0,70	0,98	0,23	1,31	-0,54	0,97	0,23
p.p DDD	5,76	-0,82	1,00	0,21	5,76	-0,99	1,00	0,29
Etion	2,96	-0,51	1,00	0,11	2,88	-0,52	0,98	0,21
Endosulfan-b	0,41	-0,04	0,99	0,03	0,39	-0,03	1,00	0,02
Trifloxistrobina	2,97	-0,91	0,99	0,30	2,74	-0,69	0,99	0,26
Propiconazol I	1,07	-0,47	0,99	0,13	1,00	-0,39	0,98	0,15
Propiconazol II	1,34	-0,40	1,00	0,07	1,34	-0,42	0,98	0,19
Piperonil butoxido	5,50	-1,07	0,99	0,26	5,10	-0,91	0,98	0,33
Bifentrina	8,58	-2,11	1,00	0,50	8,33	-1,92	0,99	0,68
Endosulfan sukfato	0,92	-0,09	1,00	0,03	0,90	-0,05	1,00	0,03
Tebuconazol	0,70	-0,36	0,99	0,09	0,69	-0,39	0,96	0,18
Triazofos	2,09	-0,50	1,00	0,06	2,24	-0,66	0,98	0,29
Epoxiconazol	1,77	-0,85	0,98	0,25	1,54	-0,67	0,97	0,27
Hexazinona	3,27	-1,98	0,96	0,67	3,23	-1,87	0,94	0,87
Cihalotrina	2,31	-0,70	0,98	0,25	1,73	-0,40	0,98	0,18

Permetrina I	1,03	-0,20	0,98	0,08	0,82	-0,09	0,99	0,03
Permetrina II	2,11	-0,71	0,94	0,34	1,50	-0,35	0,97	0,19
Cipermetrina I	0,27	-0,03	0,98	0,01	0,24	-0,02	0,99	0,01
Cipermetrina II III IV	0,73	-0,05	0,99	0,02	0,88	-0,12	0,98	0,05
Fenbuconazol	2,46	-0,89	0,96	0,29	1,90	-0,61	0,93	0,31
Deltametrina	0,58	-0,13	0,94	0,07	0,48	-0,11	0,99	0,03
Difenoconazol	2,84	-1,70	0,97	0,58	2,43	-1,33	0,95	0,63
Azoxistrobina	0,71	-0,37	0,96	0,14	0,63	-0,33	0,95	0,15

Cuadro 2. Parámetros de las curvas de calibración obtenidas sin estándar interno.

Plaguicidas	Ctn Top02				Ctn Top03			
	Pendiente	Ordenada	Coficiente	Error típico curva	Pendiente	Ordenada	Coficiente	Error típico curva
Dicloroanilina	249,45	-3909,01	1,00	3534,47	253,49	-8071,30	0,99	7588,17
Pentaclorobenceno	309,98	-2164,64	1,00	2089,27	302,10	-2200,80	1,00	2041,50
DEET	553,18	-89074,33	1,00	33665,88	553,70	-109174,12	1,00	26726,64
Tecnaceno	92,85	-2724,23	1,00	365,50	93,65	-3774,67	0,99	1310,86
Etoprofos	201,90	-14808,61	0,99	4099,01	114,75	-3954,89	0,99	1857,66
Cadusafos	237,34	-15026,70	0,99	7754,42	231,66	-15086,40	0,99	6432,72
Forato	297,23	-15878,87	1,00	5350,56	289,70	-17772,75	0,99	6785,11
HCB	288,55	-5835,54	0,99	6352,75	268,92	-6157,50	1,00	3400,14
Pentacloroanisol	145,09	-1958,45	1,00	1205,76	139,16	-1749,63	1,00	639,34
Terbufos	289,13	-16687,91	0,98	7032,46	216,47	-7738,78	0,99	2620,24
Diazinon	112,67	-5674,99	1,00	2150,53	104,04	-4899,66	1,00	1555,23
Spiroxamine I	258,33	-27247,54	0,98	11284,53	241,69	-23419,37	0,99	8873,32
Spiroxamine II	314,70	-32832,58	0,99	9300,15	290,06	-28675,25	0,99	7110,09
Quintozeno	62,05	-5022,32	1,00	1235,20	59,95	-5325,44	0,99	2325,32
Terbutilazina	189,43	-11081,21	1,00	3075,36	191,29	-15420,60	1,00	3048,90
Lindano	106,89	-252,53	1,00	512,88	107,33	-699,08	0,99	1851,81

Pirimetaniil	486,86	-20801,20	1,00	2278,58	499,46	-22902,55	1,00	3867,53
Fempropimorph	479,59	-26060,07	0,99	8623,07	406,48	-17055,81	1,00	4647,02
Pentacloroanilina	247,88	-4957,51	1,00	2609,18	231,52	-3907,05	1,00	1712,59
Clorotalonil	177,37	-10437,89	1,00	1451,29	189,36	-13048,67	1,00	3352,81
Tolclofos metil	503,30	-39296,10	1,00	9172,49	479,51	-36191,13	1,00	8332,85
Metalaxil	88,36	-4685,39	0,99	1793,78	84,74	-4289,47	0,99	1229,37
Ametrina	184,68	-10010,51	1,00	1675,04	173,08	-9475,30	0,99	2484,86
Metil paration	119,29	-14666,95	0,98	4698,57	100,71	-10781,83	0,99	3096,97
Terbutrina	175,87	-6244,68	1,00	886,30	171,38	-5805,91	1,00	1163,31
Cafeina	105,88	-5911,54	0,97	3403,79	165,30	-15074,04	0,98	3869,75
Clorpirifós	92,80	-2751,68	1,00	799,00	86,09	-1967,32	1,00	437,70
Malation	179,43	-14619,73	1,00	3483,95	170,40	-13885,54	1,00	2956,51
Fention	337,84	-30533,61	1,00	8638,55	312,04	-26208,41	1,00	6807,98
Fluopiram	272,19	-25481,94	0,99	8290,25	232,57	-18708,37	0,98	7326,53
Bromacil	11,48	-4752,27	0,96	1561,41	10,18	-5537,42	0,92	1889,27
Butacloro	213,50	-24949,81	1,00	5017,78	187,29	-18070,18	1,00	3969,60
Terbufos sulfone	169,10	-12640,90	1,00	2688,09	153,03	-10127,22	1,00	1713,62
Endosulfan-a	32,87	-1691,27	0,99	772,62	31,02	-1439,31	1,00	401,29
p.p DDE	252,17	-8268,82	1,00	2286,50	247,99	-9150,32	1,00	3004,62
Flutolanil	690,56	-67323,34	0,99	18569,42	611,49	-53534,84	0,99	17579,69
Buprofezin	151,22	-6171,86	1,00	1370,62	149,96	-6916,86	1,00	1194,59
Fenamifos	132,03	-31286,27	0,97	13388,69	114,88	-23772,58	0,95	10078,70
Profenofos	83,11	-7451,77	1,00	2045,11	75,33	-6061,82	1,00	1130,30
Miclobutanil	119,86	-21244,38	0,98	8038,98	99,19	-15794,93	0,97	6238,95
p.p DDD	457,88	-33236,21	1,00	5279,96	440,88	-35928,81	0,99	9237,04
Etion	226,41	-16306,28	0,99	3898,56	218,63	-16017,85	0,98	5882,42
Endosulfan-b	32,78	-1792,32	1,00	485,31	30,38	-1564,50	0,99	616,77
Trifloxistrobina	237,63	-30961,80	0,99	9432,70	208,85	-23552,29	0,99	7270,58
Propiconazol I	83,64	-14585,97	0,99	4862,86	75,99	-11770,87	0,98	4175,36

Propiconazol II	104,68	-13539,54	1,00	3521,89	105,77	-14219,86	0,99	3389,20
Piperonil butoxido	430,77	-33707,03	0,99	10006,32	386,12	-27783,96	0,98	9324,29
Bifentrina	679,61	-76304,25	1,00	19009,09	635,96	-67959,37	0,99	19244,88
Endosulfan sukfato	72,91	-3646,90	1,00	1156,21	68,92	-2716,83	1,00	713,63
Tebuconazol	55,12	-11384,08	0,99	3383,86	51,79	-11477,27	0,96	4835,79
Triazofos	163,31	-17841,31	1,00	3513,53	170,22	-21404,81	0,98	7873,81
Epoxiconazol	139,20	-25718,29	0,97	8904,26	116,03	-19511,75	0,97	7445,73
Hexazinona	253,31	-58130,20	0,95	23373,44	242,23	-52264,76	0,94	23585,74
Cihalotrina	178,54	-21052,65	0,97	8000,38	130,97	-12352,93	0,98	4841,13
Permetrina I	126,06	-16026,10	0,96	6534,94	78,47	-7019,04	0,97	3438,38
Permetrina II	176,73	-22708,30	0,98	9191,30	113,58	-10932,59	0,98	5102,00
Cipermetrina I	33,20	-2692,55	0,96	1047,76	18,74	-843,93	0,99	304,11
Cipermetrina II III IV	99,00	-7374,05	0,97	2874,51	67,10	-3800,93	0,98	1375,95
Fenbuconazol	205,87	-27414,01	0,98	9194,36	142,90	-17202,41	0,97	8313,63
Deltametrina	48,59	-4188,96	0,95	1891,83	36,88	-3419,17	0,99	744,05
Difenoconazol	239,19	-53793,95	0,95	21973,26	182,83	-37969,33	0,95	17029,48
Azoxistrobina	59,37	-11671,79	0,98	4751,65	47,33	-9238,03	0,97	4172,48

En el cuadro 3 se presentan los límites de detección (LDO) y de cuantificación (LQD) calculados para cada plaguicida utilizando estándar interno y sin estándar interno.

Cuadro 3. Límites de detección (LDO) y de cuantificación (LQO) calculados para cada plaguicida utilizando estándar interno y sin estándar interno.

Plaguicida	Ratio Top02		Ratio Top03		Ctn Top02		Ctn Top03	
	LDO	LQO	LDO	LQO	LDO	LQO	LDO	LQO
Dicloroanilina	120,70	365,75	85,76	259,89	46,76	141,69	98,79	299,35
Pentaclorobenceno	27,25	82,59	22,89	69,37	22,24	67,40	22,30	67,58
DEET	133,36	404,13	163,33	494,93	200,83	608,59	159,29	482,69
Tecnaceno	17,57	53,23	42,23	127,98	12,99	39,36	46,19	139,98
Etoprofos	52,47	159,00	57,81	175,17	67,00	203,02	53,42	161,89
Cadusafos	103,73	314,35	92,57	280,52	107,82	326,72	91,63	277,68
Forato	109,10	330,62	77,63	235,23	59,41	180,02	77,29	234,21
HCB	13,20	40,01	46,50	140,91	72,65	220,16	41,72	126,44
Pentacloroanisol	54,24	164,38	16,67	50,53	27,42	83,10	15,16	45,94
Terbufos	67,28	203,88	38,33	116,16	80,27	243,23	39,95	121,05
Diazinon	75,80	229,70	60,38	182,98	62,99	190,87	49,33	149,48
Spiroxamine I	111,49	337,86	126,03	381,90	144,15	436,82	121,16	367,14
Spiroxamine II	77,87	235,96	73,56	222,92	97,52	295,52	80,89	245,13
Quintozeno	120,63	365,56	128,67	389,92	65,69	199,06	127,99	387,85
Terbutilazina	54,85	166,22	54,59	165,43	53,58	162,35	52,60	159,39
Lindano	33,30	100,90	55,05	166,82	15,83	47,98	56,93	172,53
Pirimetanil	8,76	26,56	17,37	52,64	15,44	46,80	25,55	77,43
Fempropimorph	48,91	148,23	34,84	105,57	59,33	179,80	37,73	114,32
Pentacloroanilina	31,28	94,78	28,06	85,04	34,74	105,26	24,41	73,97
Clorotalonil	15,83	47,96	50,58	153,29	27,00	81,82	58,43	177,06
Tolclofos metil	111,83	338,89	49,75	150,75	60,14	182,25	57,35	173,78
Metalaxil	52,36	158,66	48,47	146,89	66,99	203,01	47,87	145,07
Ametrina	47,46	143,83	40,70	123,32	29,93	90,70	47,38	143,57
Metil paration	92,91	281,55	90,34	273,74	129,98	393,88	101,48	307,50
Terbutrina	24,28	73,56	21,20	64,25	16,63	50,39	22,40	67,88
Cafeina	81,31	246,38	82,66	250,49	106,09	321,49	77,25	234,11
Clorpirifós	82,99	251,50	21,26	64,43	28,41	86,10	16,78	50,84
Malation	57,11	173,05	49,65	150,45	64,07	194,16	57,26	173,50
Fention	80,36	243,52	65,37	198,09	84,38	255,70	72,00	218,17
Fluopiram	85,46	258,97	103,70	314,23	100,51	304,58	103,96	315,03
Bromacil	449,74	1362,84	643,79	1950,87	448,88	1360,24	612,44	1855,86
Butacloro	96,37	292,03	45,28	137,21	77,56	235,02	69,94	211,95
Terbufos sulfone	42,18	127,82	31,80	96,37	52,46	158,97	36,95	111,98
Endosulfan-a	73,40	222,41	36,68	111,14	77,58	235,09	42,69	129,36
p.p DDE	44,11	133,67	42,42	128,53	29,92	90,67	39,98	121,16

Flutolanil	95,37	288,99	90,77	275,06	88,74	268,91	94,87	287,49
Buprofezin	30,97	93,84	18,63	56,45	29,91	90,64	26,29	79,66
Fenamifos	270,46	819,56	282,55	856,20	334,64	1014,07	289,52	877,33
Profenofos	50,10	151,81	35,55	107,72	81,21	246,08	49,51	150,04
Miclobutanil	177,09	536,63	204,96	621,09	221,33	670,70	207,57	629,01
p.p DDD	43,22	130,96	59,88	181,45	38,05	115,31	69,14	209,51
Etion	42,86	129,89	87,15	264,08	56,82	172,19	88,79	269,06
Endosulfan-b	76,88	232,96	61,51	186,40	48,86	148,07	67,00	203,04
Trifloxistrobina	121,75	368,95	110,41	334,58	130,99	396,95	114,88	348,13
Propiconazol I	145,82	441,87	176,07	533,54	191,86	581,39	181,33	549,48
Propiconazol II	65,18	197,53	167,67	508,09	111,02	336,44	105,74	320,42
Piperonil butoxido	56,81	172,15	75,19	227,84	76,65	232,29	79,69	241,48
Bifentrina	70,69	214,22	95,63	289,79	92,30	279,70	99,86	302,61
Endosulfan sukfato	39,58	119,94	40,26	122,01	52,33	158,57	34,17	103,54
Tebuconazol	162,31	491,86	303,42	919,45	202,60	613,94	308,12	933,70
Triazofos	34,76	105,33	150,80	456,98	71,00	215,14	152,65	462,57
Epoxiconazol	171,17	518,70	206,08	624,49	211,09	639,66	211,77	641,73
Hexazinona	245,64	744,37	315,52	956,13	304,49	922,71	321,32	973,71
Cihalotrina	130,58	395,69	119,39	361,77	147,87	448,10	121,98	369,63
Permetrina I	93,45	283,17	45,85	138,94	171,07	518,40	144,59	438,16
Permetrina II	195,34	591,95	148,54	450,12	171,62	520,07	148,24	449,21
Cipermetrina I	53,85	163,18	53,14	161,04	104,13	315,56	53,55	162,26
Cipermetrina II III IV	27,87	84,45	65,73	199,19	95,81	290,34	67,67	205,07
Fenbuconazol	139,42	422,47	189,83	575,26	147,38	446,61	191,99	581,78
Deltametrina	143,77	435,66	70,11	212,44	128,50	389,38	66,58	201,76
Difenoconazol	245,09	742,69	303,49	919,65	303,15	918,63	307,38	931,44
Azoxistrobina	243,37	737,49	285,55	865,31	264,14	800,41	290,90	881,53

Los límites de detección son valores que indican a partir de que concentración un plaguicida puede ser detectado con el equipo. Mientras que el límite de cuantificación indica la mínima concentración que puede ser cuantificada, es decir, si para una muestra la concentración es menor al límite de cuantificación, pero mayor al límite de detección se dice que se puede detectar, pero no cuantificar. Si un valor es menor al límite de detección, no es posible determinar con certeza la concentración de ese plaguicida, si por el contrario el valor obtenido es mayor al límite de cuantificación ese valor se puede reportar.

De acuerdo con los resultados que se muestran en el cuadro 4, los valores para los LDO y para los LQO de cada plaguicida varían debido a que al calcular los límites se toma en consideración el error típico de cada una de las curvas, siendo que, a mayor error, aumentará tanto el LDO como el LQO.

En el cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos en la comparación de pendientes de las curvas de calibración con estándar interno para determinar si hay diferencias significativas entre las mismas.

Cuadro 4. Resultados del análisis estadístico de la comparación entre pendientes utilizando estándar interno

Plaguicida	Ratio TOP02-Ratio TOP03				H ₀
	F calculado	F tabulado	t calculado	t ⁻ tabulado	
Dicloroanilina	1,81	6,59	0,98	2,23	Acepta
Pentaclorobenceno	1,43	6,59	0,22	2,23	Acepta
DEET	1,57	6,59	1,03	2,23	Acepta
Tecnaceno	6,17	4,38	2,78	2,23	Rechaza
Etoprofos	2,82	6,59	7,77	2,23	Rechaza
Cadusafos	1,22	6,59	0,33	2,23	Acepta
Forato	1,90	6,59	0,50	2,23	Acepta
HCB	10,34	6,94	2,81	2,27	Rechaza
Pentacloroanisol	10,55	6,59	0,24	2,13	Acepta
Terbufos	6,33	6,94	3,29	2,13	Rechaza
Diazinon	1,74	6,59	0,78	2,23	Acepta
Spiroxamine I	1,17	6,59	0,38	2,23	Acepta
Spiroxamine II	1,25	6,59	0,77	2,23	Acepta
Quintozeno	1,17	6,59	0,32	2,23	Acepta
Terbutilazina	1,08	6,59	1,46	1,81	Acepta
Lindano	2,78	6,59	0,42	2,23	Acepta
Pirimetanil	4,23	6,59	3,13	2,23	Rechaza
Fempropimorph	2,62	6,59	2,93	2,23	Rechaza
Pentacloroanilina	1,36	6,59	0,72	2,23	Acepta
Clorotalonil	11,75	6,59	2,13	2,23	Acepta
Tolclofos metil	5,22	6,59	2,13	2,23	Acepta
Metalaxil	1,20	6,59	0,03	2,23	Acepta
Ametrina	1,44	6,59	0,32	2,23	Acepta
Metil paration	1,49	6,59	2,29	2,23	Rechaza
Terbutrina	1,31	6,59	0,35	2,23	Acepta
Cafeina	2,73	9,55	3,87	2,31	Rechaza
Clorpirifós	16,13	6,59	2,13	2,23	Acepta
Malation	1,39	6,59	0,38	2,23	Acepta
Fention	1,67	6,59	0,85	2,23	Acepta
Fluopiram	1,14	6,59	1,32	2,23	Acepta
Bromacil	3,15	19,00	0,07	2,37	Acepta
Butacloro	5,27	6,59	1,27	2,23	Acepta
Terbufos sulfone	2,05	6,59	2,02	2,23	Acepta
Endosulfan-a	4,22	6,59	0,24	2,23	Acepta
p.p DDE	1,06	6,59	0,57	2,23	Acepta
Flutolanil	1,29	6,59	0,80	2,23	Acepta
Buprofezin	2,77	6,59	0,50	2,23	Acepta
Fenamifos	1,19	6,59	0,77	2,23	Acepta

Profenofos	2,40	6,59	2,40	2,23	Rechaza
Miclobutanil	1,04	6,59	1,31	2,23	Acepta
p.p DDD	1,10	6,59	0,01	2,23	Acepta
Etion	3,82	6,59	0,34	2,23	Acepta
Endosulfan-b	1,72	6,59	0,61	2,23	Acepta
Trifloxistrobina	1,47	6,59	1,17	2,23	Acepta
Propiconazol I	1,25	6,59	0,70	2,23	Acepta
Propiconazol II	6,41	6,59	0,04	2,23	Acepta
Piperonil butoxido	1,47	6,59	0,97	2,23	Acepta
Bifentrina	1,68	6,59	0,61	2,23	Acepta
Endosulfan sukfato	1,68	6,59	0,58	2,23	Acepta
Tebuconazol	3,30	6,59	0,15	2,23	Acepta
Triazofos	21,11	6,59	2,42	2,78	Acepta
Epoconazol	1,07	6,59	1,24	2,23	Acepta
Hexazinona	1,57	6,59	0,08	2,23	Acepta
Cihalotrina	2,52	6,94	2,31	2,26	Rechaza
Permetrina I	7,05	9,55	2,06	2,23	Acepta
Permetrina II	3,53	6,59	2,11	2,23	Acepta
Cipermetrina I	3,15	6,94	1,00	2,13	Acepta
Cipermetrina II III IV	1,01	7,70	1,90	2,31	Acepta
Fenbuconazol	0,96	6,59	1,59	2,23	Acepta
Deltametrina	4,22	6,59	1,19	2,23	Acepta
Difenoconazol	1,09	6,94	1,10	2,23	Acepta
Azoxistrobina	1,07	6,59	0,73	2,23	Acepta

De acuerdo con los resultados que se muestran en el cuadro 4, se observa que, para los plaguicidas tecnaceno, etoprofos, HCB, terbufos, pirimetanil, fenpropimorph, metil paratión, cafeína, profenofos y cihalotrina se genera una varianza de la pendiente estadísticamente diferente. Solo en el caso de pirimetanil y cafeína las pendientes tienen un valor mayor en la TOP03 que con respecto al TOP02, para los demás plaguicidas la TOP02 tiene una pendiente mayor que con respecto a la TOP03.

Cuadro 5. Resultados del análisis estadístico de la comparación entre pendientes sin utilizar estándar interno.

Plaguicida	Ctn TOP02-Ctn TOP03				H ₀
	F calculado	F tabulado	t calculado	t-tabulado	
Dicloroanilina	3,93	9,27	0,35	2,26	Acepta
Pentaclorobenceno	1,23	4,53	0,75	6,94	Acepta
DEET	1,86	6,94	0,02	2,26	Acepta
Tecnaceno	10,98	5,05	2,81	2,26	Rechaza
Etoprofos	4,88	6,59	7,24	3,61	Rechaza
Cadusafos	1,70	6,59	0,29	2,26	Acepta

Forato	1,37	6,59	0,52	2,23	Acepta
HCB	3,50	6,59	1,04	1,81	Acepta
Pentacloroanisol	4,17	6,94	1,17	2,26	Acepta
Terbufos	8,44	6,59	2,89	2,45	Rechaza
Diazinon	2,24	6,94	1,88	2,26	Acepta
Spiroxamine I	1,89	6,94	0,67	2,26	Acepta
Spiroxamine II	2,00	6,94	1,21	2,26	Acepta
Quintozeno	0,33	6,94	0,50	2,26	Acepta
Terbutilazina	1,19	6,94	0,26	2,13	Acepta
Lindano	0,09	6,94	0,09	2,26	Acepta
Pirimetanil	0,41	6,94	1,01	2,26	Acepta
Fempropimorph	4,03	6,94	2,93	2,26	Rechaza
Pentacloroanilina	2,72	6,94	1,37	2,26	Acepta
Clorotalonil	4,56	6,94	1,29	2,26	Acepta
Tolclofos metil	1,42	6,94	1,64	2,26	Acepta
Metalaxil	2,49	6,94	0,51	2,26	Acepta
Ametrina	0,53	6,94	1,40	2,23	Acepta
Metil paration	2,70	6,94	1,79	2,26	Acepta
Terbutrina	1,47	6,94	0,86	2,26	Acepta
Cafeina	1,20	10,12	2,13	2,37	Acepta
Clorpirifós	3,90	6,94	2,83	2,26	Rechaza
Malation	1,63	6,94	1,23	2,26	Acepta
Fention	1,89	6,94	1,56	2,26	Acepta
Fluopiram	1,50	6,94	1,59	2,26	Acepta
Bromacil	2,41	19,00	0,52	2,37	Acepta
Butacloro	1,94	6,94	2,55	2,26	Rechaza
Terbufos sulfone	2,88	6,94	2,45	2,26	Rechaza
Endosulfan-a	4,34	6,94	0,92	2,26	Acepta
p.p DDE	1,47	6,94	0,50	2,26	Acepta
Flutolanil	1,31	6,94	1,44	2,26	Acepta
Buprofezin	1,54	6,94	0,32	2,26	Acepta
Fenamifos	2,07	6,94	2,13	2,26	Acepta
Profenofos	3,84	6,94	1,74	2,26	Acepta
Miclobutanil	1,94	6,94	1,34	2,26	Acepta
p.p DDD	2,61	6,94	0,91	2,26	Acepta
Etion	1,94	6,94	2,00	2,26	Acepta
Endosulfan-b	1,38	6,94	1,57	2,26	Acepta
Trifloxistrobina	1,97	6,59	1,64	2,26	Acepta
Propiconazol I	1,59	6,94	0,87	2,26	Acepta
Propiconazol II	1,08	5,19	0,16	2,31	Acepta
Piperonil butoxido	1,35	6,94	1,13	2,26	Acepta
Bifentrina	1,14	6,94	1,13	2,26	Acepta

Endosulfan sukfato	1,14	6,94	1,12	2,26	Acepta
Tebuconazol	1,74	6,59	2,13	2,26	Acepta
Triazofos	4,29	6,59	0,57	2,26	Acepta
Epoxiconazol	1,68	6,94	1,35	2,26	Acepta
Hexazinona	1,15	6,94	0,25	2,26	Acepta
Cihalotrina	3,20	6,94	2,21	2,26	Acepta
Permetrina I	3,62	6,59	3,13	2,26	Rechaza
Permetrina II	3,25	6,59	2,92	2,26	Rechaza
Cipermetrina I	11,89	6,59	4,17	2,78	Rechaza
Cipermetrina II III IV	4,37	6,59	3,15	2,23	Rechaza
Fenbuconazol	1,27	6,59	2,16	2,23	Acepta
Deltametrina	4,42	6,59	1,99	2,23	Acepta
Difenoconazol	1,67	6,94	1,65	2,23	Acepta
Azoxistrobina	1,30	6,59	1,37	2,23	Acepta

De acuerdo con los resultados que se muestran en el cuadro 5, se observa que, para los plaguicidas tecnaceno, etoprofos, terbufos, fenpropimorph, clorpirifós, butacloro, terbufos sulfone, permetrina I y II y las cipermetrinas se genera una varianza de la pendiente estadísticamente diferente. Solo en el caso específico del tecnaceno la pendiente tiene un valor mayor en la TOP03 que con respecto al TOP02, para los demás plaguicidas la TOP02 tiene una pendiente mayor que con respecto a la TOP03.

Estas diferencias en las pendientes mostradas en el cuadro 3 y 4 sólo muestran que para los plaguicidas mencionados la TOP02 tiene una mayor sensibilidad comparada a la TOP03. Sin embargo, esto no significa que las pendientes en la TOP03 no puedan ser utilizadas para la cuantificación.

Conclusiones

Se compararon de forma gráfica las pendientes y cada nivel de las curvas para determinar las diferencias entre la TOP02 y TOP03 utilizando estándar interno y sin estándar interno, se concluye que el etoprofos para la TOP02 presenta una pendiente casi del doble del valor que la pendiente con la TOP03, mientras que para la cafeína ocurre un efecto contrario al etoprofos.

Para las cipermetrinas II, III, IV si se comparan las pendientes sin estándar interno y con estándar interno, se observa que el estándar interno realiza una corrección en la cuantificación del plaguicida.

Se determinó los parámetros de la ecuación de la recta para cada plaguicida utilizando estándar interno y sin estándar interno para la curva TOP02 y TOP03.

Se calculó los límites de detección y cuantificación para cada plaguicida utilizando estándar interno y sin estándar interno para la curva TOP02 y TOP03.

Se realizó un análisis estadístico para determinar diferencias significativas entre pendientes de las curvas utilizando estándar interno y se concluye que existe diferencias significativas entre las pendientes de los plaguicidas tecnaceno, etoprofos, HCB, terbufos, pirimetanil, fenpropimorph, metil paratión, cafeína, profenofos y cihalotrina. En el caso de pirimetanil y cafeína las pendientes tienen un valor mayor en la TOP03 que con respecto al TOP02, para los demás plaguicidas la TOP02 tiene una pendiente mayor que con respecto a la TOP03.

Para las curvas de calibración sin estándar interno, se concluye que existe diferencias significativas entre las pendientes de los plaguicidas tecnaceno, etoprofos, terbufos, fenpropimorph, clorpirifós, butacloro, terbufos sulfone, permetrina I y II y las cipermetrinas. Solo en el caso del tecnaceno la pendiente tiene un valor mayor en la TOP03 que con respecto al TOP02, para los demás plaguicidas la TOP02 tiene una pendiente mayor que con respecto a la TOP03.

Referencias bibliográficas

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Pesticides use and trade 1990–2021 FAOSTAT Analytical Brief 70.
2. Li, M., Qian, Y., et al. (2023). Ecological risk assessment of pesticides in the water sources of the Yangtze River. *Chemosphere*, 291, 132821. DOI:10.3390/toxics12010085
3. Tariq, M. I., Afzal, S., et al. (2023). Occurrence, sources, and ecotoxicological risk assessment of pesticides in the aquatic environment: A review. *Environmental Research*, 204, 112055. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114953
4. Bhandari, Govinda & Atreya, Kishor & Scheepers, Paul & Geissen, Violette. (2020). Concentration and distribution of pesticide residues in soil: Non-dietary human health risk assessment. *Chemosphere*. 253. 126594. 10.1016/j.chemosphere.2020.126594. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.126594
5. Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402-1419. doi: 10.3390/ijerph8051402
6. P, S., Thasale, R., Kumar, D., Mehta, T. G., & Limbachiya, R. (2022). Human health risk assessment of pesticide residues in vegetable and fruit samples in Gujarat State, India. *Heliyon*, 8(10), e10876. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e10876
7. Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177. doi:10.1016/j.taap.2013.01.025
8. Kaur, N., & Chugh, V. K. (2023). Neurotoxic effects of organophosphate pesticides: A review. *NeuroToxicology*, 88, 47-59.
9. Grasso, P., Benfenati, E., Terreni, M., Pregnolato, M., Natangelo, M., & Pagani, G. (1998). Deuterated internal standards for gas chromatographic-mass spectrometric analysis of polar organophosphorus pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A*, 822(1), 91–99. doi:10.1016/s0021-9673(98)00597-4
10. Wang, M., Wang, C., & Han, X. (2017). Selection of internal standards for accurate quantification of complex lipid species in biological extracts by electrospray ionization mass

Anexo

Cuadro 6. Curva de calibración TOP02.

TOP02	TOP02.Me (ug/mL)	TOP02.1	TOP02.2	TOP02.3	TOP02.4	TOP02.5	TOP02.6
Fecha preparación	19/08/21	24/8/21	24/8/21	24/8/21	24/8/21	24/8/21	24/8/21
Iniciales	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH
unidades	µg/mL	ng/mL					
Disolvente	Isooctano						
Cafeína	2,99	76,53	122,29	186,95	246,85	372,35	493,08
Terbutilazina	5,25	134,58	215,06	328,79	434,13	654,86	867,17
Trifloxistrobina	6,04	154,68	247,18	377,89	498,96	752,65	996,67
Forato	5,20	133,23	212,89	325,47	429,75	648,25	858,41
Hexazinona	6,58	168,62	269,46	411,95	543,93	820,48	1086,49
Bromacil	11,65	298,30	476,69	728,76	962,24	1451,48	1922,06
DEET	15,65	400,74	640,39	979,02	1292,68	1949,93	2582,11
Dicloroanilina 3,4	6,31	161,53	258,12	394,61	521,04	785,96	1040,77
Endosulfan sulfato	3,42	87,59	139,96	213,98	282,53	426,18	564,36
Endosulfan-a	3,94	100,82	161,12	246,31	325,23	490,59	649,64
Endosulfan-b	4,49	114,92	183,64	280,75	370,70	559,18	740,47
Fention	5,91	151,44	242,00	369,98	488,51	736,89	975,79
HCB	3,24	82,93	132,52	202,59	267,50	403,51	534,33
Lindano	3,25	83,25	133,04	203,39	268,55	405,10	536,44
Metil paration	4,86	124,50	198,94	304,14	401,59	605,77	802,16
p,p DDD	4,94	126,44	202,05	308,90	407,86	615,24	814,71
p,p DDE	3,91	100,26	160,21	244,93	323,39	487,82	645,98
Pentacloroanilina	2,35	60,13	96,09	146,91	193,97	292,59	387,45
Pentacloroanisol	2,43	62,22	99,43	152,01	200,72	302,77	400,93

Pentaclorobenceno	2,44	62,60	100,03	152,93	201,92	304,59	403,34
Profenofos	4,71	120,72	192,90	294,91	389,39	587,38	777,81
Protiofos	5,13	131,51	210,16	321,29	424,23	639,92	847,39
Quintozeno	5,36	137,40	219,56	335,66	443,20	668,54	885,28
Tecnaceno	2,38	60,99	97,47	149,01	196,75	296,79	393,01
Terbutrina	2,44	62,42	99,75	152,49	201,35	303,72	402,19
Tolclofos metil	7,55	193,50	309,20	472,71	624,16	941,51	1246,75
Triazofos	6,14	157,38	251,49	384,47	507,65	765,76	1014,02
Cadusafos	4,51	115,43	184,46	282,00	372,34	561,66	743,75
Fluopyram	3,93	100,77	161,03	246,18	325,05	490,32	649,29
Buprofezin	4,14	105,99	169,37	258,94	341,90	515,73	682,94
Terbufos sulfone	4,37	111,83	178,70	273,20	360,72	544,13	720,54
Malation	5,50	140,95	225,23	344,33	454,65	685,82	908,16
Fenbuconazol	3,64	93,31	149,11	227,96	301,00	454,04	601,24
Flutolanil	4,11	105,25	168,18	257,12	339,50	512,11	678,14
Terbufos	2,71	69,35	110,82	169,42	223,70	337,44	446,85
Clorpirifós	3,46	88,61	141,60	216,47	285,83	431,15	570,94
Diazinon	5,17	132,30	211,42	323,22	426,77	643,76	852,47
Etion	3,15	80,64	128,86	197,00	260,11	392,37	519,58
Etoprofos	3,17	81,10	129,60	198,13	261,61	394,62	522,56
Fenamifos	6,51	166,75	266,47	407,37	537,89	811,37	1074,43
Clorotalonil	3,36	86,14	137,65	210,44	277,86	419,13	555,02
Pirimetanil	3,12	79,91	127,70	195,23	257,78	388,84	514,91
Butacloro	5,61	143,75	229,72	351,20	463,71	699,48	926,26
Azoxistrobina	6,09	155,94	249,18	380,95	503,00	758,75	1004,74
Miclobutanil	5,87	150,23	240,06	367,01	484,59	730,97	967,96
Spiroxamina	5,14	131,56	210,24	321,41	424,38	640,15	847,70
Piperonil butóxido	3,06	78,32	125,15	191,33	252,62	381,07	504,61
Metalaxil	2,76	70,66	112,92	172,63	227,94	343,83	455,30

Ametrina	3,14	80,48	128,61	196,63	259,62	391,62	518,59
Bifentrina	6,19	158,44	253,19	387,08	511,09	770,95	1020,90
Cihalotrina	3,91	100,09	159,94	244,51	322,85	487,00	644,89
Cipermetrina	2,67	68,28	109,12	166,82	220,26	332,25	439,97
Deltametrina	3,02	77,34	123,59	188,95	249,49	376,34	498,35
Permetrina	4,11	105,34	168,34	257,35	339,80	512,57	678,75
Tebuconazol	8,03	205,74	328,77	502,62	663,65	1001,07	1325,62
Propiconazol	6,49	166,14	265,49	405,88	535,91	808,39	1070,48
Epoxiconazol	6,00	153,60	245,45	375,25	495,47	747,39	989,70
Difenoconazol	6,89	176,54	282,11	431,29	569,47	859,01	1137,50
Fenpropimorph	3,54	90,58	144,75	221,29	292,19	440,75	583,65
Clorpirifós D10		364,0	359,1	367,2	366,1	370,7	360,8

Cuadro 7. Curva de calibración TOP03

TOP03	TOP02.Me	TOP03.1	TOP03.2	TOP03.3	TOP03.4	TOP03.5	TOP03.6
Fecha preparación	19-Aug-21	7/9/2023	7/9/2023	7/9/2023	7/9/2023	7/9/2023	7/9/2023
Iniciales	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH	AEH
unidades	µg/mL	ng/mL					
Disolvente	Isooctano						
Cafeína	2,99	59,86	119,41	181,24	241,86	363,55	482,75
Terbutilazina	5,25	105,27	210,01	318,74	425,36	639,36	849,00
Trifloxistrobina	6,04	120,99	241,38	366,35	488,88	734,85	975,79
Forato	5,20	104,21	207,89	315,53	421,07	632,91	840,43
Hexazinona	6,58	131,89	263,13	399,36	532,94	801,07	1063,73
Bromacil	11,65	233,33	465,49	706,49	942,80	1417,14	1881,80
DEET	15,65	313,45	625,35	949,11	1266,57	1903,80	2528,03
Dicloroanilina 3,4	6,31	126,34	252,06	382,56	510,51	767,36	1018,97
Endosulfan sulfato	3,42	68,51	136,68	207,44	276,83	416,10	552,53
Endosulfan-a	3,94	78,86	157,33	238,79	318,66	478,98	636,03

Endosulfan-b	4,49	89,89	179,33	272,18	363,21	545,95	724,96
Fention	5,91	118,45	236,32	358,67	478,64	719,45	955,35
HCB	3,24	64,86	129,41	196,40	262,10	393,96	523,14
Lindano	3,25	65,12	129,92	197,18	263,13	395,52	525,20
Metil paration	4,86	97,38	194,27	294,85	393,47	591,44	785,36
p,p DDD	4,94	98,90	197,31	299,46	399,63	600,68	797,64
p,p DDE	3,91	78,42	156,44	237,44	316,86	476,28	632,45
Pentacloroanilina	2,35	47,03	93,84	142,42	190,05	285,67	379,34
Pentacloroanisol	2,43	48,67	97,10	147,37	196,66	295,60	392,53
Pentaclorobenceno	2,44	48,96	97,68	148,26	197,84	297,38	394,89
Profenofos	4,71	94,42	188,37	285,90	381,53	573,48	761,52
Protiofos	5,13	102,87	205,22	311,48	415,66	624,78	829,64
Quintozeno	5,36	107,47	214,40	325,40	434,25	652,72	866,74
Tecnaceno	2,38	47,71	95,18	144,46	192,78	289,76	384,77
Terbutrina	2,44	48,82	97,40	147,83	197,28	296,54	393,77
Tolclofos metil	7,55	151,35	301,94	458,27	611,55	919,23	1220,64
Triazofos	6,14	123,10	245,58	372,72	497,39	747,64	992,78
Cadusafos	4,51	90,29	180,12	273,38	364,82	548,37	728,17
Fluopyram	3,93	78,82	157,25	238,66	318,49	478,72	635,69
Buprofezin	4,14	82,90	165,40	251,03	334,99	503,53	668,63
Terbufos sulfone	4,37	87,47	174,50	264,85	353,44	531,25	705,44
Malation	5,50	110,25	219,94	333,81	445,47	669,59	889,14
Fenbuconazol	3,64	72,99	145,61	221,00	294,92	443,29	588,64
Flutolanil	4,11	82,32	164,23	249,26	332,64	499,99	663,93
Terbufos	2,71	54,24	108,22	164,25	219,19	329,46	437,49
Clorpirifós	3,46	69,31	138,27	209,86	280,06	420,95	558,98
Diazinon	5,17	103,48	206,45	313,34	418,15	628,53	834,61
Etion	3,15	63,07	125,83	190,98	254,86	383,09	508,69
Etoprofos	3,17	63,44	126,55	192,08	256,32	385,28	511,61

Fenamifos	6,51	130,43	260,21	394,93	527,02	792,18	1051,92
Clorotalonil	3,36	67,38	134,42	204,01	272,25	409,22	543,39
Pirimetanil	3,12	62,51	124,70	189,27	252,57	379,65	504,13
Butacloro	5,61	112,44	224,32	340,46	454,35	682,93	906,86
Azoxistrobina	6,09	121,97	243,33	369,31	492,84	740,80	983,70
Miclobutanil	5,87	117,50	234,42	355,79	474,80	713,67	947,68
Spiroxamina	5,14	102,90	205,30	311,59	415,81	625,01	829,94
Piperonil butóxido	3,06	61,26	122,21	185,48	247,52	372,05	494,04
Metalaxil	2,76	55,27	110,27	167,35	223,33	335,69	445,76
Ametrina	3,14	62,95	125,59	190,62	254,38	382,36	507,73
Bifentrina	6,19	123,93	247,25	375,25	500,77	752,71	999,52
Cihalotrina	3,91	78,29	156,18	237,04	316,33	475,48	631,39
Cipermetrina	2,67	53,41	106,55	161,72	215,81	324,39	430,76
Deltametrina	3,02	60,50	120,69	183,18	244,45	367,43	487,91
Permetrina	4,11	82,40	164,38	249,49	332,94	500,44	664,53
Tebuconazol	8,03	160,92	321,04	487,26	650,24	977,39	1297,86
Propiconazol	6,49	129,95	259,25	393,48	525,09	789,27	1048,06
Epoxiconazol	6,00	120,14	239,69	363,78	485,47	729,71	968,97
Difenoconazol	6,89	138,09	275,48	418,11	557,96	838,68	1113,68
Fenpropimorph	3,54	70,85	141,35	214,53	286,29	430,32	571,42
Clorpirifós D10		357,3	359,6	356,5	357,7	356,6	352,3