

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



EDDY ROBERTO RAMAZZINI LÓPEZ

QUÍMICO

Guatemala, octubre 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



PRESENTADO POR

EDDY ROBERTO RAMAZZINI LÓPEZ

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICO

Guatemala, octubre 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



“VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE  
CIPERMETRINA EN PESTICIDAS DE USO DOMÉSTICO POR  
CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN”

EDDY ROBERTO RAMAZZINI LÓPEZ

Guatemala, septiembre 2008.



## AGRADECIMIENTOS

### AL DEPARTAMENTO DE FISICOQUIMICA

En especial al Licenciado Robles y a don Pancho, que sin la ayuda de ustedes no hubiese sido posible terminar este trabajo.

### A MIS AMIGOS

Edward, Claudia, Abner, Rodrigo, Erick, Guillermo, Alfredo, Nelly, Walfred, Pablo, Víctor, Willy, Alex, Luisa, Ryan y muchos otros más como el Ing. Waldemar Nufio, que me apoyaron y animaron para lograr este objetivo.

### AL PERSONAL DE SERVICIOS

Por estar siempre ahí cuando los necesité, por ayudarme en muchas cosas de mi vida como estudiante.

### A AQUELLAS PERSONAS

Que de una u otra manera estuvieron apoyándome y colaborando conmigo para poder llegar a este momento.

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillon, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez	Vocal IV
Br. Anibal Rodrigo Sevillanos Cambronero	Vocal V

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

“Validación de un Método para la Cuantificación de Cipermetrina  
en Pesticidas de uso Doméstico por Cromatografía Líquida de Alta  
Resolución”.

Informe de Tesis

Presentado por

Eddy Roberto Ramazzini López

Para optar el título de

Químico

Guatemala, Septiembre 2,008

## INDICE

I. Resumen	4
II. Introducción	5
III. Antecedentes	6
A. Plaguicida	6
B. Clasificación	7
1. Clasificación según su uso	7
2. Clasificación según su formulación física	8
3. Clasificación según su formulación química	8
C. Toxicidad de los plaguicidas	9
1. En cuanto a su grado de toxicidad	9
D. Riesgos principales por el uso de pesticidas	10
E. Piretrinas y piretroides	12
1. Características y Propiedades	12
2. Efecto de las piretrinas y piretroides en el ambiente	13
3. Exposición de piretrinas y piretroides en humanos	14
4. Efecto de las piretrinas y los piretroides a la salud humana	15
F. Parámetros para la Validación de Métodos Analíticos	16
1. Razones para validar un método	16
2. Selectividad o Especificidad	16
3. Linealidad	17
4. Precisión	17
5. Exactitud	18
6. Sensibilidad	18
7. Robustez	19
IV. Justificación	20
V. Objetivos	21

VI.	Hipótesis	22
VII.	Materiales y Métodos	23
A.	Universo de trabajo	23
B.	Recursos	
1.	Humanos	23
2.	Institucionales	23
3.	Materiales	23
a.	Equipo	23
b.	Cristalería	24
c.	Reactivos	24
C.	Método	24
1.	Diseño de la Investigación	24
2.	Procedimiento	25
a.	Condiciones analíticas a utilizar	25
b.	Determinar la exactitud del método	25
c.	Determinar la linealidad del método	25
d.	Determinar la concentración mínima detectable	26
e.	Determinar la precisión del método	26
f.	Determinar la sensibilidad del método	27
g.	Determinar la robustez del método	27
h.	Determinar la selectividad del método	27
VIII.	Resultados	29
IX.	Discusión	33
X.	Conclusiones	36
XI.	Recomendaciones	37
XII.	Referencias	38
XIII.	Anexos	39

## I. RESUMEN

El utilizar insecticidas en los hogares es una práctica común. Muchas veces se aplican sin saber realmente qué es lo que se está adicionando, simplemente se hace por el hecho de que es una marca conocida. En la presente investigación, en la que se valida un método para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico por cromatografía líquida de alta resolución, se analizan los parámetros que se utilizan para dicha validación, además de someter al mismo análisis ciertas muestras comerciales.

Al validar un método, se espera que éste sea exacto, preciso, sensible, lineal y robusto, entre otras características, lo que permitirá que dicho método pueda utilizarse con certeza en otros laboratorios.

El porqué de trabajar con la cipermetrina se basa en el hecho de que en ciertas cantidades resulta tóxica por inhalación, que es una de las principales vías de ingreso al organismo humano. En las presentaciones comerciales la cipermetrina se combina con otros compuestos, además de que se le adicionan fragancias para que el olor no resulte desagradable.

Para lograr la validación del método por cromatografía líquida de alta resolución, se analizaron las condiciones en las cuales se trabajaría, la fase móvil, la fase estacionaria, las columnas a utilizar, el flujo y todas las demás variables que se deben tener en cuenta. Al final, se obtuvo que el método no es preciso y no presenta una buena exactitud, aunque sí posee una buena linealidad y es una metodología flexible y robusta, pero esto no permite afirmar que sea un método válido.

## II. INTRODUCCION

La utilización de pesticidas de uso doméstico se ha incrementado últimamente debido a la creciente presencia de plagas en los hogares. Muchos plaguicidas han resultado efectivos para controlar y eliminar dichas plagas. Sin embargo, no se ha tomado en cuenta un factor importante como es el grado de toxicidad que los compuestos de dichos pesticidas pueden presentar a los seres humanos cuando su utilización no es la adecuada.

En Guatemala no se han realizado estudios sobre la intoxicación provocada por estos compuestos.

Uno de los compuestos presentes en los pesticidas de uso doméstico es la *cipermetrina*, el cual es un compuesto sintético con efectos nocivos para el ser humano, ya que la exposición al mismo causa un cuadro de intoxicación con las siguientes características: sequedad y ardor en la garganta, tos seca, falta de aire, ardor en ojos y nariz, mareos, cefalea, visión borrosa, náuseas, lagrimeo y mucosas enrojecidas (1).

En el presente estudio se validó un método de cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de cipermetrina presente en los pesticidas de uso doméstico, debido a que es una técnica cromatográfica práctica, versátil y altamente utilizada en el mundo instrumental analítico (2).

Para realizar la validación de este método, se evaluaron los diferentes parámetros estadísticos como la linealidad, repetibilidad, robustez, sensibilidad, precisión y exactitud para confirmar que los resultados obtenidos son confiables. En el análisis de estos parámetros estadísticos, se utilizó una muestra patrón de concentración conocida de 0.5 partes por millón (ppm) de cipermetrina.

La validación de este método es importante y necesaria para que pueda ser utilizada en los procesos de control de calidad de los pesticidas.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Plaguicida

La denominación de pesticidas, o su equivalente plaguicidas, incluye una amplia variedad de productos muy diferentes en su composición y en sus propiedades a pesar de su común utilización.

Los pesticidas o plaguicidas son formulaciones o preparados que contienen uno o varios ingredientes activos, destinados a cualquiera de los siguientes fines:

- Combatir los agentes nocivos para los vegetales y productos vegetales o prevenir su acción.
- Favorecer o regular la producción vegetal, con excepción de los nutrientes y los destinados a la enmienda de suelos.
- Conservar los productos vegetales, incluso la protección de las maderas.
- Destruir los vegetales indeseables.
- Destruir parte de los vegetales o prevenir un crecimiento indeseable de los mismos.
- Hacer inofensivos, destruir o prevenir la acción de otros organismos nocivos o indeseables distintos de los que atacan a los vegetales (3).

Las formulaciones o preparados están compuestos de una o varias sustancias o ingredientes activo-técnicos y, en su caso, ingredientes inertes, coadyuvantes y aditivos, en proporción fija.

##### 1. Ingrediente activo-técnico

Todo producto orgánico o inorgánico, natural, sintético o biológico, con actividad plaguicida.

## 2. Ingredientes inertes

Aquellas sustancias o materiales que, unidos a los ingredientes activos para la preparación de formulaciones, permiten modificar sus características de dosificación o de aplicación.

## 3. Coadyuvantes

Las sustancias tales como tensoactivos, fluidificantes, estabilizantes y demás, que sean útiles en la elaboración de plaguicidas por su capacidad de modificar adecuadamente las propiedades físicas y químicas de los ingredientes activos.

## 4. Aditivos

Son aquellas sustancias tales como colorantes, repulsivos, eméticos, y demás que, sin tener influencia en la eficacia de los plaguicidas, sean utilizadas en la elaboración de los mismos con objeto de cumplir prescripciones reglamentarias u otras finalidades (3, 4).

## **B. Clasificación**

Los pesticidas pueden clasificarse atendiendo a diversos aspectos.

### 1. Clasificación según su uso

a. Pesticidas de uso fitosanitario o productos fitosanitarios: los destinados a su utilización en el ámbito de la sanidad vegetal o el control de vegetales.

b. Pesticidas de uso ganadero: los destinados a su utilización en el entorno de los animales o en actividades relacionadas con su explotación.

c. Pesticidas de uso en la industria alimenticia: los destinados a tratamientos de productos o dispositivos relacionados con la industria alimenticia.

d. Pesticidas de uso ambiental: los destinados al saneamiento de locales u otros establecimientos públicos o privados.

e. Pesticidas de uso en higiene personal: aquellos preparados útiles para la aplicación directa sobre el hombre.

f. Pesticidas de uso doméstico: cualquier preparado destinado para aplicación por personas no especialmente calificadas en viviendas o locales habitados.

## 2. Clasificación según su formulación física

- a. Gases o gases licuados
- b. Fumigantes y aerosoles
- c. Polvos con diámetro de partícula inferior a  $50\mu$
- d. Sólidos, excepto los cebos y los preparados en forma de tabletas
- e. Líquidos
- f. Cebos y tabletas

## 3. Clasificación según su formulación química

- a. Arsenicales
- b. Carbamatos
- c. Derivados de cumarina
- d. Derivados de urea
- e. Dinitrocompuestos
- f. Organoclorados
- g. Organofosforados
- h. Organometálicos
- i. Piretroides
- j. Tiocarbamatos
- k. Triazinas

Algunos de estos grupos engloban varias estructuras diferenciadas, por lo que, en caso de interés, es posible efectuar una subdivisión de los mismos (4).

### C. Toxicidad de los plaguicidas.

Las sustancias tóxicas pueden penetrar en el cuerpo mediante ingestión, inhalación o absorción dérmica. En el trabajo con pesticidas el riesgo asociado con estas tres rutas depende del propósito y la manera como se use el producto, la formulación que se emplee y las propiedades físicas y químicas del propio compuesto. No obstante, respecto de la generalidad de los productos químicos, debe destacarse la relativa importancia del riesgo debido a la posible absorción dérmica.

1. En cuanto a su grado de toxicidad
  - a. De baja peligrosidad: los que por inhalación, ingestión y/o penetración cutánea no entrañan riesgos apreciables.
  - b. Nocivos: los que por inhalación, ingestión y/o penetración cutánea puedan entrañar riesgos de gravedad limitada.
  - c. Tóxicos: los que por inhalación, ingestión y/o penetración cutánea puedan entrañar riesgos graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte.
  - d. Muy tóxicos: los que por inhalación, ingestión y/o penetración cutánea puedan entrañar riesgos extremadamente graves, agudos o crónicos, e incluso la muerte.
  - e. Corrosivos: los que en contacto con tejidos vivos pueden ejercer sobre ellos una acción destructiva.
  - f. Irritantes: los no corrosivos que, por contacto directo, prolongado o repetido con la piel o las mucosas, pueden provocar una reacción inflamatoria.
  - g. Fácilmente inflamables:
    - Plaguicidas que a la temperatura normal al aire libre y sin aporte de energía pueden calentarse e incluso inflamarse.

- En estado sólido, que pueden inflamarse fácilmente por la breve acción de una fuente inflamable y que continúan quemándose o consumiéndose después de retirar la fuente inflamable.
  - En estado líquido, que tengan un punto de inflamación inferior a 21°C.
  - Gaseosos, que son inflamables al aire libre a la presión normal.
  - Que en contacto con el agua o el aire húmedo desprenden gases fácilmente inflamables en cantidades peligrosas.
- h. Explosivos: los que pueden explosionar bajo efecto de una llama o que son más sensibles a los choques o a la fricción que el dinitrobenceno.

La clasificación toxicológica de los plaguicidas en las categorías de baja peligrosidad, nocivos, tóxicos o muy tóxicos se realiza atendiendo básicamente a su toxicidad aguda, expresada en DL50 (dosis letal al 50 por 100) por vía oral o dérmica para la rata, o en CL 50 (concentración letal al 50 por 100) por vía respiratoria para la rata, atendiendo principalmente a las vías de acción más importantes de cada compuesto (4).

#### **D. Riesgos principales por el uso de pesticidas.**

Los riesgos derivados de la utilización de pesticidas pueden tener como causa su toxicidad u otros efectos (corrosivos, irritantes, inflamabilidad, explosivos). Estas causas de riesgo son comunes con la generalidad de los productos químicos, pero presentan una particularidad destacable en cuanto a la toxicidad, cuyo grado y características son especialmente importantes en los pesticidas (5).

Si el pesticida está formado por varios constituyentes, cada uno de éstos ejercerá su acción tóxica particular, pero también podrían manifestarse efectos combinados, tanto de potenciación como de inhibición. Así mismo debe prestarse atención a los posibles efectos de las impurezas de algunos pesticidas, cuya toxicidad es particularmente importante.

Como tipos de acción, cabe considerar tanto efectos locales, producidos sobre la parte del cuerpo directamente expuesta, como efectos sistémicos, que se manifiestan en determinados órganos tras la absorción del producto. También pueden observarse efectos agudos y efectos crónicos, de acuerdo con la evolución en el tiempo de sus manifestaciones.

Los mecanismos de acción de los pesticidas sobre el organismo presentan entre sí grandes diferencias. Para algunos productos estos mecanismos son bien conocidos, incluso a nivel molecular, pero para otros son prácticamente desconocidos. Por otra parte, incluso dentro de una misma familia química pueden encontrarse compuestos clasificables desde escasamente peligrosos hasta muy tóxicos. Todo ello hace muy difícil establecer generalidades en lo concerniente a la toxicidad de los pesticidas.

Los organoclorados se acumulan en los tejidos grasos, de donde se eliminan de forma muy gradual. Los compuestos organofosforados y los carbamatos también afectan principalmente al sistema nervioso central, en este caso mediante un proceso de inhibición de la enzima colinesterasa. Los primeros actúan en forma irreversible, mientras que los segundos son inhibidores reversibles de esta enzima (4, 5).

En cuanto a otros pesticidas, su acción fisiológica y con ella su toxicidad varía en función de su estructura química, siendo específica para cada uno de ellos. Hay numerosos pesticidas que manifiestan su toxicidad a través de acciones funcionales o bioquímicas en el sistema nervioso, tanto central como periférico, pero hay otros que no presentan efectos sobre el sistema nervioso o, en su caso, éstos son secundarios respecto a los efectos primarios manifestados en sistemas como el hepático, el renal o el pulmonar. Un caso aparte lo constituyen los piretroides que, aún salvando grandes diferencias entre ellos, se caracterizan por unos efectos dérmicos y manifestaciones de alergia respiratoria de tipo asmático. Es por tanto conveniente consultar en cada caso las acciones concretas atribuidas al compuesto que nos ocupe (4, 5).

Si una persona está expuesta a piretrinas y piretroides, hay muchos factores que determinan si le afectarán adversamente. Estos factores incluyen la dosis (la cantidad), la duración (por cuánto tiempo) y de la manera como entró en contacto con estas sustancias. También debe considerar otras condiciones como edad, sexo, dieta, características personales, estilo de vida y condición de salud (4).

## **E. Piretrinas y Piretroides**

### **1. Características y Propiedades**

Piretro es una mezcla de sustancias químicas que ocurre naturalmente en ciertas flores de crisantemos. Las propiedades insecticidas del piretro se descubrieron en Asia alrededor de los años 1800 y se usó para matar garrapatas y varios tipos de insectos, tales como pulgas y mosquitos. En el extracto de piretro hay seis sustancias químicas individuales llamadas piretrinas que poseen propiedades de insecticida. En flores molidas, el piretro tiene la apariencia de polvo de color canela, mientras que el extracto crudo es un líquido con la apariencia de almíbar. Las piretrinas son poco solubles en agua, pero se disuelven en solventes orgánicos, tales como alcohol, hidrocarburos clorados y querosén. Las piretrinas se usan a menudo en insecticidas caseros y en productos para controlar insectos en animales domésticos o el ganado. Las piretrinas se degradan rápidamente en el ambiente, especialmente cuando se exponen a la luz solar (1, 7).

Los piretroides son sustancias químicas manufacturadas de estructura muy similar a las piretrinas. Los piretroides son a menudo más tóxicos a insectos y mamíferos y permanecen en el ambiente más tiempo que las piretrinas. Se han desarrollado más de 1,000 piretroides sintéticos, aunque actualmente menos de una docena se usan en Estados Unidos. A menudo las piretrinas y los piretroides se combinan comercialmente con otras sustancias químicas llamadas sinergistas, lo que aumenta la actividad insecticida de las piretrinas y los piretroides. Los sinergistas evitan que ciertas enzimas degraden a las piretrinas y piretroides, aumentando así su toxicidad (6).

Las moléculas de la mayoría de los piretroides de uso comercial están constituidas por los mismos tipos de átomos enlazados en la misma secuencia, pero con diferente orientación en el espacio. Los compuestos de este tipo se llaman estereoisómeros. Si las estructuras de dos compuestos son como imágenes en el espejo una de la otra, de manera que no se pueden sobreponer una sobre la otra, se las llama enantiómeros. Las moléculas de un par de enantiómeros tienen exactamente las mismas propiedades físicas como punto de ebullición y de fusión y solubilidad. Por otro lado, si un par de estereoisómeros no son el uno del otro como la imagen exacta en el espejo, se les llaman diasterómeros. La diferencia en estructura les confiere diferentes propiedades físicas, como por ejemplo diferentes puntos de ebullición y de fusión y diferente solubilidad. Tanto diasterómeros como enantiómeros pueden tener diferentes propiedades de insecticida y diferente toxicidad (6, 7).

Los concentrados de piretrinas y de piretroides de calidad técnica se mezclan generalmente con solventes para producir el producto de calidad comercial. El producto comercial contiene muchos ingredientes inertes que pueden aumentar la toxicidad comparado con el material de calidad técnica. Como se requiere por ley, el ingrediente activo debe ser identificado por su nombre en la etiqueta del plaguicida. Sin embargo, sólo se requiere que se especifique el porcentaje de los ingredientes inertes, de manera que a menudo es difícil determinar la identidad de las otras sustancias químicas en la formulación final (5, 6).

## 2. Efecto de las piretrinas y los piretroides en el ambiente

Las piretrinas y los piretroides se liberan principalmente al aire debido a su uso como insecticidas. En algunas ocasiones se rocían sobre cosechas desde aviones o helicópteros o se rocían desde camiones, tractores o aplicadores manuales. También se usan para controlar insectos voladores, como por ejemplo moscas y mosquitos, en animales domésticos y el ganado. Estos compuestos también se aplican por medio de bombas de aerosol y rocíos que pueden ser usados en el interior de viviendas. Las piretrinas pueden ser liberadas en forma natural por las flores de crisantemos, pero estas liberaciones son bajas

comparadas con las cantidades usadas en forma de insecticidas comerciales. Las fábricas que manufacturan estos productos también pueden liberarlos al ambiente durante el proceso de manufactura (7, 8).

En el aire, las seis piretrinas y muchos de los piretroides son degradados rápidamente por la luz solar o por otros compuestos que se encuentran en la atmósfera. A menudo duran solamente 1 ó 2 días en el aire antes de ser degradados. La lluvia y la nieve ayudan a remover del aire a los piretroides que no son degradados rápidamente. Debido a que muchos de estos compuestos son extremadamente tóxicos para los peces, generalmente no se rocían directamente sobre el agua, sin embargo, pueden entrar a los lagos, lagunas, ríos y arroyos a través de la lluvia o de agua de escorrentía proveniente de terrenos agrícolas. Estos compuestos se adhieren fuertemente al suelo y generalmente no son muy móviles en el suelo. Las piretrinas y los piretroides no son incorporados fácilmente por las raíces de las plantas y la vegetación porque se adhieren firmemente al suelo (4, 8, 9).

### 3. Exposición de piretrinas y piretroides en humanos

Una persona puede estar expuesta a las piretrinas y a los piretroides de varias maneras. La manera más común es al comer alimentos que están contaminados con estos compuestos. También puede respirar aire que contiene estos compuestos. Esto es muy probable que suceda inmediatamente después de que se hayan aplicado estos compuestos. Después de ser rociados, estos compuestos pueden también entrar en contacto con la piel y puede exponerse a través de contacto con la piel. Estos compuestos se encuentran en muchos insecticidas domésticos, rocíos para animales domésticos y champús. Algunos piretroides se usan también como tratamientos para piojos que se aplican directamente a la cabeza y como repelentes para mosquitos que se pueden aplicar a la ropa. Un tratamiento común para la sarna es la aplicación de un piretroide sobre el área de la piel afectada excepto el cuero cabelludo. El uso de estos productos puede exponerla a estas sustancias (4, 9, 10).

#### 4. Efectos de las piretrinas y los piretroides a la salud humana

Las piretrinas y los piretroides interfieren con el funcionamiento normal de los nervios y el cerebro. Si una gran cantidad de piretrinas o piretroides entran en contacto con la piel, la persona puede experimentar sensaciones de adormecimiento, comezón, ardor, escozor, hormigueo o calor que pueden durar horas. Es improbable que una persona se exponga a estas sustancias a través de los alimentos, el aire o la piel en cantidades que puedan causar otros problemas. Sin embargo, si entraran a su cuerpo cantidades muy altas de estas sustancias, puede que experimente mareo, dolores de cabeza y náusea que pueden durar varias horas. Cantidades más altas pueden causar temblores musculares, pérdida de energía y alteraciones de la conciencia. Cantidades aun más altas pueden producir convulsiones y pérdida del conocimiento. Algunas personas que usaron productos que contenían piretrinas o piretroides sufrieron reacciones alérgicas. No hay ninguna evidencia de que las piretrinas o los piretroides producen defectos de nacimiento o de que afectan la capacidad de reproducción de los seres humanos. Hay estudios en animales que sugieren que las piretrinas y los piretroides pueden ser capaces de producir cáncer en seres humanos, pero los resultados se obtuvieron en animales que comieron cantidades muy altas de piretrinas o piretroides de por vida (1, 10).

Es probable que los niños expuestos a grandes cantidades de piretrinas o piretroides experimenten efectos similares a los observados en adultos. Si una gran cantidad de piretrinas o piretroides entrara en contacto con la piel de los niños, puede que experimenten sensaciones de adormecimiento, comezón, ardor, escozor, hormigueo o calor que pueden durar horas. Si cantidades muy altas de estas sustancias entraran al cuerpo de un niño, éste puede que sufra mareo, dolor de cabeza y náusea que pueden durar varias horas. Cantidades aun más altas pueden causar temblores musculares, convulsiones y pérdida del conocimiento (1, 4).

Es posible que los piretroides penetren la piel de los niños más fácilmente que la de los adultos. Los niños pequeños se deshidratan más fácilmente que los adultos cuando hacen ejercicio o están con gripe o resfriados o bajo condiciones que contribuyen a la

pérdida de líquidos. Por lo tanto, los piretroides que penetran la piel pueden concentrarse más en los tejidos de los niños (4).

No hay ninguna evidencia de que las piretrinas o los piretroides producen defectos de nacimiento. En algunas crías de hembras expuestas a piretroides durante la preñez se observaron señales de posibles alteraciones del sistema para combatir infecciones. Hay algunas indicaciones de que los piretroides pueden afectar el desarrollo del cerebro en animales muy jóvenes (1, 10).

## **F. Parámetros para la Validación de Métodos Analíticos**

### **1. Razones para validar un método**

Una vez que se ha desarrollado un método de análisis por cualquier técnica instrumental, en este caso HPLC, esta deberá validarse, esto es la confirmación y documentación de un método cuyos resultados producidos son confiables, además todo método nuevo debe validarse para demostrar su idoneidad. Dependiendo del caso, la validación puede ser retrospectiva, prospectiva, transferencia de validación o revalidación (2).

### **2. Selectividad o especificidad**

Este parámetro se refiere a la propiedad del método de producir una señal medida debida sólo a la presencia del analito, libre de interferencia de otros componentes en la matriz de la muestra.

En el caso del análisis de una droga o fármaco, resulta de gran utilidad contar con las materias primas, subproductos de síntesis y productos de degradación (2).

### 3. Linealidad

La linealidad de un método analítico se refiere a la proporcionalidad entre la concentración de analito y su respuesta. Conjuntamente se determina el rango lineal, es decir, el intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de analito para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar el dopaje por interpolación en una curva estándar.

Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo con un exceso de al menos 50% sobre el límite superior y un defecto de 50% debajo del límite inferior.

La no correspondencia de las rectas indica problemas por efecto de matriz y esta relacionada con la exactitud del método en cuestión, estos efectos de matriz pueden clasificarse de acuerdo a su naturaleza en aditivos y multiplicativos. Los aditivos se refieren a un desplazamiento positivo del cero en presencia de la matriz y los multiplicativos a un cambio de la pendiente (2).

### 4. Precisión

La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repentinamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea.

La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar,  $\sigma$ , estimada analíticamente por  $s$  o más comúnmente como la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV).

La precisión de un método analítico deberá estudiarse sobre:

- a. el sistema, evaluando la dispersión de al menos 6 inyecciones del estándar.
- b. El método, evaluando la dispersión de varias preparaciones de la muestra final homogénea. La evaluación corresponde a todo el

procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta la medición del analito por parte del instrumento (2).

## 5. Exactitud

La exactitud de un método, también conocida como error sistemático o tendencia, corresponde a la diferencia entre valor obtenido (media) y el valor verdadero (2).

## 6. Sensibilidad

La sensibilidad de un método analítico corresponde a la mínima cantidad de analito que puede producir un resultado significativo. Se debe diferenciar claramente entre dos tipos de sensibilidad:

- a. Sensibilidad de calibración, correspondiente a la pendiente de la curva de calibración.
- b. Sensibilidad analítica, correspondiente al cociente entre la sensibilidad de calibración y la desviación estándar de la medida.

Los parámetros a definir al evaluar la sensibilidad de un método son los límites de detección y de cuantificación.

- *limite de detección*, a la menor concentración de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra, en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración (% , ppm, ppb, etc). Su determinación puede efectuarse por comparación con la respuesta de un blanco o placebo, siendo positiva cuando la señal supere la relación señal/ruido en un factor de 2 ó 3 (según el criterio del analista).
- *limite de cuantificación*, corresponde, según la misma referencia a la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables en las condiciones establecidas y se expresa también en unidades de concentración. En este caso generalmente se mide la señal de fondo

(relación señal/ruido), efectuando mediciones repetidas sobre un blanco o placebo, se mide su desviación estándar por un factor generalmente igual a 10 (2).

## 7. Robustez

La robustez de un método analítico corresponde a los estudios que indican el grado de confiabilidad del ensayo ante cambios de variables comunes. Estos cambios pueden ser ligeras diferencias operativas, de equipo, analistas, laboratorios, fuente de columnas, etc.

Es evidente que un método debe ser “robusto” (reproducibile) frente a cambio de analistas o instrumentos, pero no necesariamente debe serlo frente a todos los cambios que se estudien. Así, es de esperar que la modificación de algún factor, por ejemplo el pH de la fase móvil, produzca en algún caso cambios drásticos en la separación.

En HPLC deberá estudiarse la eventual variación de resultados (precisión, resolución, eficiencia, asimetría, etc.) Ante cambios de variables tales como la columna (fuente, tipo de partículas, longitud, número de inyecciones), cambios pH, de temperatura, de composición de la fase móvil, etc., así como el intervalo entre la preparación de la solución a inyectar y la inyección misma (2).

#### IV. JUSTIFICACION

Los pesticidas de uso doméstico son productos elaborados para eliminar plagas que cohabitan en espacios cerrados como viviendas, lugares de trabajo, entre otros y que pueden provocar daños a la salud, ya que son vectores de contaminación y/o enfermedades.

El comercio de dichos pesticidas es libre, por lo que cualquier persona puede adquirirlos y aplicarlos en su hogar para controlar las plagas existentes. Lamentablemente, las etiquetas de estos envases no informan acerca del uso adecuado que se debe tener con estos productos, ya que no indican la cantidad necesaria que se debe aplicar por el tipo de lugar. Además, la información que presentan de los componentes que contiene es muy escueta, ya que éstos pueden causar daño a la salud o algún tipo de intoxicación si no se usan adecuadamente, debido a que son agentes químicos tóxicos a ciertas dosis.

La exposición constante a estos productos puede ser la causa de algunas consecuencias que resultan graves para el ser humano, debido a ello, es importante el conocer de qué manera la sociedad se está exponiendo al utilizar indistintamente estos pesticidas en sus hogares, aunque sean de uso doméstico.

La cipermetrina es un compuesto sintético (piretroide) utilizado en la elaboración de pesticidas de uso doméstico, que tiene un alto grado de toxicidad cuando la exposición al mismo es constante y continua. Según otros estudios, este compuesto se aloja en hígado y riñones provocando daños a la salud. Por lo tanto es importante y necesario su estudio para controlar su concentración en estos productos y así evitar daños permanentes.

La validación del método por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de cipermetrina se realizó debido a su gran versatilidad y rapidez, a la excelente capacidad para el análisis en trazas y a la buena adaptabilidad en el análisis cuantitativo. Además, validar la técnica también tiene como objetivo, contar con una metodología que permita realizar controles de calidad en los insecticidas de uso doméstico, ya que son productos altamente utilizados por la población.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Validar un método de cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de *cipermetrina* presente en pesticidas de uso doméstico de marcas comerciales.

### B. Específicos

1. Determinar la selectividad o especificidad del método de cuantificación de cipermetrina por cromatografía líquida de alta resolución.
2. Determinar la linealidad, precisión y exactitud del método de cuantificación de cipermetrina por cromatografía líquida de alta resolución.
3. Determinar la sensibilidad y robustez del método de cuantificación de cipermetrina por cromatografía líquida de alta resolución.

## **VI. HIPOTESIS**

No se plantea una hipótesis debido a que el trabajo a realizar es la validación de un método.

## VII. MATERIALES Y METODOS

### A. Universo de trabajo:

Debido a las características del trabajo, no aplica definir una población y muestra.

### B. Recursos

#### 1. Humanos

- a. Investigador: Br. Eddy Ramazzini.
- b. Asesor: Licenciada Patricia Navas.

#### 2. Institucionales:

- a. Unidad de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- b. Departamento de Fisicoquímica, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### 3. Materiales

##### a. Equipo

- Cromatógrafo Merck Hitachi LaChrom Clásico con detector UV Merck Hitachi LaChrom L-7400.
- Microjeringa 100  $\mu$ L.
- Columna: LiChroCART 125-3 LiChrosorb diol (5 $\mu$ m).
- Balanza Analítica

##### b. Cristalería

- Beakers
- Varilla de Agitación
- Balones aforados de 50 ml
- Kitasato
- Embudo buchner
- Filtros de fibra de vidrio
- Pipeteador
- Pipetas volumétricas
- Probetas
- Frascos ámbar

c. Reactivos

- Acetato de Etilo grado HPLC
- Isooctano grado HPLC
- Estándar de Cipermetrina (92 %).

## C. Método

### 1. Diseño de la Investigación

Con la finalidad de validar una metodología para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico, se establecieron los parámetros estadísticos tales como la precisión, la exactitud, la linealidad, la selectividad, sensibilidad y robustez, que permitieron demostrar la validez del método.

## 2. Procedimiento

### a. Condiciones Analíticas:

- Equipo: Cromatógrafo líquido de alta resolución.
- Columna: LiChroCART 125-3 LiChrosorb diol (5 $\mu$ m).
- Fase Móvil: Acetato de Etilo.
- Velocidad de flujo: 0.3ml/min.
- Detector: UV a 278 nm.

### b. Determinación de la exactitud del método.

- Inyectar el estándar de cipermetrina, con concentraciones de 0.2177 mg/ml, 0.6533 mg/ml, 1.0889 mg/ml, 1.524 mg/ml y 2.177 mg/ml, tres replicas de cada uno.
- Determinar la relación entre la cantidad encontrada por el método y la cantidad de analito que se adiciona a un estándar conocido, en forma de porcentaje de recuperación.
- Calcular la desviación estándar relativa en la determinación; menor o igual a 1%.
- Realizar prueba de hipótesis (nivel de confianza 95%):
  - $H_0 = 100\%$  de recuperación.
  - $H_a \neq 100\%$  de recuperación.

### c. Determinación la linealidad del método.

- Trazar la curva de calibración de cipermetrina con soluciones de concentración 0.2177 mg/ml, 0.6533 mg/ml, 1.0889 mg/ml, 1.524 mg/ml y 2.177 mg/ml

- Determinación de la linealidad del método por medio de las concentraciones y áreas de pico obtenidas en una curva de calibración, por medio de un análisis de regresión lineal y evaluación por medio de análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $r^2$ ), el cual deberá ser mayor o igual a 0.999.

d. Determinación de la concentración mínima detectable.

- Se determina la concentración mínima detectable por medio de ensayo y error. Del estándar de 0.2177 mg/ml se hicieron diluciones progresivas hasta que ya no se observó señal o respuesta. Este procedimiento se realizó dos veces.

e. Determinación de la precisión del método

- Determinación de la repetibilidad de inyección de la técnica realizando 10 inyecciones.
- Determinación de la repetibilidad del análisis realizando 10 mediciones de la muestra por un mismo analista. Determinar la desviación estándar relativa de las mediciones.
- Determinación de la reproducibilidad del método realizando diez mediciones de un mismo analito en dos días diferentes por diferente analista. Evaluar mediante una prueba de t de student para determinar la correlación entre las mediciones de cada analista.

- f. Determinación de la sensibilidad del método.
- Realizar la evaluación de la sensibilidad por medio de pruebas de hipótesis sobre la pendiente y sobre el intercepto.
  - Se evaluará en base a que la pendiente tiene que ser uno y el intercepto cero, la evaluación del intercepto indica si hay o no error de fondo, esto quiere decir, ruido de la matriz.
  - Las pruebas de hipótesis se trabajaron con un nivel de confianza del 95% y un error de 0.05.
- g. Determinación de la robustez del método
- Realizar un diseño factorial  $2^2$ , variando las condiciones siguientes:
  - Utilizar para un ensayo una columna nueva, y para otro ensayo una columna que tenga un uso entre 1 y 3 años o más de 150 inyecciones.
  - Para los siguientes ensayos, utilizar para uno de ellos una columna de 15 centímetros de largo y para otra una columna de 25 centímetros.
  - Realizar un análisis de varianza para un diseño factorial.
- h. Determinación de la selectividad del método.
- Colocar el recipiente de la muestra dentro de la cámara de enfriamiento.
  - Rodear el recipiente con hielo seco y acetona para bajar la temperatura.
  - Cuando la temperatura sea lo suficientemente baja, perforar un agujero en el recipiente de la muestra, dejar que el gas que se utiliza como vehículo escape.

- Cuando no se expulse más gas, el contenido del recipiente trasvasarlo a frascos de color ámbar en donde se almacenan para su inyección.
- Inyectar la muestra y observar los cromatogramas. Observar bien los picos. Hacer este procedimiento por triplicado.

## VIII. RESULTADOS

### A. Precisión

#### 1. Repetibilidad

<b>Insecticida</b>	<b>In 1</b>	<b>In 2</b>
<b>Número de inyecciones</b>	10	10
<b>Media (área de pico)</b>	31462442.7	28218911.2
<b>Desviación estándar</b>	195349.2307	598511.6336
<b>Desviación estándar relativa %</b>	0.62089658	2.120959343

Fuente: Datos experimentales

#### 2. Reproducibilidad

	<b>In 1</b>	<b>In 1</b>	<b>In 2</b>	<b>In 2</b>
<b>Promedio</b>	31918031,8	31612259.8	28040217	27757094,7
<b>Desviación Estándar</b>	547606.641	381372.416	690187.245	450995.251

Fuente: Datos experimentales

Prueba de t de student para determinar correlación entre mediciones de cada analista.

Number of obs = 160    R-squared = 0.9369  
 Root MSE = 507948    Adj R-squared = 0.9361

<b>Source</b>	<b>Partial SS</b>	<b>Df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>Prob&gt;F</b>
Model	6.0146e+14	2	3.0073e+14	1165.56	0.0000
In 1 In 2	5.9799e+14	1	5.9799e+14	2317.69	0.0000
An 1 An2	3.4680e+12	1	3.4680e+12	13.44	0.0003

In 1: insecticida 1, In 2: insecticida 2. An 1: analista 1, An 2: analista 2

Source	Partial SS	Df	MS
<b>Residual</b>	4.0508e+13	157	2.5801e+11
<b>Total</b>	6.4197e+14	159	4.0375e+12

a. Significancia, desviación estándar y frecuencias de respuesta.

In 1- In 2	Analista 1	Analista 2	Total
<b>Analista 1</b>	31918032	31612260	31765146
<b>Analista 1</b>	52123.44	366411.19	476025.06
<b>Analista 1</b>	40	40	80
<b>Analista 2</b>	28040217	27757095	27898656
<b>Analista 2</b>	663110.87	433302.22	574504.47
<b>Analista 2</b>	40	40	80
<b>Total</b>	29979125	29684677	29831901
	2039773.1	1980296.2	2009357.8
	80	80	160

Existe diferencia significativa entre In 1 e In 2 ( $p < 0.00001$ ): Muestras

Existe diferencia significativa entre 1 y 2 ( $p = 0.0003$ ): Técnicos

#### B. Exactitud

	Área	Recuperación (%)	Concentración
<b>Estándar</b>	24608166	100	1,14
<b>std3</b>	15373200	73.6256	0,712180176
<b>std3</b>	15211142	72.8995	0,704672664
<b>std5</b>	26970898	125.5838	1,249456124
<b>std5</b>	26414727	123.0921	1,223690899
<b>std7</b>	29803053	138.2720	1,380658779
<b>std7</b>	29679452	137.7183	1,374932828

Fuente: Datos experimentales

Promedio	111.8652
Desviación Estándar	30.53044107
t de Student	5.2600
Valor "p"	0.00329887

Existe diferencia significativa ( $p= 0.0033$ ), es decir, no cumple con exactitud.

### C. Linealidad

Estándar	Concentración	Área de pico
1	0.2177	4910099
2	0.6533	13,408,519
3	1.0889	23,250,003
4	1.5240	32,897,111
5	2.1770	42,790,162

Fuente: Datos experimentales

#### 1. Estadísticas de la regresión

<b>Coefficiente de correlación múltiple</b>	0.996913734
<b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b>	0.993836993
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	0.991782658
<b>Error típico</b>	1365689.827
<b>Observaciones</b>	5

#### 2. Análisis de varianza

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
<b>Regresión</b>	1	9.02294E+14	9.02294E+14	483.775399	0.000205723
<b>Residuos</b>	3	5.59533E+12	1.86511E+12		
<b>Total</b>	4	9.07889E+14			

La linealidad es significativa ( $p=0.00020572$ )

## D. Límite de Cuantificación o Concentración mínima detectable

<b>Muestra</b>	<b>Blanco</b>
Inyecciones	6
Media (área de pico)	272170
Media (Concentración en mg/ml)	0.001198
Límite de cuantificación mg/ml	0.01198

Fuente: Datos experimentales

## E. Selectividad

<b>Muestra</b>	<b>Área de pico</b>	<b>% Recuperación</b>
<b>Estándar cipermetrina</b>	24608166	100
<b>Muestra In 2</b>	28218911	114,672957
<b>Muestra In 1</b>	31462368	127,853364

Fuente: Datos experimentales

## F. Robustez

<b>Analito</b>	<b>Columna</b>	<b>Largo Columna</b>	<b>Área de Pico</b>	<b>Tiempo de Retención</b>
Std. Cipermetrina	Nueva	150 mm	24970898	3.791
Std. Cipermetrina	Nueva	250 mm	24462145	6.892
Std. Cipermetrina	Usada	150 mm	31537001	3.802
Std. Cipermetrina	Usada	250 mm	32102839	6.904

Fuente: Datos experimentales

## IX. DISCUSION

Los pesticidas de uso doméstico han tenido una gran difusión en la población mundial en los últimos años, ésto debido a la facilidad con la que se pueden adquirir para la eliminación de los insectos que molestan en el hogar. En la presente investigación se determinó la validez de un método por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico. Existen una gran variedad de insecticidas que se venden en el mercado local, cada uno con una composición específica, y no importando la casa que lo elabore, algunos coinciden en los principales ingredientes activos que los conforman. Se realizó la validación de la metodología para la cuantificación de cipermetrina en dichos pesticidas.

La cuantificación de la cipermetrina por medio de la cromatografía líquida de alta resolución según la metodología planteada no es un método preciso (analizando la repetibilidad y la reproducibilidad), porque al realizar 10 veces el mismo análisis se obtienen resultados que están por encima del porcentaje establecido para considerarse preciso, el cual tiene un valor de 1%. Para la repetibilidad, en el caso de el Insecticida 1, puede observarse que este sí cae dentro del rango permitido (un valor de 0.6208), en cambio con el Insecticida 2 sucede lo contrario, es un valor más alto del esperado (valor 2.1209). Esta variabilidad puede deberse principalmente a los componentes de las muestras tomadas, hay que tomar en cuenta que no es cipermetrina pura con la que se trabaja si no más bien con una mezcla variada de pesticidas. Para la reproducibilidad, como se trabajó con dos muestras y dos analistas, se realizó un análisis de varianza de dos vías, el cual indica que hay un diferencia significativa entre las muestras y los analistas, aunque es un poco menor en el caso de los analistas (graficas 1 y 2). Puede observarse también en las tablas de resultados (ver anexos) la variabilidad que existe entre una muestra y otra, pues la respuesta del equipo es muy diferente para cada muestra.

Para determinar la exactitud, se analizó una prueba de hipótesis, la cual ayudaría a establecer la exactitud del método, se realizó el análisis con un valor de t de student el cual indica que al haber una diferencia significativa el método no es exacto. Para que se

considere el método exacto, lo mínimo que debe obtenerse de un valor crítico es de 0.05, y el obtenido en este caso en particular es de 0.0003, con esto queda comprobado que el método no es exacto. Hecho todo este análisis se rechaza la hipótesis y es otra forma de comprobar que el método no es exacto.

La linealidad del análisis se indica por la regresión lineal obtenida de una serie de muestras con concentraciones comprendidas entre 0.2177 mg/ml y 2.177 mg/ml de cipermetrina, ya hecho el análisis de la varianza se deduce que la ecuación obtenida explica de forma adecuada la relación que hay entre la respuesta analítica y la concentración del analito. El coeficiente de regresión lineal obtenido fue de 0.99, el cual es igual al límite establecido por la FDA para la linealidad en un método por cromatografía líquida de alta resolución. La gráfica de esta linealidad muestra la gran correlación que existe (ver gráfica 3 en anexos) y el análisis de varianza de la regresión (significancia estadística) permite que asegurar que el método si tiene linealidad. Para determinar la concentración mínima detectable o el límite de cuantificación se trabajó con el estándar de cipermetrina de concentración mas baja diluyendo continuamente hasta que la respuesta del equipo sea mínima o ya no exista señal de respuesta. El valor obtenido para dicho límite fue de 0.01198 mg/ml de cipermetrina.

Para determinar la selectividad de la muestra se preparó un estándar de cipermetrina con la concentración indicada en los recipientes de muestras comerciales, y se analizaron en conjunto dos muestras comerciales. Según la formulación la concentración de cipermetrina que deben tener los pesticidas de uso domestico indica un 1.14 mg/ml de cipermetrina, y como se puede observar en los resultados las muestras presentan una cantidad mayor a la descrita en los envases, siendo el rango de recuperación entre 14 y 28% mayor al esperado. Es de mencionar que para poder obtener las muestras comerciales en estado líquido, que es como se necesitan para poder hacer los análisis, fue necesaria la extracción de esta de los recipientes en los que se vende. Estos recipientes vienen envasados a presión, y el contenido solamente es líquido a bajas temperaturas. Para poder lograr esto se trabajó con nitrógeno líquido, debido a que su temperatura es lo suficientemente baja para lograr dicho

objetivo. Ya que las muestras se han tratado de esta forma, se almacenan en frascos de color ámbar y bajo refrigeración para conservarlas.

La robustez del método se comprobó variando ciertas condiciones en el trabajo, las muestras que se tenían se evaluaron cambiando el largo de la columna y el uso que se les ha dado a las mismas. Con las columnas nuevas, la variación utilizada fue el largo de la columna, y se puede observar que los tiempos de retención varían conforme el largo de la columna, mientras más larga es ésta, mayor es el tiempo de retención, y la característica principal es que en este caso en particular el tiempo fue el doble cuando se utilizaba una columna de 25 mm que al momento de utilizar una columna de 15 mm. Así mismo, utilizando columnas que ya tienen cierto tiempo de uso, solo se hizo la variación de la longitud de la columna y se obtuvo un resultado muy parecido al anterior, los tiempos de retención fueron mayores cuando se utilizaba la columna de mayor longitud. En sí, la respuesta de la cipermetrina a las condiciones de las columnas fue muy buena, pues los picos y las áreas obtenidas tienen muy buena resolución, y es fácil la detección de las mismas.

En la metodología trabajada en esta investigación, se utilizó como fase móvil el acetato de etilo, y no fue necesario la utilización de algún otro solvente, ya que en las primeras pruebas se hizo evidente que este solvente era capaz de separar la cipermetrina y de dar un pico representativo. Como parte del análisis hecho en el laboratorio, y para tener datos que permitan hacer una comparación, se decidió analizar dos muestras comerciales de pesticida, esto para tener datos más representativos del trabajo realizado.

Los resultados obtenidos determinan que el método en estudio no es un método preciso, ni exacto, pero sí es selectivo, si es lineal y si es robusto, por lo cual no puede considerarse válido para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico por cromatografía líquida de alta resolución, teniendo en cuenta las características que presenta el analito en estudio.

## X. CONCLUSIONES

- a. La metodología realizada en el presente trabajo no es válida para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico en un rango comprendido entre 1.000 mg/ml y 2.100 mg/ml de cipermetrina.
- b. El método presenta una buena relación lineal entre la concentración del analito y la respuesta analítica del equipo de medición, aunque esto no permite decir que sea un método válido para la cuantificación de cipermetrina.
- c. La metodología propuesta para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico no es precisa y no posee una buena exactitud.
- d. La metodología para la cuantificación de cipermetrina en pesticidas de uso doméstico es una metodología flexible y robusta, pues al realizar variaciones en las condiciones de la misma mantiene buena respuesta.

## **XI. RECOMENDACIONES**

- a. Realizar un estudio en el cual se evalúen los demás componentes de los pesticidas de uso domestico, ya que generalmente no se presenta un compuesto solo.
- b. Manejar con sumo cuidado cualquiera de los recipientes que contienen los pesticidas, para evitar contaminación.
- c. Continuar con los estudios acerca de los pesticidas de uso domestico para saber en realidad que es lo que se esta usando.
- d. Realizar el trabajo de identificación de los pesticidas por otra técnica analítica instrumental que permita la identificación de estos.

## XII. REFERENCIAS

1. He, F., Synthetic pyrethroids, Toxicol., 1994,91,p.43
2. Quattrocchi, Oscar. Introducción a la HPLC, Aplicación y Práctica. Impreso en Argentina, Artes Graficas Farro SA. Argentina. 1992 pp 1, 301-327.
3. Boletín Oficial del Estado (B.O.E.) 24 enero 1984. Real Decreto 30 noviembre 1983, núm. 3349/83 (Presidencia) PRODUCTOS QUÍMICOS, Reglamentación Técnico-Sanitaria para fabricación, comercialización y utilización de pesticidas.
4. O.M.S. Toxicology of Pesticides. Interim Document 9. Copenhagen 1982
5. WHO Recommended Classification of Pesticides of Hazard 1994-1995, WHO, Geneva.
6. Leahey, J.P. (ed.) The Pyrethroid Insecticides, Taylor & Francis, London, 1985.
7. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR ). 2003. Reseña Toxicológica de los Piretrinas y Piretroides (en inglés). Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública.
8. Class, T.J., Environmental analysis of cypermethrin and its degradation products after forestry applications, Int. Environm. Anal. Chem., 1992, 49:4, p. 189.
9. Cypermethrin. Environmental Health Criteria 82, WHO, Geneva, 1989.
10. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades División de Toxicología y Medicina Ambiental, <http://www.atsdr.cdc.gov/es/>.

### XIII. ANEXOS

Tabla 1. Resultados de repetibilidad

Repetibilidad		
In 1		In 2
31256798		27956723
31347689		28937631
31436754		27895432
31549867		28824525
31457982		28815233
31235467		28983123
31324576		27563567
31435268		27975322
31896752		27239867
31682524		27997689
<b>31462367,7</b>	<b>Media</b>	<b>28218911,2</b>

In 1= Insecticida 1, In 2= Insecticida 2

Fuente: Datos experimentales

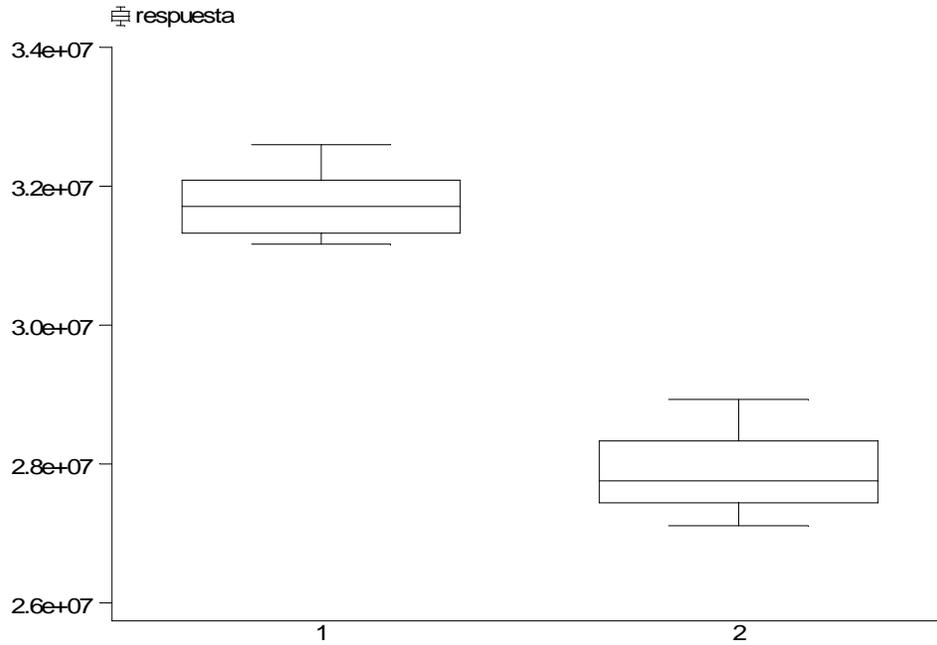
Tabla 2. Resultados de Reproducibilidad

reproducibilidad						
In 1		In 2		In 1		In 2
32475227		32513369		28495810		27639215
31276627		31426875		27362951		28859401
32596721		31257891		28913692		27756834
31952530		31456798		27512936		27895643
31894729		31567821		27295349		27978654
31732456		31234579		28637159		27235467
31164065		31345687		27998345		27327645
32215932		31875632		27105849		27546732
31294789		31678523		28156392		27754623
32577242		31765423		28923691		27576733
<b>31918031,8</b>	<b>Promedio</b>	<b>31612259,8</b>		<b>28040217,4</b>		<b>27757094,7</b>
<b>547606,6413</b>	<b>des std</b>	<b>381372,416</b>		<b>690187,245</b>		<b>450995,251</b>

In 1= Insecticida 1, In 2= Insecticida 2

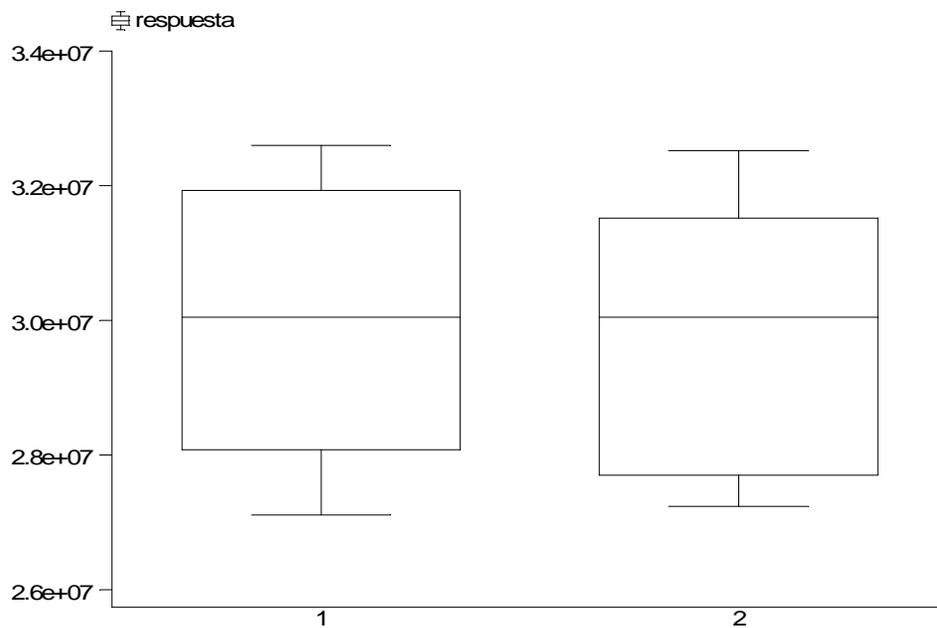
Fuente: Datos experimentales

Grafica 1. Respuestas de las muestras al instrumento (repetibilidad).



Fuente: Datos experimentales.

Grafica 2. Comparación entre técnicos (repetibilidad).



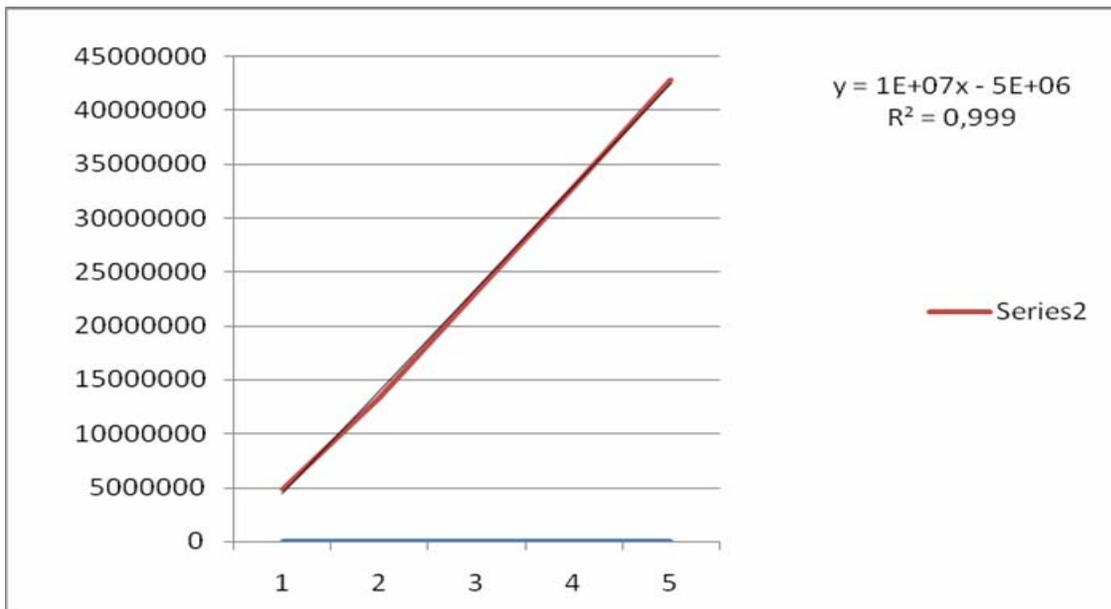
Fuente: Datos experimentales.

Tabla 3. Resultados de Linealidad

Estándar	Área de pico	Concentración
1	4910139	0,2177
2	13408357	0,6533
3	23250039	1,0889
4	32897232	1,524
5	42790274	2,177

Fuente: Datos Experimentales

Grafica 3. Linealidad.



Fuente: Datos experimentales.

## Equipo Utilizado



Foto 1. Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución.



Foto 2. Dos columnas de las utilizadas, diferentes tamaños.



Foto 3. Estándar de cipermetrina y puntos de la curva.