

1. RESULTADOS

1.1 PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA MUESTRA

El estudio se ha realizado por triplicado sobre los blancos de lana de vidrio así como sobre muestras de algodón.

Las muestras de algodón han sido suministradas por el importador de algodón Artigas Cotton Agent con sede social en C/Bruc 21 2º 08010 Barcelona. Facilitándonos así mismo los certificados fitosanitarios de importación adjuntos en el ANEXO 2.

Tabla 1 Caracterización algodones-blancos

<i>Muestra</i>	<i>Origen</i>	<i>Suministrador</i>
<i>G</i>	GRECIA	COTTON ARTIGAS
<i>ME</i>	MEJICO	COTTON ARTIGAS
<i>AR</i>	ARGENTINA	COTTON ARTIGAS
<i>AU</i>	AUSTRALIA	COTTON ARTIGAS
<i>IS</i>	ISRAEL	COTTON ARTIGAS
<i>TU</i>	TURQUIA	COTTON ARTIGAS
<i>CIS</i>	C.E.I.	COTTON ARTIGAS
<i>BL</i>	BLANCO	LANA VIDRIO

Siguiendo las pautas indicadas en la técnica **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se procede a tomar aleatoriamente unos 3,0000 g para cada proceso de determinación del porcentaje de humedad. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 30.

Tabla 2 % humedad muestras algodón

Muestra	% hd
BL	0,3
G	2,5
ME	3,1
AR	3,6
AU	3,9
IS	3,0
TU	3,0
CIS	2,3
PROMEDIO ALGODÓN	3,1

De la información contenida en la Tabla 30 se puede concluir que:

- Para algodones sometidos a las mismas condiciones de almacenamiento, su contenido en humedad promedio varía según la zona de procedencia.
- El porcentaje de humedad de los algodones estudiados está entre el 2,3% y el 3,9%.
- El promedio del porcentaje de humedad de todos los algodones estudiados se sitúa en el 3,1%.

1.2 PORCENTAJE DE CERAS ⁽ⁱ⁻ⁱⁱ⁻ⁱⁱⁱ⁾

En las diferentes etapas de análisis de pesticidas se consideran las fases de extracción y purificación como críticas ya que en ellas se deben recuperar cuantitativamente los analitos de interés. Ésto, en principio, parece asegurarse cuando se extrae toda las ceras de la muestra ya que los pesticidas organoclorados son lipófilos, de todas formas cabe decir que no existe una correlación obvia entre el porcentaje de ceras extraído y la concentración de pesticidas hallada finalmente.^(iv)

El objetivo del presente apartado es comparar la recuperación de ceras de algodones procedentes de diferentes áreas productoras, si se emplea una única extracción con diclorometano o dos extracciones consecutivas la primera con diclorometano y una segunda con metanol, solvente más polar y con capacidad de hinchar la fibra.

Por otro lado se pretende corroborar la mejora en cuanto a tiempo de operación, recuperación de solvente y repetibilidad que supone el uso de un SOXTEC® System HT2 frente a un Soxhlet convencional.

Los factores que afectan la extracción de ceras de una fibra son múltiples e incluyen la polaridad del solvente, su punto de ebullición y su capacidad de hinchar la fibra. Por otro lado la concentración de pesticidas extraídos depende de la concentración y la variedad de agrotóxicos aplicados, del nivel de penetración de dichos pesticidas en la fibra, la antigüedad de la muestra, etc.

A priori se presupone que un solvente de baja polaridad (n-hexano, diclorometano) sería capaz de extraer mayoritariamente las ceras contenidas en la fibra debido a su carácter hidrófobo. Las experiencias de diferentes autores indica que no es así, y que es conveniente emplear mezclas de disolventes con diferente polaridad como benceno-isopropanol 60:30 v/v, cloroformo-metanol (90:10), hexano-dietiléter 90:10 v/v o realizar una segunda extracción sucesiva con un solvente más polar o un solvente que hiche la fibra.

Tabla 3 Relación polaridades

Solvente	Índ. Polaridad
<i>Hexano</i>	0.0
<i>Benceno</i>	2.7
<i>Isopropanol</i>	3.9
<i>Cloroformo</i>	3.1
<i>Metanol</i>	5.1

El estudio se realizó por triplicado sobre 7 muestras de aproximadamente 1 kg de algodón crudo cedidas por la empresa importadora ARTIGAS COTTON AGENTS, procedentes de Grecia, Méjico, Argentina, Australia, Israel, Turquía y C.E.I. referenciadas en el capítulo 1.2

Para cada muestra se determinó el porcentaje de humedad siguiendo el protocolo indicado en el apartado **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** y el porcentaje de cera empleando las técnicas referidas en los apartados **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Se realizaron dos extracciones consecutivas para cada muestra, la primera con diclorometano y la segunda con metanol, empleando el SOXTEC[®] System HT2, manteniendo iguales la cantidad de muestra empleada, el volumen de disolvente empleado y los tiempos de operación y dejando evaporar entre cada una de ellas el diclorometano restante en el dedal de celulosa de la extracción (1) para evitar mezclas de solventes.

-Extracción (1): 100 ml diclorometano 105 °C

-Extracción (2): 100 ml metanol 160 °C

Los resultados obtenidos se especifican en las siguientes tablas y gráficos (datos referidos a peso seco)

Tabla 4 Extracto graso diclorometano

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	1,90	1,88	1,91	1,90	0,02	0,82	0,03	0,08
ME	2,96	2,96	2,99	2,97	0,02	0,51	0,03	0,07
AR	0,28	0,27	0,28	0,28	0,01	3,64	0,02	0,05
AU	0,58	0,55	0,52	0,55	0,03	5,49	0,06	0,15
IS	0,48	0,54	0,50	0,51	0,03	6,81	0,07	0,17
TU	0,65	0,59	0,52	0,59	0,07	11,15	0,14	0,33
CIS	0,44	0,47	0,40	0,44	0,03	7,53	0,07	0,16
BL	0,07	0,05	0,06	0,06	0,01	15,76	0,02	0,05

Tabla 5 Extracto graso metanol

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	2,05	1,76	1,85	1,88	0,15	7,98	0,32	0,75
ME	1,38	1,46	1,76	1,53	0,20	13,20	0,44	1,01
AR	1,64	1,71	1,43	1,59	0,14	9,02	0,31	0,71
AU	1,07	1,03	1,00	1,03	0,03	3,27	0,07	0,17
IS	1,68	2,30	2,08	2,02	0,32	15,73	0,68	1,57
TU	1,66	1,60	1,67	1,65	0,04	2,34	0,08	0,19
CIS	1,55	1,75	1,36	1,55	0,19	12,41	0,41	0,96
BL	0,28	0,26	0,22	0,26	0,03	11,01	0,06	0,14

Tabla 6 Extracto total diclorometano + metanol

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	3,95	3,64	3,76	3,78	0,16	4,25	0,35	0,80
ME	4,34	4,43	4,75	4,51	0,22	4,83	0,47	1,08
AR	1,92	1,98	1,71	1,87	0,14	7,45	0,30	0,69
AU	1,64	1,58	1,52	1,58	0,06	4,04	0,14	0,32
IS	2,15	2,85	2,58	2,53	0,35	13,89	0,75	1,74
TU	2,32	2,19	2,20	2,24	0,07	3,13	0,15	0,35
CIS	1,99	2,21	1,76	1,99	0,23	11,34	0,48	1,12
BL	0,37	0,48	0,36	0,40	0,07	17,18	0,15	0,34

* **sd**:desviación estándar

sd%:desviación estándar relativa

lim.95%-lim. 99%: intervalos de confianza (valores t student para 2 grados libertad 95% (4.30) 99% (9.92).

Tabla 7 Porcentajes diclorometano y metanol respecto el total

MUESTRA	% g	% g	% g	% DCM	% MeOH
	DCM	MeOH	TOTAL		
G	1,90	1,88	3,78	50,16	49,84
ME	2,97	1,53	4,51	65,95	34,05
AR	0,28	1,59	1,87	14,79	85,21
AU	0,55	1,03	1,58	34,65	65,35
IS	0,51	2,02	2,53	20,10	79,90
TU	0,59	1,65	2,24	26,37	73,63
CIS	0,44	1,55	1,99	21,90	78,10
BL	0,08	0,32	0,40	20,47	79,53

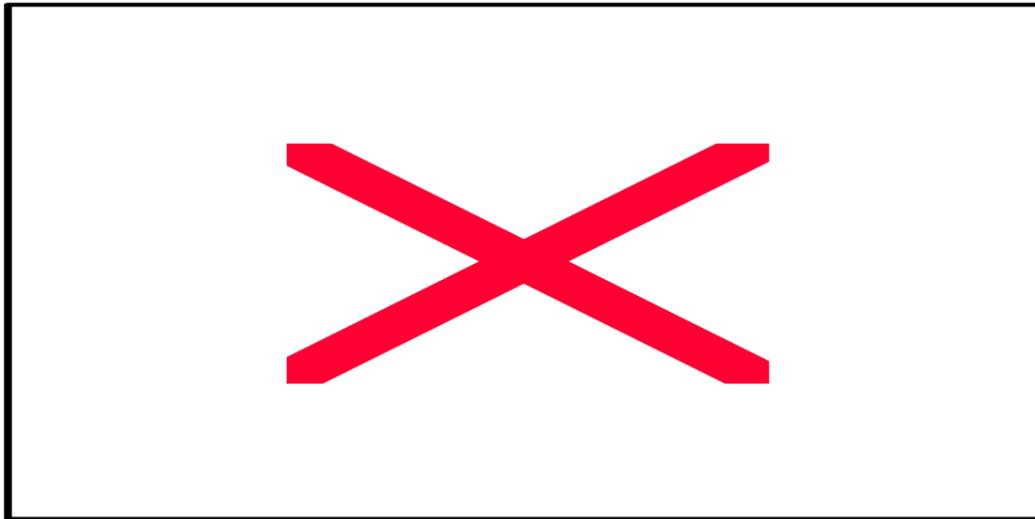


Fig. 1 Extracto graso diclorometano

Fig. 2 Extracto graso metanol

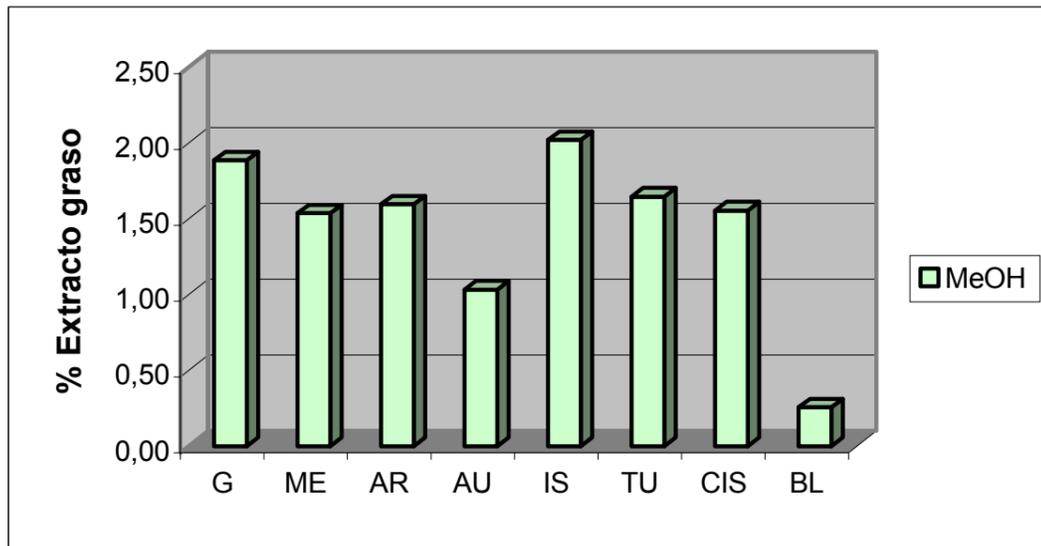


Fig. 3 Extractos diclorometano y metanol

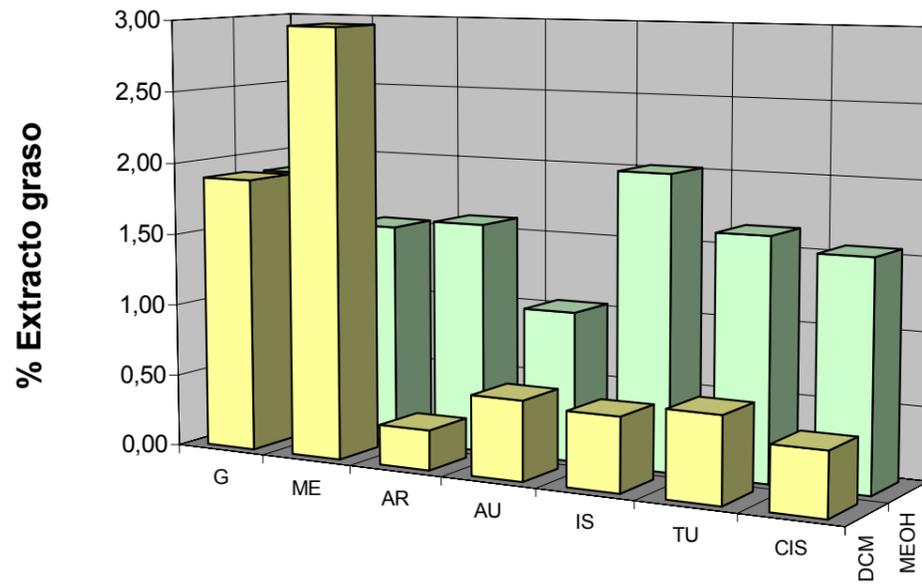
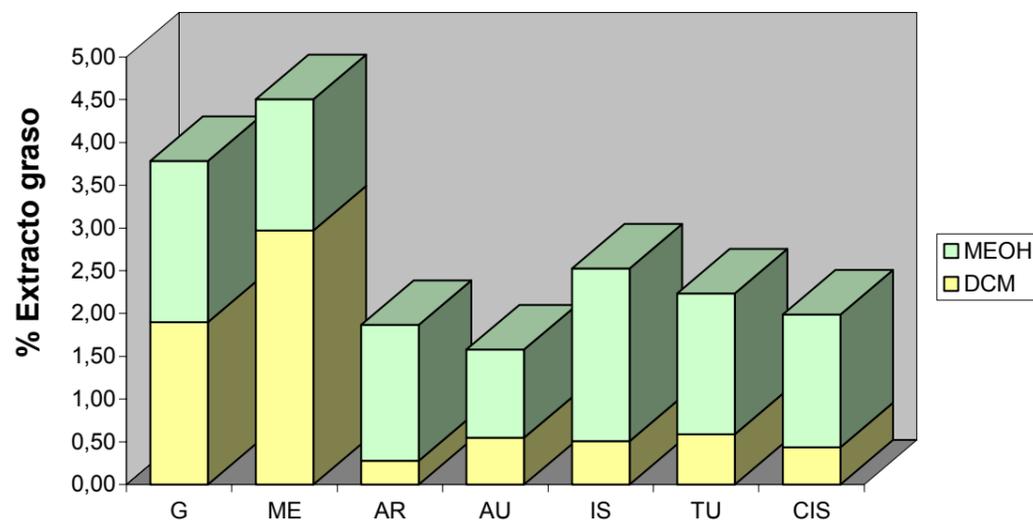


Fig. 4 Extracto graso total



De la información contenida en la Tabla 32 y en la *RESULTADOS*

1.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA MUESTRA

El estudio se ha realizado por triplicado sobre los blancos de lana de vidrio así como sobre muestras de algodón.

Las muestras de algodón han sido suministradas por el importador de algodón Artigas Cotton Agent con sede social en C/Bruc 21 2º 08010 Barcelona. Facilitándonos así mismo los certificados fitosanitarios de importación adjuntos en el ANEXO 2.

Tabla 1 Caracterización algodones-blancos

Muestra	Origen	Suministrador
G	GRECIA	COTTON ARTIGAS
ME	MEJICO	COTTON ARTIGAS
AR	ARGENTINA	COTTON ARTIGAS
AU	AUSTRALIA	COTTON ARTIGAS
IS	ISRAEL	COTTON ARTIGAS
TU	TURQUIA	COTTON ARTIGAS
CIS	C.E.I.	COTTON ARTIGAS
BL	BLANCO	LANA VIDRIO

Siguiendo las pautas indicadas en la técnica **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se procede a tomar aleatoriamente unos 3,0000 g para cada proceso de determinación del porcentaje de humedad. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 30.

Tabla 2 % humedad muestras algodón

Muestra	% hd
BL	0,3
G	2,5
ME	3,1
AR	3,6
AU	3,9
IS	3,0
TU	3,0
CIS	2,3
PROMEDIO ALGODÓN	3,1

De la información contenida en la Tabla 30 se puede concluir que:

- Para algodones sometidos a las mismas condiciones de almacenamiento, su contenido en humedad promedio varía según la zona de procedencia.
- El porcentaje de humedad de los algodones estudiados está entre el 2,3% y el 3,9%.
- El promedio del porcentaje de humedad de todos los algodones estudiados se sitúa en el 3,1%.

1.4 PORCENTAJE DE CERAS ⁽⁻⁾

En las diferentes etapas de análisis de pesticidas se consideran las fases de extracción y purificación como críticas ya que en ellas se deben recuperar cuantitativamente los analitos de interés. Ésto, en principio, parece asegurarse cuando se extrae toda las ceras de la muestra ya que los pesticidas organoclorados son lipófilos, de todas formas cabe decir que no existe una correlación obvia entre el porcentaje de ceras extraído y la concentración de pesticidas hallada finalmente.()

El objetivo del presente apartado es comparar la recuperación de ceras de algodones procedentes de diferentes áreas productoras, si se emplea una única extracción con diclorometano o dos extracciones consecutivas la primera con diclorometano y una segunda con metanol, solvente más polar y con capacidad de hinchar la fibra.

Por otro lado se pretende corroborar la mejora en cuanto a tiempo de operación, recuperación de solvente y repetibilidad que supone el uso de un SOXTEC® System HT2 frente a un Soxhlet convencional.

Los factores que afectan la extracción de ceras de una fibra son múltiples e incluyen la polaridad del solvente, su punto de ebullición y su capacidad de hinchar la fibra. Por otro lado la concentración de pesticidas extraídos depende de la concentración y la variedad de agrotóxicos aplicados, del nivel de penetración de dichos pesticidas en la fibra, la antigüedad de la muestra, etc.

A priori se presupone que un solvente de baja polaridad (n-hexano, diclorometano) sería capaz de extraer mayoritariamente las ceras contenidas en la fibra debido a su carácter hidrófobo. Las experiencias de diferentes autores indica que no es así, y que es conveniente emplear mezclas de disolventes con diferente polaridad como benceno-isopropanol 60:30 v/v, cloroformo-metanol (90:10), hexano-dietiléter 90:10 v/v o realizar una segunda extracción sucesiva con un solvente más polar o un solvente que hiche la fibra.

Tabla 3 Relación polaridades

Solvente	Índ. Polaridad
<i>Hexano</i>	0.0
<i>Benceno</i>	2.7
<i>Isopropanol</i>	3.9
<i>Cloroformo</i>	3.1
<i>Metanol</i>	5.1

El estudio se realizó por triplicado sobre 7 muestras de aproximadamente 1 kg de algodón crudo cedidas por la empresa importadora ARTIGAS COTTON AGENTS, procedentes de Grecia, Méjico, Argentina, Australia, Israel, Turquía y C.E.I. referenciadas en el capítulo 1.2

Para cada muestra se determinó el porcentaje de humedad siguiendo el protocolo indicado en el apartado **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** y el porcentaje de cera empleando las técnicas referidas en los apartados **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia. y ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Se realizaron dos extracciones consecutivas para cada muestra, la primera con diclorometano y la segunda con metanol, empleando el SOXTEC® System HT2, manteniendo iguales la cantidad de muestra empleada, el volumen de disolvente empleado y los tiempos de operación y dejando evaporar entre cada una de ellas el diclorometano restante en el dedal de celulosa de la extracción (1) para evitar mezclas de solventes.

-Extracción (1): 100 ml diclorometano 105 °C

-Extracción (2): 100 ml metanol 160 °C

Los resultados obtenidos se especifican en las siguientes tablas y gráficos (datos referidos a peso seco)

Tabla 4 Extracto graso diclorometano

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	1,90	1,88	1,91	1,90	0,02	0,82	0,03	0,08
ME	2,96	2,96	2,99	2,97	0,02	0,51	0,03	0,07
AR	0,28	0,27	0,28	0,28	0,01	3,64	0,02	0,05
AU	0,58	0,55	0,52	0,55	0,03	5,49	0,06	0,15
IS	0,48	0,54	0,50	0,51	0,03	6,81	0,07	0,17
TU	0,65	0,59	0,52	0,59	0,07	11,15	0,14	0,33
CIS	0,44	0,47	0,40	0,44	0,03	7,53	0,07	0,16
BL	0,07	0,05	0,06	0,06	0,01	15,76	0,02	0,05

Tabla 5 Extracto graso metanol

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	2,05	1,76	1,85	1,88	0,15	7,98	0,32	0,75
ME	1,38	1,46	1,76	1,53	0,20	13,20	0,44	1,01
AR	1,64	1,71	1,43	1,59	0,14	9,02	0,31	0,71
AU	1,07	1,03	1,00	1,03	0,03	3,27	0,07	0,17
IS	1,68	2,30	2,08	2,02	0,32	15,73	0,68	1,57
TU	1,66	1,60	1,67	1,65	0,04	2,34	0,08	0,19
CIS	1,55	1,75	1,36	1,55	0,19	12,41	0,41	0,96
BL	0,28	0,26	0,22	0,26	0,03	11,01	0,06	0,14

Tabla 6 Extracto total diclorometano + metanol

MUESTRA	%g (1)	%g(2)	%g(3)	%gm	sd	sd%	lim. 95%	lim. 99%
G	3,95	3,64	3,76	3,78	0,16	4,25	0,35	0,80
ME	4,34	4,43	4,75	4,51	0,22	4,83	0,47	1,08
AR	1,92	1,98	1,71	1,87	0,14	7,45	0,30	0,69
AU	1,64	1,58	1,52	1,58	0,06	4,04	0,14	0,32
IS	2,15	2,85	2,58	2,53	0,35	13,89	0,75	1,74
TU	2,32	2,19	2,20	2,24	0,07	3,13	0,15	0,35
CIS	1,99	2,21	1,76	1,99	0,23	11,34	0,48	1,12
BL	0,37	0,48	0,36	0,40	0,07	17,18	0,15	0,34

* **sd:desviación** estándar

sd%:desviación estándar relativa

lim.95%-lim. 99%: intervalos de confianza (valores t student para 2 grados libertad 95% (4.30) 99% (9.92).

Tabla 7 Porcentajes diclorometano y metanol respecto el total

MUESTRA	% g	% g	% g	% DCM	% MeOH
	DCM	MeOH	TOTAL		
G	1,90	1,88	3,78	50,16	49,84
ME	2,97	1,53	4,51	65,95	34,05
AR	0,28	1,59	1,87	14,79	85,21
AU	0,55	1,03	1,58	34,65	65,35
IS	0,51	2,02	2,53	20,10	79,90
TU	0,59	1,65	2,24	26,37	73,63
CIS	0,44	1,55	1,99	21,90	78,10
BL	0,08	0,32	0,40	20,47	79,53

Fig. 1 sobre las extracciones realizadas exclusivamente con diclorometano se puede concluir que:

- El porcentaje promedio de extracto graso (%gm) de las muestras de algodón analizadas (referido siempre a masa seca, ver Sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) presenta como valores extremos un mínimo de 0,28% y un máximo de 2,97%, correspondientes a Argentina y Méjico respectivamente.
- Para el resto de muestras excepto Grecia (Australia, Israel, Turquía y CIS), dicho porcentaje promedio presenta valores entorno al 0,50%.
- El %sd (%desviación estándar) más elevado se presenta en el blanco (lana de vidrio) con un 16% mientras que para el resto de muestras no supera el 12%.

Por otro lado al realizar sobre las mismas muestras una segunda extracción consecutiva con metanol, solvente más polar y con un mayor punto de ebullición, tal y como se observa en la *Tabla 5* y en la *Fig. 2* se puede concluir que:

- El rango de los porcentajes promedio de extracto graso se encuentra entre un mínimo de 1,03% y un máximo de 2,02% correspondientes a Australia e Israel respectivamente.
- Para el resto de muestras excepto Grecia (Méjico, Argentina, Turquía, CIS) se obtiene un porcentaje promedio de un 1,5% aproximadamente.
- El %sd (%desviación estándar) es más elevado en estas segundas extracciones con metanol que en las primeras de diclorometano, sin superarse en ningún caso el 16%.

Considerando el extracto graso promedio total, (Ver *Tabla 6*, *Tabla 7*, *Fig. 3*, *Fig. 4*) se observa que:

- Excepto en el caso de Grecia y Méjico, el resto de muestras presentan unos valores de porcentaje promedio de extracto global en torno al 2%.
- Los casos de Grecia y Argentina presentan valores de 3,78% y 4,51%.
- Los casos de Grecia y Argentina son los que también presentan los valores máximos de porcentaje promedio en las extracciones realizadas con diclorometano.

-
- El %sd (%desviación estándar), considerando el porcentaje de extracto graso global pasa a compensarse en las muestras de algodón las cuales no superan el 14% estando gran parte de ellas por debajo del 5%, mientras que en el caso de Iso blancos pasa a ser de un 17%.

Tal y como se observa en la *Tabla 7* y en la *Fig. 4*:

- La proporción de los porcentajes de extractos grasos promedio obtenidos con diclorometano y metanol respecto al total es de un 20%-80% (diclorometano-metanol), excepto para las muestras de Grecia y Méjico.
- En los casos de Grecia y Méjico la proporción pasa a ser de 50-50% para el primero y en el caso de Méjico la proporción se invierte 65%-35%. Estas dos muestras son las mismas en que el porcentaje promedio de extracto graso obtenido con diclorometano es superior al resto.

Como conclusiones generales de este apartado, cabría decir que:

- Una única extracción con diclorometano es insuficiente para garantizar la recuperación mayoritaria del extracto graso contenido en algodón.
- Se evidencia una cierta homogeneidad en el contenido en ceras extraídas por diclorometano y por metanol en las diferentes muestras estudiadas pese a provenir de áreas productoras muy diferentes, siendo el extracto graso obtenido mediante diclorometano de 0,50% y el obtenido mediante metanol de 1,5% aproximadamente.
- La reproducibilidad del método es elevada dados los valores obtenidos de % de desviación estándar (un máximo de un 17% en los blancos).
- Corroborar como el empleo de un SOXTEC[®] System HT2, reduce el tiempo de operación de una extracción Soxhlet común a 1-1,5 horas, y optimiza la recuperación de solvente (entre 60-75%).

1.5 TIEMPO DE RETENCIÓN

Se procede a la determinación del tiempo de retención de los pesticidas organoclorados.

Se realiza una primera fase de trabajo con los objetivos de:

- determinar los tiempos de retención de los diferentes analitos
- optimizar el método de análisis empleado.

En esta primera fase se utiliza el sistema Full Scan (o de barrido completo) del GC-MS (sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) y como patrones de pesticidas las disoluciones certificadas POC's concentrada y diluida referidas en la sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** Las condiciones óptimas del sistema GC-MS empleado ya han sido referidas previamente.

Una vez cubiertos los objetivos de la primera fase, se pasa en una segunda fase a trabajar en modo SIM (Selected Ion Monitoring) sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** empleando las disoluciones estándares preparadas en el laboratorio. Para ello, es necesaria la preparación de las disoluciones stock, stock mezcla, estándares de calibración y estándar interno tal y como se refiere en la sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y del propio equipo GC-MS, secciones **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** Las concentraciones de los estándares de calibración se refieren en la Tabla 36.

Tabla 8 Concentraciones de los estándares de calibración

Pesticida	1,000 (ng/μl)	0,100 (ng/μl)	0,080 (ng/μl)	0,060 (ng/μl)	0,050 (ng/μl)	0,040 (ng/μl)	0,030 (ng/μl)	0,020 (ng/μl)
Hexaclorobenceno	0,477	0,048	0,038	0,029	0,029	0,019	0,014	0,010
Phenantrene- d₁₀	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Aldrín	1,120	0,112	0,090	0,067	0,056	0,045	0,034	0,022
Clordano	1,257	0,126	0,101	0,075	0,063	0,050	0,038	0,025
o,p'-DDE	1,117	0,112	0,089	0,067	0,056	0,045	0,027	0,018
p,p'-DDE	0,907	0,091	0,073	0,054	0,045	0,036	0,027	0,018
Dieldrín	1,086	0,109	0,087	0,065	0,054	0,044	0,033	0,022
o,p'-DDD	0,964	0,096	0,077	0,058	0,048	0,038	0,029	0,019
Endrín	0,985	0,099	0,079	0,059	0,049	0,040	0,030	0,020
p,p'-DDD	1,000	0,100	0,080	0,060	0,050	0,040	0,030	0,020
o,p'-DDT	0,959	0,096	0,077	0,058	0,048	0,038	0,029	0,019
p,p'-DDT	1,247	0,125	0,100	0,075	0,062	0,050	0,037	0,025
Chrysene-d₁₂	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

- En sombreado los analitos empleados como estándares internos.

El programa Mass.lab V_{3.1}® (sistema informático que controla el GC-MS) facilita automáticamente los tiempos de retención promedio (RT_m) para cada analito, obteniendo este dato a partir de los tiempos de retención (RT) de los diferentes pesticidas a las diferentes concentraciones empleadas para realizar las rectas de calibración.

Empleando los RT_m de las diferentes rectas de calibración facilitadas por el sistema Mass.lab V_{3.1}® realizadas durante los meses de septiembre a diciembre de 1998 como datos de partida (supone un mínimo de 30 datos de RT para cada analito) se obtienen los siguientes tiempos de retención promedio:

Tabla 9 Tiempos de Retención promedio de los pesticidas organoclorados

	1	2	3	4	5	RT_m	SD_{RT}	$\%SD_{RT}$
Hexaclorobenceno	7,958	7,966	7,958	8,043	8,205	8,026	0,095	1,18
Phenantrene	9,484	9,491	9,484	9,561	9,674	9,539	0,074	0,77
Aldrín	13,267	13,271	13,267	13,337	13,419	13,312	0,060	0,45
Clordano	17,22	17,224	17,184	17,343	17,488	17,292	0,112	0,65
o,p'-DDE	16,772	16,78	16,772	16,84	16,875	16,808	0,042	0,25
p,p'-DDE	18,43	18,418	18,475	18,474	18,507	18,461	0,033	0,18
Dieldrín	18,518	18,506	18,556	18,574	18,603	18,551	0,036	0,19
o,p'-DDD	18,714	18,702	18,753	18,75	18,79	18,742	0,031	0,17
Endrín	19,476	19,475	19,438	19,456	19,447	19,458	0,015	0,08
p,p'-DDD	20,431	20,42	20,462	20,473	20,486	20,454	0,025	0,12
o,p'-DDT	20,487	20,477	20,524	20,519	20,486	20,499	0,019	0,09
p,p'-DDT	22,114	22,105	22,151	22,154	22,175	22,140	0,026	0,12
Chrysene	24,193	24,184	24,237	24,251	24,244	24,222	0,028	0,11

- Como se puede deducir de la *Tabla 9* la precisión del sistema de análisis GC-MS es muy elevada al reproducir fielmente los RT de los diferentes pesticidas analizados así como de los analitos empleados como estándares internos, dados los valores que presentan los $\%SD_{RT}$ (sobre un mínimo de 30 datos por analito).
- El valor promedio de porcentaje de desviación estándar de todos los analitos es un 0,34%.
- El valor máximo de porcentaje de desviación estándar es de un 1,18% para el caso del *hexaclorobenceno*, primer pesticida en eluir.
- De la misma forma los valores más elevados de porcentaje de desviación estándar (rango de 0,45%-1,18%) corresponden a los primeros analitos en eluir *Hexaclorobenceno*, *Phenantrene*, *Aldrín* y *Clordano*.
- Existe una franja intermedia de valores de porcentaje de desviación estándar (0,17%-0,25%) para los pesticidas con tiempos de retención también intermedios: desde *o,p'-DDE* a *o,p'-DDD*.

- Los valores mínimos de porcentaje de desviación estándar (rango 0,08%-0,12%) se presentan por el contrario para los analitos con mayores tiempos de retención: de *Endrín* a *Chrysene*.

De la misma forma que se ha procedido al cálculo de los RT_m empleando la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se procede al cálculo de los tiempos de retención relativos promedio (ver **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), es decir los tiempos de retención de cada analito referidos al estándar interno empleado en cada caso como referente (remarcado en trazo más grueso los dos grupos de analitos y el estándar interno respectivo).

Tabla 10 Tiempos de Retención Relativos promedio de los pesticidas organoclorados

	1	2	3	4	5	RRT_m	SD_{RRT}	$\%SD_{RRT}$
Hexaclorobenceno	1,526	1,525	1,526	1,518	1,469	1,513	0,022	1,46
Phenantrene	0	0	0	0	0	0	0	0
Aldrín	3,783	3,780	3,783	3,776	3,745	3,821	0,024	0,64
Clordano	7,736	7,733	7,700	7,782	7,814	7,801	0,045	0,57
o,p'-DDE	7,288	7,289	7,288	7,279	7,201	7,317	0,039	0,54
p,p'-DDE	5,763	5,766	5,762	5,777	5,737	5,723	0,020	0,35
Dieldrín	5,675	5,678	5,681	5,677	5,641	5,633	0,021	0,38
o,p'-DDD	5,479	5,482	5,484	5,501	5,454	5,442	0,022	0,40
Endrín	4,717	4,709	4,799	4,795	4,797	4,726	0,044	0,93
p,p'-DDD	3,762	3,764	3,775	3,778	3,758	3,723	0,017	0,46
o,p'-DDT	3,706	3,707	3,713	3,732	3,758	3,685	0,025	0,68
p,p'-DDT	2,079	2,079	2,086	2,097	2,069	2,044	0,018	0,88
Chrysene	0	0	0	0	0	0	0	0

- De la *Tabla 10* se puede deducir como el porcentaje de desviación estándar de los tiempos de retención relativos no superan en ningún caso el 1,50%, siendo el

valor máximo de dicho porcentaje de un 1,46% para el caso del *hexaclorobenceno*, primer pesticida en eluir.

- El valor promedio de porcentaje de desviación estándar se sitúa en el 0,66%.
- Al contrario que con los tiempos de retención no parece haber una correlación entre el orden de elución y el porcentaje de desviación estándar, al ser dichos tiempos referidos a diferentes estándares internos.

1.6 RECTAS CALIBRACIÓN GC-MS.

Siguiendo el protocolo de muestras establecido en el apartado **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se procede a la calibración del sistema GC-MS empleando las condiciones de análisis óptimas ya predeterminadas.

Este paso es imprescindible para:

- la obtención de los Factores de Respuesta de los diferentes pesticidas (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) y el Factor de Respuesta promedio (Ec.6).
- el cálculo del porcentaje de desviación estándar (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) y la validación o no de la recta de calibrado según el criterio establecido según el cual $\%RSD_{RF}$ ha de ser inferior o igual a un 30% para cada uno de los analitos.
- Una vez superado el criterio de validación, la cuantificación de las muestras a analizar (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

El programa Mass.lab V_{3.1}® (sistema informático que controla el GC-MS) facilita los valores de los Factores de Respuesta promedio, de la desviación estándar y del porcentaje de desviación estándar para cada pesticida en cada recta de calibrado realizada, por lo que el operador inmediatamente puede determinar la validez o no de dicha calibración. Se presentan algunos ejemplos en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** junto con el sistema de cuantificación del GC-MS.

1.6.1 VALORES CONCENTRACIONES ESTÁNDAR CALIBRACIÓN.

Las concentraciones de los estándares de calibración empleados para cada pesticida organoclorado han sido ya citadas en la *Tabla36*. Tal y como se ha referido repetidas veces a lo largo del presente trabajo el límite de pesticidas organoclorados contenidos sobre algodón crudo establecido por la Ecolabel es de 0,05 mg pesticida/kg algodón crudo.

En nuestro trabajo experimental se ha partido en general de 5,00 g de algodón o lana de vidrio (empleada como blanco), a partir de este valor de muestra inicial de materia prima a través de los siguientes factores de conversión calculamos qué cantidad mínima de cada pesticida es la que el método de análisis ha de ser capaz de

$$5_{g(a\lg\odot\acute{o}n)} \times \frac{0,05_{mg(pesticida)}}{1000_{g(a\lg\odot\acute{o}n)}} \times \frac{1_g}{1000_{mg}} \times \frac{10^9_{ng}}{1_g} = 250_{ng(pesticida)}$$

detectar:

Tras la extracción Soxtec[®], el extracto graso, el cual se ajusta siempre a 4 ml, se pasa según el caso por diferentes etapas concentración llevándose al final a un volumen de 1ml en todos los casos, por lo que la concentración final de pesticida a detectar es de:

$$[Pesticida] = \frac{250_{ng(pesticida)}}{1000_{\mu l}} = 0,250_{ng/\mu l}$$

En otros casos de los 4ml de extracto graso se toman aliquotas de 1ml para realizar diferentes protocolos de purificación y concentración posterior por lo que en estos casos la concentración final presente de pesticida es de:

$$[Pesticida] = \frac{62,5_{ng(pesticida)}}{1000_{\mu l}} = 0,0625_{ng/\mu l}$$

$$\frac{250_{ng(pesticida)}}{4000_{\mu l}} \times 1000_{\mu l} = 62,5_{ng(pesticida)}$$

¶ Dado que las concentraciones de los estándares de calibración oscilan entre 0,1-0,02 ng/μl (Ver Tabla 36) queda patente como queda asegurado el límite de análisis establecido por la legislación en el protocolo empleado.

Si realizamos el cálculo inverso, es decir a partir de la concentración más baja empleada podemos calcular la cantidad mínima de pesticida que es posible analizar con este método que está muy por debajo del límite impuesto por la Ecolabel.

$$0,02 \text{ ng} / \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{l} = 20 \text{ ng (pesticida)}$$

1.6.2 FACTORES DE RESPUESTA PROMEDIO GLOBALES

Se ha procedido a un trabajo posterior con el que se pretende establecer un valor promedio de RF_m para cada uno de los pesticidas analizados, para ello se emplean como datos los valores disponibles de RF_m durante los meses de septiembre a diciembre de 1998 (lo que supone emplear unos 25 datos), Ver ejemplos de rectas de calibración en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Tabla 11 Factor de respuesta promedio global RF_m

	1	2	3	4	5	RF_m GLOBAL	SD_{RF}	$\%SD_{RF}$
Hexaclorobenceno	1,348	1,671	1,505	1,253	1,881	1,527	0,208	13,63
Phenantrene	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,000	0,00
Aldrín	0,082	0,126	0,150	0,128	0,166	0,130	0,017	13,33
Clordano	0,009	0,010	0,014	0,016	0,012	0,013	0,003	19,86
o,p'-DDE		0,590	0,810	0,712	0,842	0,739	0,098	13,30
p,p'-DDE	2,571	2,122	2,333	1,650	1,700	2,075	0,292	14,07
Dieldrín	0,309	0,172	0,214	0,154	0,151	0,200	0,028	13,97
o,p'-DDD	2,026	1,903	2,135	1,232	1,196	1,698	0,413	24,29
Endrín				0,012	0,013	0,013	0,000	4,00
p,p'-DDD	2,283	2,099	2,519	1,026	0,971	1,780	0,652	36,62
o,p'-DDT		0,836	0,818	0,259	0,253	0,542	0,286	52,74
p,p'-DDT	0,728			0,637	0,600	0,655	0,028	4,28
Chrysene	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,000	0,00

* Las celdas en blanco corresponden a valores no disponibles o a valores descartados.

De la *Tabla 11* se puede concluir como:

- Cabe remarcar que cada recta de calibración empleada, es decir aquellas en que el $\%SD_{RF}$ no superaba el límite establecido de 30%, presenta valores de RF_m diferentes para cada pesticida en función de su mayor o menor respuesta relativa al estándar interno.
- Los pesticidas que presentan un mayor RF_m son el *Hexaclorbenzeno*, y los diferentes isómeros de *DDE,DDD* y *DDT*.
- *Clordano* y *Endrín*, son por el contrario los pesticidas con valores inferiores de RF_m .
- Calculado el RF_m global para cada pesticida se observa como el $\%SD_{RF}$ calculado a partir de RF_m no supera tampoco el límite del 30%, excepto en el caso de *p,p'-DDD* y *o,p'-DDT*, pesticidas que eluyen muy próximos tal y como se puede observar en los cromatogramas indicados en los anexos.

1.7 PORCENTAJE RECUPERACIÓN PESTICIDAS:FASE EXTRACCIÓN

En este apartado se presentan los porcentajes de recuperación de los diferentes pesticidas organoclorados en la fase de extracción mediante un Soxhlet automatizado.

El protocolo se realiza por cuadruplicado, partiendo de unos 5,00 g de lana de vidrio (empleado como blanco) al cual se procede a adicionar diferentes cantidades conocidas de solución estándar stock mezcla de los pesticidas a analizar con una concentración inicial de 5 ng/ μ l (sin estándar interno).

Se procede a la preparación de la disolución estándar stock, estándar stock mezcla y del estándar interno tal y como se refiere en la sección ***¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***

Una vez se han adicionado los pesticidas, se somete la lana de vidrio a una extracción Soxhlet tal y como se especifica en la sección ***¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***, para posteriormente proceder a concentrar hasta un volumen de 4 ml (Ver sección ***¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***) y a analizar por GC-MS para la cuantificación de las muestras y el cálculo de los porcentajes de recuperación.

Tabla 12 Volúmenes añadidos de disolución stock a las muestras de lana de vidrio

MUESTRA	Masa lana de vidrio (g)	V añadido (5ng/μl) (μl)	Masa promedio pesticida (ng)	Concentración final (ng/μl)
1	4,99	10	50	0,0125
2	5,08	10	50	0,0125
3	5,06	10	50	0,0125
4	4,98	10	50	0,0125
5	5,01	50	250	0,0625
6	4,97	50	250	0,0625
7	5,05	50	250	0,0625
8	5,01	50	250	0,0625
9	5,04	100	500	0,1250
10	5,07	100	500	0,1250
11	5,07	100	500	0,1250
12	5,04	100	500	0,1250

Como se puede observar las muestras 1 a 4 presentan concentraciones inferiores al límite de 0,02 ng/ μ l (concentración mínima de las rectas de calibración) por lo que su detección y análisis directo se descarta (se debe proceder a una reconcentración de forma que las concentraciones a analizar queden dentro del rango de las rectas de calibración).

En las muestras 5 a 12 si se ha procedido al análisis por duplicado de cada una de las muestras (previa adición de estándar interno) y al cálculo de los porcentajes de recuperación de cada uno de los analitos.

Tabla 13 % Recuperación fase extracción: *Hexaclorobenceno*

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	119	0,024	4	0,030	0,029	97,4
E5 DUP	5,01	50	119	0,024	4	0,030	0,025	83,9
E6	4,97	50	119	0,024	4	0,030	0,002	6,7
E6 DUP	4,97	50	119	0,024	4	0,030	0,002	6,7
E7	5,05	50	119	0,024	4	0,030	0,030	100,7
E7 DUP	5,05	50	119	0,024	4	0,030	0,030	100,7
E8	5,01	50	119	0,024	4	0,030	0,030	100,7
E8 DUP	5,01	50	119	0,024	4	0,030	0,031	104,1
E9	5,04	100	238	0,047	4	0,060	0,060	100,7
E9 DUP	5,04	100	238	0,047	4	0,060	0,057	95,7
E10	5,07	100	238	0,047	4	0,060	0,054	90,7
E10 DUP	5,07	100	238	0,047	4	0,060	0,063	105,8
E11	5,07	100	238	0,047	4	0,060	0,052	87,3
E11 DUP	5,07	100	238	0,047	4	0,060	0,060	100,7
E12	5,04	100	238	0,047	4	0,060	0,055	92,3
E12 DUP	5,04	100	238	0,047	4	0,060	0,055	92,3

%REC (promedio)	96,7
SD	6,5
%SD	6,7

Tabla 14 % Recuperación fase extracción: Aldrín

MUESTRA	m lana vidrio (g)	V stock (ul)	M pest (ng)	C_{nom} (mg/kg)	V final (ml)	C_{nom} (ng/ul)	C_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	280	0,056	4	0,070	0,065	92,9
E5 DUP	5,01	50	280	0,056	4	0,070	0,055	78,6
E6	4,97	50	280	0,056	4	0,070	0,000	0,0
E6 DUP	4,97	50	280	0,056	4	0,070	0,000	0,0
E7	5,05	50	280	0,055	4	0,070	0,063	90,0
E7 DUP	5,05	50	280	0,055	4	0,070	0,050	71,4
E8	5,01	50	280	0,056	4	0,070	0,047	67,1
E8 DUP	5,01	50	280	0,056	4	0,070	0,034	48,6
E9	5,04	100	560	0,111	4	0,140	0,166	118,6
E9 DUP	5,04	100	560	0,111	4	0,140	0,178	127,1
E10	5,07	100	560	0,110	4	0,140	0,139	99,3
E10 DUP	5,07	100	560	0,110	4	0,140	0,086	61,4
E11	5,07	100	560	0,110	4	0,140	0,134	95,7
E11 DUP	5,07	100	560	0,110	4	0,140	0,142	101,4
E12	5,04	100	560	0,111	4	0,140	0,108	77,1
E12 DUP	5,04	100	560	0,111	4	0,140	0,130	92,9

%REC (promedio)	92,7
SD	17,9
%SD	19,4

Tabla 15 % Recuperación fase extracción: *o,p'*-DDE

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	279	0,056	4	0,070	0,094	134,6
E5 DUP	5,01	50	279	0,056	4	0,070	0,087	124,6
E6	4,97	50	279	0,056	4	0,070	0,010	14,3
E6 DUP	4,97	50	279	0,056	4	0,070	0,004	5,7
E7	5,05	50	279	0,055	4	0,070	0,049	70,2
E7 DUP	5,05	50	279	0,055	4	0,070	0,056	80,2
E8	5,01	50	279	0,056	4	0,070	0,062	88,8
E8 DUP	5,01	50	279	0,056	4	0,070	0,036	51,6
E9	5,04	100	559	0,111	4	0,140	0,207	148,3
E9 DUP	5,04	100	559	0,111	4	0,140	0,202	144,7
E10	5,07	100	559	0,110	4	0,140	0,148	106,0
E10 DUP	5,07	100	559	0,110	4	0,140	0,093	66,6
E11	5,07	100	559	0,110	4	0,140	0,158	113,2
E11 DUP	5,07	100	559	0,110	4	0,140	0,159	113,9
E12	5,04	100	559	0,111	4	0,140	0,111	79,5
E12 DUP	5,04	100	559	0,111	4	0,140	0,148	106,0

%REC (promedio)	105,9
SD	27,5
%SD	25,9

Tabla 16 % Recuperación fase extracción: *p,p'*-DDE

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	227	0,045	4	0,057	0,037	65,3
E5 DUP	5,01	50	227	0,045	4	0,057	0,029	51,2
E6	4,97	50	227	0,046	4	0,057	0,002	3,5
E6 DUP	4,97	50	227	0,046	4	0,057	0,000	0,0
E7	5,05	50	227	0,045	4	0,057	0,040	70,6
E7 DUP	5,05	50	227	0,045	4	0,057	0,042	74,1
E8	5,01	50	227	0,045	4	0,057	0,026	45,9
E8 DUP	5,01	50	227	0,045	4	0,057	0,026	45,9
E9	5,04	100	454	0,090	4	0,113	0,070	61,7
E9 DUP	5,04	100	454	0,090	4	0,113	0,084	74,1
E10	5,07	100	454	0,089	4	0,113	0,062	54,7
E10 DUP	5,07	100	454	0,089	4	0,113	0,062	54,7
E11	5,07	100	454	0,089	4	0,113		0,0
E11 DUP	5,07	100	454	0,089	4	0,113	0,059	52,0
E12	5,04	100	454	0,090	4	0,113	0,073	64,4
E12 DUP	5,04	100	454	0,090	4	0,113	0,059	52,0

%REC (promedio)	59,0
SD	10,0
%SD	17,0

Tabla 17 % Recuperación fase extracción: *dieldrín*

MUESTRA	<i>m lana</i> <i>vidrio</i> (g)	<i>V</i> <i>stock</i> (ul)	<i>M pest</i> (ng)	<i>C_{nom}</i> (mg/kg)	<i>V final</i> (ml)	<i>C_{nom}</i> (ng/ul)	<i>C_{calc}</i> (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	272	0,054	4	0,068	0,040	58,9
E5 DUP	5,01	50	272	0,054	4	0,068	0,038	56,0
E6	4,97	50	272	0,055	4	0,068	0,000	0,0
E6 DUP	4,97	50	272	0,055	4	0,068	0,000	0,0
E7	5,05	50	272	0,054	4	0,068	0,000	0,0
E7 DUP	5,05	50	272	0,054	4	0,068	0,045	66,3
E8	5,01	50	272	0,054	4	0,068	0,037	54,5
E8 DUP	5,01	50	272	0,054	4	0,068	0,000	0,0
E9	5,04	100	543	0,108	4	0,136	0,066	48,6
E9 DUP	5,04	100	543	0,108	4	0,136	0,103	75,9
E10	5,07	100	543	0,107	4	0,136	0,085	62,6
E10 DUP	5,07	100	543	0,107	4	0,136	0,085	62,6
E11	5,07	100	543	0,107	4	0,136		0,0
E11 DUP	5,07	100	543	0,107	4	0,136	0,070	51,6
E12	5,04	100	543	0,108	4	0,136	0,094	69,2
E12 DUP	5,04	100	543	0,108	4	0,136	0,071	52,3

%REC (promedio)	59,9
SD	8,4
%SD	14,0

Tabla 18 % Recuperación fase extracción: *o,p'*-DDD

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	241	0,048	4	0,060	0,042	69,7
E5 DUP	5,01	50	241	0,048	4	0,060	0,031	51,5
E6	4,97	50	241	0,048	4	0,060	0,003	5,0
E6 DUP	4,97	50	241	0,048	4	0,060	0,000	0,0
E7	5,05	50	241	0,048	4	0,060	0,041	68,0
E7 DUP	5,05	50	241	0,048	4	0,060	0,041	68,0
E8	5,01	50	241	0,048	4	0,060	0,028	46,5
E8 DUP	5,01	50	241	0,048	4	0,060	0,026	43,2
E9	5,04	100	482	0,096	4	0,121	0,157	130,3
E9 DUP	5,04	100	482	0,096	4	0,121	0,091	75,5
E10	5,07	100	482	0,095	4	0,121	0,069	57,3
E10 DUP	5,07	100	482	0,095	4	0,121	0,069	57,3
E11	5,07	100	482	0,095	4	0,121		0,0
E11 DUP	5,07	100	482	0,095	4	0,121	0,063	52,3
E12	5,04	100	482	0,096	4	0,121	0,076	63,1
E12 DUP	5,04	100	482	0,096	4	0,121	0,066	54,8

%REC (promedio)	58,9
SD	10,0
%SD	17,0

Tabla 19 % Recuperación fase extracción: *p,p'*-DDD

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	250	0,050	4	0,063	0,053	84,8
E5 DUP	5,01	50	250	0,050	4	0,063	0,038	60,8
E6	4,97	50	250	0,050	4	0,063	0,003	4,8
E6 DUP	4,97	50	250	0,050	4	0,063	0,000	0,0
E7	5,05	50	250	0,050	4	0,063	0,042	67,2
E7 DUP	5,05	50	250	0,050	4	0,063	0,045	72,0
E8	5,01	50	250	0,050	4	0,063	0,037	59,2
E8 DUP	5,01	50	250	0,050	4	0,063	0,022	35,2
E9	5,04	100	500	0,099	4	0,125	0,082	65,6
E9 DUP	5,04	100	500	0,099	4	0,125	0,098	78,4
E10	5,07	100	500	0,099	4	0,125	0,087	69,6
E10 DUP	5,07	100	500	0,099	4	0,125	0,087	69,6
E11	5,07	100	500	0,099	4	0,125		0,0
E11 DUP	5,07	100	500	0,099	4	0,125	0,079	63,2
E12	5,04	100	500	0,099	4	0,125	0,086	68,8
E12 DUP	5,04	100	500	0,099	4	0,125	0,076	60,8

%REC (promedio)	68,3
SD	7,5
%SD	11,0

Tabla 20 % Recuperación fase extracción: o,p'-DDT

MUESTRA	m lana vidrio (g)	V stock (ul)	M pest (ng)	C_{nom} (mg/kg)	V final (ml)	C_{nom} (ng/ul)	C_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,051	85,1
E5 DUP	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,037	61,7
E6	4,97	50	240	0,048	4	0,060	0,003	5,0
E6 DUP	4,97	50	240	0,048	4	0,060	0,000	0,0
E7	5,05	50	240	0,047	4	0,060	0,040	66,7
E7 DUP	5,05	50	240	0,047	4	0,060	0,044	73,4
E8	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,036	60,1
E8 DUP	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,011	18,4
E9	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,081	67,6
E9 DUP	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,094	78,4
E10	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,083	69,2
E10 DUP	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,083	69,2
E11	5,07	100	480	0,095	4	0,120		0,0
E11 DUP	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,076	63,4
E12	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,083	69,2
E12 DUP	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,073	60,9

%REC (promedio)	68,8
SD	7,4
%SD	10,8

Tabla 21 % Recuperación fase extracción: *p,p'*-DDT

MUESTRA	<i>m</i> lana vidrio (g)	<i>V</i> stock (ul)	<i>M</i> pest (ng)	<i>C</i>_{nom} (mg/kg)	<i>V</i> final (ml)	<i>C</i>_{nom} (ng/ul)	<i>C</i>_{calc} (ng/ul)	% REC
E5	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,091	151,8
E5 DUP	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,064	106,8
E6	4,97	50	240	0,048	4	0,060	0,007	11,7
E6 DUP	4,97	50	240	0,048	4	0,060	0,000	0,0
E7	5,05	50	240	0,047	4	0,060	0,052	86,8
E7 DUP	5,05	50	240	0,047	4	0,060	0,061	101,8
E8	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,054	90,1
E8 DUP	5,01	50	240	0,048	4	0,060	0,072	120,1
E9	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,129	107,6
E9 DUP	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,168	140,1
E10	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,143	119,3
E10 DUP	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,143	119,3
E11	5,07	100	480	0,095	4	0,120		0,0
E11 DUP	5,07	100	480	0,095	4	0,120	0,125	104,3
E12	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,123	102,6
E12 DUP	5,04	100	480	0,095	4	0,120	0,124	103,4

%REC (promedio)	111,8
SD	18,3
%SD	16,4

Fig. 5 %Recuperación fase extracción

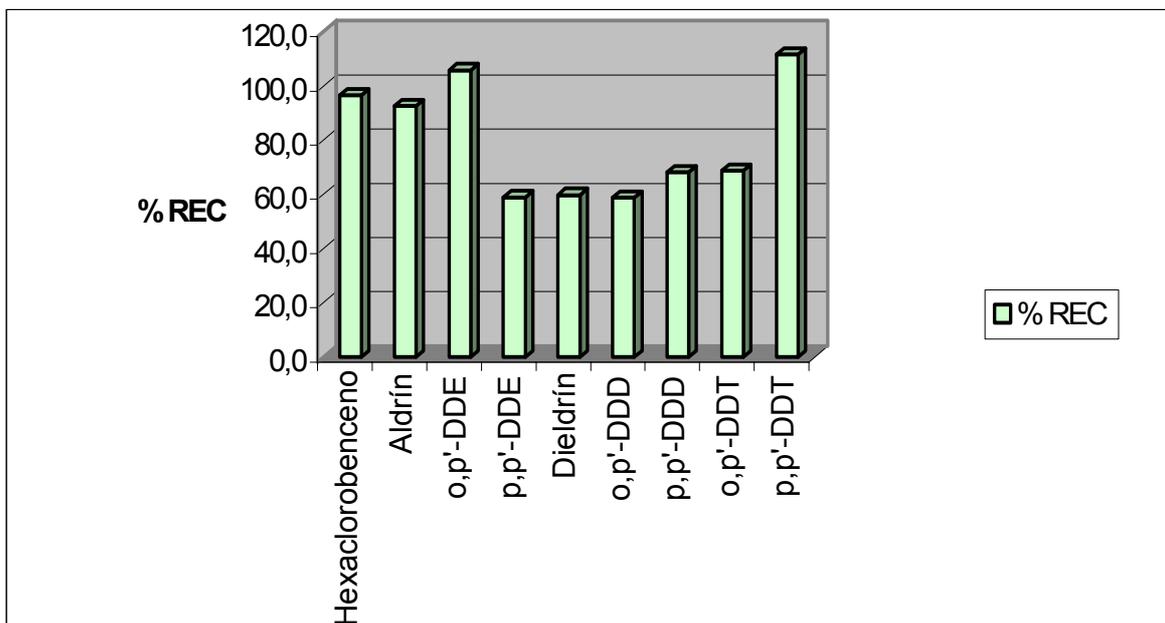


Fig. 6 %SD del % REC de la fase de extracción

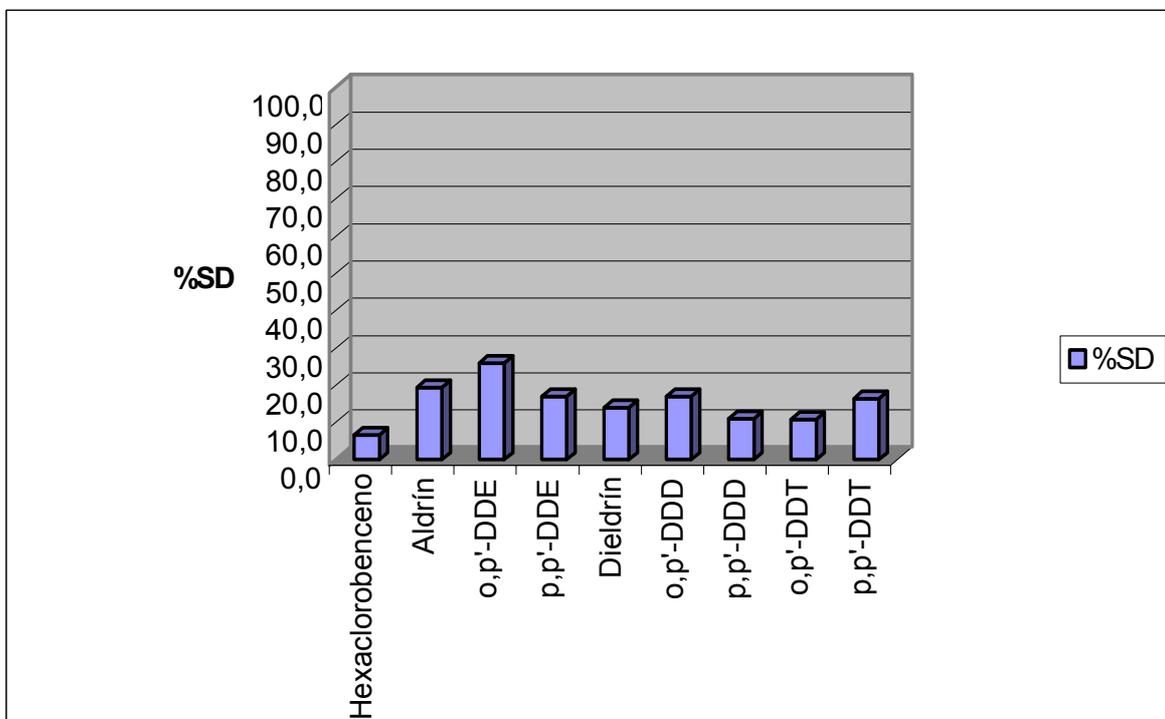


Tabla 22 %REC promedio de los pesticidas analizados en la fase de Extracción

Pesticida	%REC	SD	%SD
Hexaclorobenceno	96,7	6,5	6,7
Aldrín	92,7	17,9	19,4
o,p'-DDE	105,9	27,5	25,9
p,p'-DDE	59,0	10,0	17,0
Dieldrín	59,9	8,4	14,0
o,p'-DDD	68,3	10,0	17,0
p,p'-DDD	68,8	7,5	11,0
o,p'-DDT	111,8	7,4	10,8
p,p'-DDT	80,2	18,3	16,4
PROMEDIO	80,2	12,6	15,4

De las Tablas y de la Figura previas se puede concluir que:

- Durante la fase de extracción se recupera como promedio un 80% de los pesticidas adicionados a los blancos de lana de vidrio.
- Esta recuperación no es homogénea
- Los pesticidas con un porcentaje de recuperación entre el 90-112% son:
Hexaclorobenceno, Aldrín, o,p'-DDE y p,p'-DDT.
- Los pesticidas recuperados con un porcentaje inferior (entorno al 60%) son:
p,p'-DDE, Dieldrín y o,p'-DDD.

-
- Existe un tercer grupo con una recuperación en torno al 70% formado por: *p,p'*-DDD y *o,p'*-DDT.
 - Es factible que se haya producido una degradación de algunos isómeros del DDT hacia *o,p'*-DDE y *p,p'*-DDT, dado que los porcentajes de recuperación de ambos pesticidas son superiores al 100%.
 - El porcentaje de desviación estándar no supera en ningún caso el 30%, valor establecido como límite para las rectas de calibrado.
 - El pesticida que presenta una recuperación más constante es el *Hexaclorobenceno*, dado que su %SD es de un 6,7%.
 - Los pesticidas con una recuperación más irregular son el *o,p'*-DDE (%SD de 25,9) y *Aldrín* (%SD 19,4).
 - El resto de pesticidas presentan un %SD entre 10-17%
 - Dado los valores de %REC y de %SD se considera el método de extracción empleado válido para el protocolo de análisis de pesticidas organoclorados sobre algodón crudo.

Los espectros de los analitos se presentan en el ANEXO 8

1.8 SELECCIÓN TÉCNICA PURIFICACIÓN ^(v)

El presente apartado experimental se realizó durante al verano de 1997 en la Chemistry and Chemical Engineering Division (Analytical and Environmental Chemistry) en el Southwest Research Institute 6220 Culebra Road (San Antonio) Texas, Estados Unidos bajo la supervisión del Dr. Kevin Villalobos y Sairam Abburu, empleando el material, patrones etc. disponibles en dicho centro. La estancia se realizó gracias a una beca del Comisionat de Recerca de la Generalitat de Catalunya.

1.8.1 INTRODUCCIÓN

El objetivo que se propone es comparar diferentes métodos de purificación de cara a la selección del método considerado óptimo teniendo en cuenta:

- el % recuperación de los pesticidas analizados
- el coste económico, el cual lo evaluamos en base a: tiempo empleado, material necesario y volumen de solvente empleado.

El método de purificación considerado como óptimo será aquel en el que coincidan una buena recuperación de los analitos de interés y por otro lado la economía del sistema en cuanto a material y tiempo de análisis. Los métodos comparados son los siguientes:

- Purificación Florisil 1 (éter etílico/éter petróleo) (*Ver sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***)
- Purificación Florisil 2 (*Ver sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***)
- Purificación GPC (*Ver sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***)

La Directiva Doc. XI/395/95- Rev. 3 Orig⁽²⁾ hace referencia expresa a la fibra cruda de algodón como matriz sobre la que se debe realizar el análisis de pesticidas de cara a la obtención de la *ecoetiqueta*, en cambio, para la realización de este trabajo se ha escogido el aceite de maíz como matriz inicial, los motivos son:

- ambas matrices son de origen vegetal (algodón crudo y aceite de maíz)
- se considera necesario emplear una matriz con un mayor contenido en ceras (materia grasa) a la fibra cruda de algodón la cual puede contener algunos restos de semillas (de la cual se extrae el aceite de algodón)^(vi) para probar fehacientemente la bondad de los diferentes métodos.
- se considera válida la extrapolación de los resultados obtenidos con la matriz de aceite de maíz a la fibra cruda de algodón.

1.8.2 RESULTADOS

El estudio se realiza por triplicado para cada método de purificación sobre una muestra de 10 ml de aceite a la que se le añade previamente para un correcto seguimiento del proceso:

a- una mezcla de los siguientes pesticidas organoclorados: *Bayletón*, *Captafol*, *Captán*, *PCNB*.

b- como surrogate (analito de seguimiento): *DCB*

En todos los procesos se realiza un blanco.

Se filtran los 10 ml de aceite de maíz de la muestra con la jeringa de vidrio y un filtro Millipore Falp 01300 soportado por dos aros de teflón, recogién dose en un vial de 12 ml y pasándose a concentrar a 6 ml bajo una corriente de nitrógeno.

A partir de estos 6 ml se realizan los siguientes procesos de purificación:

A- 2 ml se purifican por el sistema GPC

Una vez realizada la purificación por el sistema GPC se pasa a concentrar de nuevo bajo nitrógeno la muestra a 2 ml dividiéndose en dos aliquotas:

A1- 1ml se purifica por el sistema Florisil 2 (*muestra GPC+Florisil 2*)

A2- 1 ml se mantiene tal cual(*muestra GPC*)

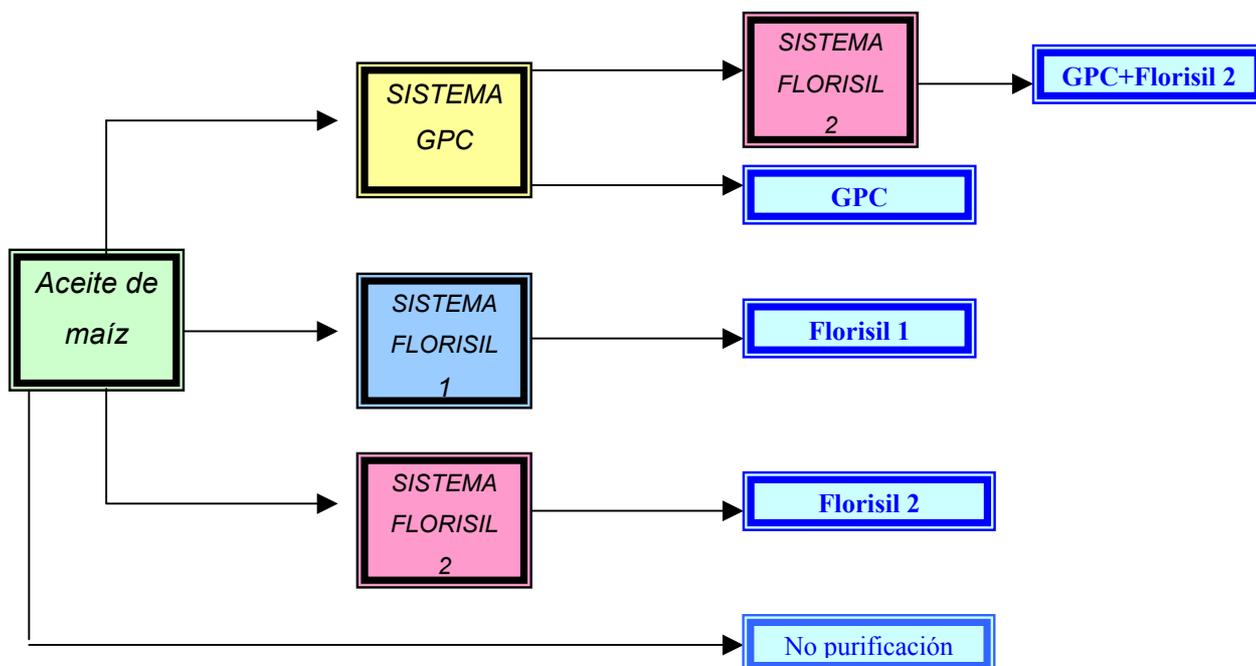
B- 1 ml se purifican por el sistema Florisil 1 (*muestra Florisil 1*)

Las 3 fracciones recogidas mediante este método se concentran mediante el Kuderna-Danish (Ver sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) a 4 ml.

C- 2ml se purifican por el sistema Florisil 2 (*muestra Florisil 2*).

D-1ml se mantiene sin purificar (*muestra no purificación*)

Fig. 7 Protocolo análisis muestra aceite de maíz



En todos los casos las muestras se concentran finalmente bajo corriente de nitrógeno; realizándose, caso de ser necesario, un intercambio de solvente a n-hexano. Posteriormente se analizan mediante un GC-ECD (*Ver sección **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***) con inyección automática on-column, empleando como columnas la DB-608 y DB-1701 con la siguiente rampa de temperaturas:

1 min----- 70 °C-----5 °C/min
20 min----- 270 °C

Las concentraciones de los pesticidas añadidos inicialmente a la muestra de aceite de maíz y las posteriormente recuperadas en las diferentes alíquotas empleadas para purificar según diferentes protocolos se presentan en la siguiente tabla. Considerar que con el método Florisil 1 se obtienen tres fracciones en las que se recuperan los diferentes pesticidas.

Tabla 23 Concentraciones promedio pesticidas organoclorados en función del método de purificación empleado.

VIAL	Sistema de purificación	Bayleton (ng/μl)	Captafol (ng/μl)	Captán (ng/μl)	PCNB (ng/μl)	Surrogate (ng/μl)
OC1	No purificación Extracto original	0,211	0,201	0,159	0,157	0,063
OC2	GPC	0,213	0,198	0,163	0,153	0,078
OC3	GPC+Florisil 2	0,190	0,188	0,147	0,128	0,066
OC4	Florisil 2	0,152	0,244	0,172	0,153	0,067
OC5	Frac. 6% Florisil 1	-	-	-	0,123	0,066
OC6	Frac. 15% Florisil 1	-	-	-	-	0
OC7	Frac. 50% Florisil 1	0,141	0,193	0,024	-	0
OC8	Blanco Frac. 6% Florisil 1				0,113	0,066
OC9	Blanco Frac.15% Florisil 1	-	-	-	-	0
OC10	Blanco Frac 50% Florisil 1	0,152	0,223	0,023	-	0
OC11	Estándar de recuperación	0,191	0,284	0,192	0,168	0,074

Tabla 24 Porcentajes de recuperación de pesticidas organoclorados referidos al estándar de recuperación.

Sistema de purificación	Bayleton %	Captafol %	Captán %	PCNB %	Surrogate %
No purificación Extracto original	110	71	83	93	85
GPC	112	70	85	91	105
GPC+Florisil 2	100	66	77	76	89
Florisil 2	80	86	90	91	91
Frac. 6% Florisil 1	0	0	0	73	89
Frac. 15% Florisil 1	0	0	0	0	0
Frac. 50% Florisil 1	74	68	13	0	0
Blanco Frac. 6% Florisil 1	0	0	0	67	89
Blanco Frac.15% Florisil 1	0	0	0	0	0
Blanco Frac 50% Florisil 1	80	79	13	0	0
Estándar de recuperación	100	100	100	100	100

ⁱ (1998) **Martinez M.J. y Crespi M.** Extraction by SOXTEC[®] of the fatty matter of cottons from various producing areas. Comparison extraction versus dichloromethane or successive extractions- with dichloromethane-methanol. *World Textile Abstracts*. **4**, 292.

⁷⁰ (1997) **Martinez M.J. y Crespi M.** Extracción mediante SOXTEC[®] de la materia grasa de algodones procedentes de diferentes áreas productoras. Comparación extracción con diclorometano o sucesivas diclorometano-metanol. *Grasas y aceites*. **4**, 226-230.

⁷¹ (1998) **Martinez M.J. y Crespi M.** Extracción mediante SOXTEC[®] de la materia grasa de algodones procedentes de diferentes áreas productoras. Comparación extracción con diclorometano o sucesivas diclorometano-metanol. *Revista de la Industria Textil*, **360**,74-79.

⁷² (1996) **Geene R.V y Wimbush J.M.** The extraction for chemical analysis of pesticide residues in wool and wool products. *IWS*.

⁷³ (1998) **Martinez M.J. y Crespi. M.** Comparación de diferentes métodos de purificación de pesticidas organoclorados sobre extractos grasos de aceite de maiz de cara a su posterior análisis por GC-ECD. *Revista de la Industria Textil*,**361**, 73–84.

⁷⁴ (1993) **Hamdy M.E. et al.** Cotton production prospects for the decade to 2005. A global overview. *World bank technical paper number 231*.