

# Estudio de las mejores condiciones para determinar plaguicidas en aguas y sedimentos del Río Cauca-Colombia



Revista EIA  
ISSN 1794-1237  
e-ISSN 2463-0950  
Año XIX/ Volumen 20/ Edición N.39  
Enero-Junio de 2023  
Reia3904 pp. 1-20

Publicación científica semestral  
Universidad EIA, Envigado, Colombia

✉ RODRIGO ANDRÉS SARRIA-VILLA<sup>1</sup>  
JOSÉ ANTONIO GALLO-CORREDOR<sup>1</sup>  
YOHANNA TOBAR<sup>1</sup>

1. Universidad del Cauca.

## PARA CITAR ESTE ARTÍCULO / TO REFERENCE THIS ARTICLE /

Sarria-Villa, R.; Gallo-Corredor, J.;  
Tobar, Y. Estudio de las mejores  
condiciones para determinar  
plaguicidas en aguas y sedimentos del  
Río Cauca-Colombia  
Revista EIA, 20(39), Reia3904.  
pp. 1-20.  
<https://doi.org/10.24050/reia.v20i39.1608>

✉ *Autor de correspondencia:*

RaSarria-Villa, R. (Rodrigo)  
Ph.D, Departamento de Química,  
Universidad del CaucaCorreo  
electrónico:  
[rodrigov@unicauca.edu.co](mailto:rodrigov@unicauca.edu.co)

## Resumen

Las diferentes actividades agrícolas, industriales y económicas generan residuos de plaguicidas que van llegando a los diferentes cuerpos de agua, contaminando lagos, ríos, suelos, biota, entre otros. Para realizar el seguimiento de este tipo de sustancias en el medioambiente es necesario ajustar de la mejor forma el procedimiento de análisis. Este trabajo permitió establecer las mejores condiciones de extracción y determinación de los plaguicidas simazina, atrazina, diuron, carbaril, propanil y metomil en aguas y sedimentos de río. Se emplearon los métodos de extracción en fase sólida (SPE) y ultrasonido para la extracción de plaguicidas presentes en aguas y sedimentos respectivamente. La determinación de los compuestos se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-UV). El método fue probado en muestras de agua y sedimentos del río Cauca en su paso por el Departamento del Valle del Cauca-Colombia-Sur América. Se obtuvieron porcentajes de recuperación por encima del 87% para cinco de los seis plaguicidas extraídos por SPE y por encima del 80% para todos los plaguicidas extraídos por ultrasonido. Los plaguicidas de mayor frecuencia encontrados en aguas y sedimentos del río Cauca fueron simazina, atrazina y diuron.

**Palabras clave:** Ultrasonido, SPE, Plaguicidas, Aguas, Sedimentos, Contaminación, HPLC, Extracción, Estandarización, Separación.

**Recibido:** 28-03-2022

**Aceptado:** 12-09-2022

**Disponible online:** 01-01-2023

# Study of the best conditions to determine pesticides in waters and sediments of the Cauca-Colombia River

## Abstract

The different agricultural, industrial, and economic activities generate pesticide residues that are reaching the different bodies of water, contaminating lakes, rivers, soils, biota, among others. In order to monitor these types of substances in the environment, it is necessary to adjust the analysis procedure in the best possible way. This work allowed to establish the best extraction and determination conditions of the pesticides simazina, atrazina, diuron, carbaril, propanil and metomil in river waters and sediments. Solid phase extraction (SPE) and ultrasound methods were used for the extraction of pesticides present in water and sediments respectively. The determination of the compounds was carried out by high performance liquid chromatography (HPLC-UV). The method was tested on water and sediment samples from the Cauca River as it passed through the Department of Valle del Cauca-Colombia-South America. Recovery percentages above 87% were obtained for five of the six pesticides extracted by SPE and above 80% for all pesticides extracted by ultrasound. The pesticides with the highest frequency found in the waters and sediments of the Cauca River were simazine, atrazine and diuron.

**Keywords:** Ultrasound, SPE, Pesticides, Waters, Sediments, Pollution, HPLC, Extraction, Standardization, Separation.

## 1. Introducción

La contaminación por residuos de plaguicidas constituye un problema actual de enorme importancia debido a los daños potenciales de estas sustancias sobre el medio ambiente y en la salud humana. La contaminación del medio ambiente se produce principalmente por aplicaciones directas en los cultivos agrícolas, una vez en el suelo, los plaguicidas pueden pasar a aguas superficiales y subterráneas por lixiviación, dependiendo de sus características químicas tales como solubilidad en agua, capacidad de adsorción sobre el suelo, capacidad de ionización, tipo de suelo, así como de las características topográficas o climáticas (Cui et al., 2020). Actualmente existen diferentes métodos de análisis que permiten identificar y determinar la concentración de plaguicidas en muestras acuosas y sedimentos. Entre las técnicas cromatográficas más utilizadas en la actualidad se pueden mencionar principalmente la cromatografía de gases (GC), ampliamente empleada para el análisis multi-residual de plaguicidas. Sin embargo, el análisis de compuestos de alto peso molecular, altamente polares o térmicamente lábiles presenta

grandes dificultades o es prácticamente imposible de realizar mediante cromatografía de gases (Durak et al., 2020). Este hecho ha provocado que la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) haya ido ganando terreno en el análisis de este tipo de compuestos, existen otras técnicas cromatográficas de uso minoritario como la cromatografía de fluidos supercríticos (FSC) y la cromatografía de capa fina (TLC). Entre las técnicas de pretratamiento de muestras que presentan trazas de plaguicidas se encuentran la extracción en fase sólida (SPE) (Pellicer-Castell et al., 2022), la micro extracción en fase sólida (SPME), QuEChERS, Extracción fase sólida dispersiva (dSPE), barra de agitación adsorptiva de extracción (SBSE), extracción fase sólida magnética (SBSE), micro extracción fase líquida (LPME), micro extracción dispersiva líquido-líquido (DLLME) y la extracción líquido-líquido (LLE), esta última cada vez menos por el uso elevado de solventes (Nasiri et al., 2019). Para la extracción de plaguicidas presentes en sedimentos se emplean técnicas con aplicación de calor (Soxhlet) y sin aplicación de calor (agitación o sonicación). La extracción asistida por ultrasonido se ha aplicado con buenos resultados a la extracción de muestras de sedimentos, proporcionando un contacto más eficaz entre el sedimento y el disolvente que extrae, traduciéndose en una mayor recuperación de los analitos (Ruberu et al., 2000; Babic et al., 1998). De acuerdo con lo anterior, se determinaron las mejores condiciones para el análisis de plaguicidas en aguas y sedimentos empleando la extracción en fase sólida (SPE), ultrasonido y la determinación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El río Cauca es uno de los ríos más importantes de Colombia y brinda grandes beneficios como la generación de energía, extracción de materiales, captación de agua, pesca, recreación, etc. (Villamizar and Brown, 2016). El Valle del Cauca, por ser una región eminentemente agrícola, con más de 200.000 hectáreas sembradas de caña, cultivos que emplean diferentes tipos de plaguicidas para el control de plagas y enfermedades. Su empleo genera residuos que terminan en las diferentes matrices ambientales, siendo necesario analizarlos tanto en aguas como en sedimentos (Carazo-Rojas et al., 2018). Muestras de aguas y sedimentos fueron tomadas del río Cauca a lo largo del tramo comprendido entre La Balsa (Cauca) y Anacaro (Valle del Cauca) para realizar el análisis de plaguicidas.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Reactivos, solventes y estándares

Se emplearon los solventes: metanol grado HPLC, acetonitrilo grado HPLC, acetona, acetato de etilo, metanol, acetonitrilo y hexano marca J.T Baker. Hidróxido de sodio, marca Merck también fue empleado. Se emplearon los estándares metomil (MET), simazina (SIM), atrazina (ATR), diurón (DIU), propanil (PRO) de marca Qual Grade Polyscience Nilles, iL y carbaril (CAR) Chem Service, Pureza: 99,8%.

### 2.2 Material de laboratorio y equipos

Se emplearon los equipos Rotaevaporador marca Heidolph Laborota 4001, Espectrofotómetro ultravioleta visible GENESYS™ 6, pH-metro InoLab WTW, Destilador Schott GENERATE, Desionizador E&Q, Plancha Fisher Scientific, Centrifugadora Hermle Labortechnik Z200A, Ultrasonido Branson MT-1510, Balanza Mettler AJ 150, Equipo de SPE Supelco cat N° 5-7044, Cartuchos RP-18 (40-63µm) 500mg Merck-LiChrolut. El análisis cromatográfico se realizó usando un cromatógrafo Agilent Technologies 1100 con detector UV-Vis G1314A, con una columna apolar Alltech C18; 3 µm x 4,0 x 150 mm.

### 2.3. Preparación de soluciones estándar

Se prepararon soluciones individuales patrón, pesando la cantidad necesaria de cada plaguicida y disolviendo con acetonitrilo grado HPLC, obteniendo las siguientes concentraciones: SIM 118 ppm, ATR 100 ppm, CAR 106 ppm, DIU 104 ppm, MET 104 ppm y PRO 106 ppm. Posteriormente se preparó una solución stock mezcla de todos los plaguicidas en las siguientes concentraciones: 10 ppm (MET, DIU y PRO), 5ppm (SIM, ATR) y 2,5 ppm (CAR). Todas las disoluciones, se hicieron pasar a través de filtros de nylon de 0,45 µm, para posterior inyección en el equipo de HPLC.

### 2.4. Selección de las condiciones de análisis para HPLC

Para el análisis simultáneo de plaguicidas por HPLC se probaron diferentes condiciones de longitud de onda, composición y flujo de la fase móvil. La longitud de onda de trabajo se seleccionó teniendo en cuenta la máxima absorbancia de cada uno de los plaguicidas de estudio, para ello, se tomaron los espectros ultravioleta de cada uno de los analitos, realizando un barrido en la región de 190 a 400 nm,

en el espectrofotómetro ultravioleta-visible. Adicionalmente, se tuvieron en cuenta los cromatogramas obtenidos a las longitudes de onda de máxima absorción de cada uno de los plaguicidas estudiados. La composición de la fase móvil fue variada de manera isocrática, se ensayaron diferentes fases móviles ACN: agua variando el contenido en ACN entre 60 y 40%. Se estudió el flujo de la fase móvil más adecuado desde 0,4 hasta 1,1 mL/min Biswas et al (2010).

### *2.5. Determinación de los parámetros de calidad*

Se determinaron parámetros de calidad del método cromatográfico, tales como precisión (expresada como repetibilidad y precisión intermedia), límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y linealidad. La linealidad del sistema se evaluó mediante la curva de calibración para cada uno de los plaguicidas en estudio IUPAC (1995). La precisión, en términos de áreas, se evaluó con una mezcla de disoluciones patrón, para el estudio de la repetibilidad (intra-días) se llevó a cabo por quintuplicado de cada nivel de la curva en un mismo día, para la precisión intermedia (entre-días) se realizó por triplicado en tres niveles de concentración dentro del rango lineal, durante cinco días. Para el análisis de datos y tratamiento estadístico se empleó el programa Microsoft Office Excel 2007 y SPSS 17.0, para el análisis del diseño experimental 2<sup>3</sup> y la realización de gráficos.

### *2.6. Condiciones de extracción de plaguicidas en sedimentos por ultrasonido*

En una primera serie de experimentos la eficiencia de extracción de diferentes disolventes orgánicos (acetona, hexano, acetonitrilo, acetato de etilo y metanol) fue comparada. Se tomó 1.0 g de sedimento fortificado con la mezcla estándar de plaguicidas, se extrajo dos veces en ultrasonido por 15 minutos con 10 mL de cada uno de los solventes, la extracción se llevó a cabo en un Erlenmeyer de 50 mL, el cual estaba inmerso en el baño de ultrasonido (Frecuencia 42 kHz, dimensiones de cubeta 140x150x100 mm) manteniendo el nivel de agua sobre el nivel del solvente, la temperatura en el baño ultrasónico no excedió los 35°C Vagi et al (2007). En la segunda serie de experimentos, con el fin de establecer las mejores condiciones de análisis (volumen de disolvente, número de etapas de extracción y tiempo de sonicación) para la extracción por ultrasonido, se aplicó un diseño experimental 2<sup>3</sup>, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las extracciones con cada uno de los solventes, los experimentos fueron realizados

sólo con el solvente que dio el mayor porcentaje de recuperación para la mayoría de los plaguicidas de estudio. El estudio se realizó por triplicado a un nivel de concentración bajo, medio y alto.

### *2.7 Condiciones de extracción de plaguicidas en aguas usando SPE*

Para la extracción de los plaguicidas por SPE se pasaron por el cartucho de C18 5 mL de metanol y 10 mL de agua desionizada, se pasa la muestra a través del cartucho (500 mL), se hace un lavado del cartucho con 5 mL de agua, se deja secar el cartucho por 30 segundos, se realiza la elución del cartucho con 4 mL de metanol y se somete a baño maría y evaporación del solvente empleando corriente de nitrógeno, se realiza la reconstitución con 1 mL de fase móvil (ACN:H<sub>2</sub>O 45:55), se filtró por filtros de 0,45 µm y se inyectó en el HPLC. Se determinó el porcentaje de recuperación de los plaguicidas por SPE para aguas. El estudio se realizó por triplicado a tres niveles de concentración, comprendidos en el rango lineal: 0,05, 0,2 y 0,5 mg/L (MET, DIU y PRO), 0,025, 0,1 y 0,25 mg/L (SIM y ATR), 0,0125, 0,05 y 0,125 mg/L (CAR).

### *2.8 Ensayos con muestras reales de aguas y sedimentos del río Cauca*

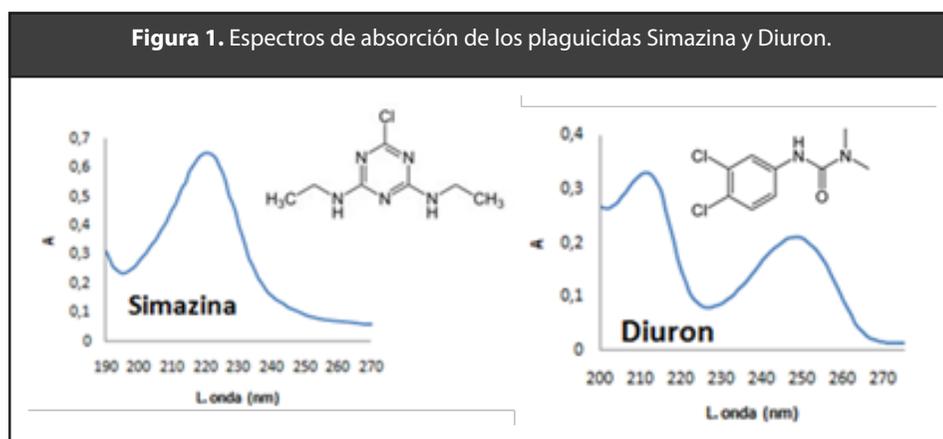
Los métodos fueron probados con muestras de aguas y sedimentos recolectadas en el río Cauca, en el tramo comprendido entre La Balsa (Cauca) y Anacaro (Valle del Cauca) en ocho estaciones monitoreadas regularmente por la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC): SP1 (La Balsa, N: 03°05'10,9"; W: 76°35'36,8"), SP2 (Hormiguero, N: 03°18'05,0"; W: 76°28'37,0"), SP3 (Juanchito, N: 03°27'01,4"; W: 76°28'32,7"), SP4 (Puerto Isaacs, N: 03°32'53,8"; W: 76°29'09,3"), SP5 (Paso de la Torre, N: 03°37'46,4"; W: 76°27'06,3"), SP6 (Mediacanoa, N: 03°53'27,7"; W: 76°20'56,5"), SP7 (Puente Guayabal, N: 04°24'18,6"; W: 76°06'04,4"), SP8 (Anacaro, N: 04°47'00,6"; W: 75°57'58,1"). Se realizaron dos muestreos, uno en temporada seca (Muestreo I) y otro en temporada de lluvias (Muestreo II), teniendo en cuenta los protocolos de muestreo del RAS del Min. Desarrollo 2000, las muestras de agua fueron filtradas en membranas de 0,45 µm para eliminar partículas en suspensión. El pH de las muestras fue medido y mantenido en pH 7, un volumen de 500 mL de muestra fue transferido a un balón volumétrico, en seguida las muestras fueron sometidas a SPE a temperatura del laboratorio (20-23°C). Las muestras de sedimentos liofilizados fueron homogenizadas y tamizadas a través de un tamiz de tamaño <2 mm, 1,0 g de muestra fue transferido a un erlenmeyer de 50 mL, seguidamente las muestras fueron sometidas a extracción por ultrasonido.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Optimización de la separación de los plaguicidas por HPLC

##### 3.1.1. Selección de la longitud de onda

La longitud de onda de trabajo se seleccionó teniendo en cuenta la máxima absorbancia; para ello, se tomaron los espectros de cada uno de los analitos, realizando un barrido en la región de 190 a 400 nm. Los espectros ultravioleta para SIM y DIU se muestran en la Figura 1, se pudo apreciar que la longitud de máxima absorción de cada compuesto fue 220 nm (ATR), 219 nm (SIM), 219 nm (CAR), 234 nm (MET), se obtuvieron dos máximos a dos longitudes de onda, 209 y 248 nm (PRO), 211 y 249 nm (DIU). Adicionalmente se obtuvieron los cromatogramas de cada uno de los compuestos, a diferentes longitudes de onda Rajput et al (2018). La longitud de onda elegida para el análisis fue de 218 nm, se escogió dicha longitud de onda tratando de obtener la máxima respuesta posible en la determinación simultánea de todos los compuestos Harshit et al (2017).



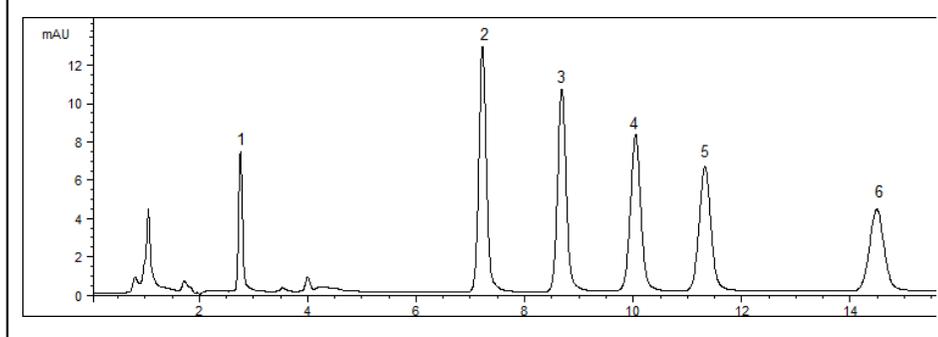
##### 3.1.2. Selección de la fase móvil

La composición de la fase móvil fue variada de manera isocrática, verificando principalmente la resolución ( $R_s$ ) para cada composición de fase móvil estudiada. Con un flujo de 0,9 mL/min, valor obtenido mediante la curva de Van Deemter, se ensayaron diferentes fases móviles ACN/ $H_2O$  variando el contenido de ACN entre 60 y 40%. La variación de la composición de la fase móvil permitió determinar la resolución de los picos donde se encontró que para los picos 2-3 (CAR-ATR) y 4-5 (ATR-DIU) la resolución es muy baja (<2,5), lo que causa

un solapamiento entre los picos. Cuando se disminuye la proporción de ACN en la fase móvil de 60 a 55% se obtiene una mejora en la resolución, sin embargo, la resolución entre 4 y 5 sigue inferior (<2,5). La composición de fase móvil ACN:Agua (45:55) v/v permitió separar los seis plaguicidas con valores de factor de capacidad (k) entre 1,6 y 12,3 y una resolución mayor a 2,5. Mezclas de solventes orgánicos con han agua han permitido una buena separación de plaguicidas. (Tóth et al., 2022). Se realizó una elución isocrática, ya que permitió una elución suficientemente rápida de todos los compuestos, los cuales se separaron en menos de 17 minutos (Ver figura 2).

### *3.1.3 Selectividad del modificador orgánico*

La mezcla MeOH:Agua (55:45) no permitió una buena separación de los compuestos 2-3 (SIM-CAR), lo que muestra la selectividad del modificador orgánico ACN frente al MeOH cuando son comparados en composiciones de fase móvil de la misma fuerza elutropica según Rajput et al (2018). La composición de fase móvil MeOH:Agua (50:50), v/v, permitió una separación de los picos 2 y 3 correspondientes a la SIM y CAR, pero el tiempo de análisis se extendió por encima de 30 minutos, lo que hace que no sea apropiado, ya que el análisis se hace demasiado largo. La fase móvil con la que se obtuvo una óptima separación fue ACN: Agua (45:55) v/v. Las mejores condiciones de separación de los plaguicidas en estudio fueron:  $\lambda=218$  nm, elución isocrática, temperatura (20-23°C), flujo de 0,9 mL/min, volumen de inyección de 20  $\mu$ L, columna Alltech C<sub>18</sub>; 3 $\mu$ m x 4,0 x 150mm y fase móvil de ACN:Agua (45:55) v/v. La Figura 2 muestra un cromatograma de los plaguicidas en estudio a las mejores condiciones de separación.

**Figura 2.** Cromatograma bajo las condiciones óptimas en HPLC-UV. (1) MET. (2) SIM, (3) CAR, (4) ATR, (5) DIU, (6) PRO.

### 3.1.4 Estandarización del método analítico

Para el estudio de la linealidad del sistema se preparó una curva de calibración en un intervalo de concentración que incluyó 6 concentraciones diferentes entre 0,0125 y 0,125 mg/L para CAR, compuesto que presentó la mayor sensibilidad, 0,025 y 0,25 mg/L para SIM y ATR, 0,05 y 0,5 mg/L para el DIU, MET y PRO, que presentaron la menor sensibilidad. En la tabla 1, se presenta información que se refiere al coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el cual expresa la proporción de varianza de la variable dependiente (área) que está explicada por la variable independiente (concentración). Para todos los compuestos estudiados (Tabla 1)  $R^2$  toma un valor alto, por ejemplo, para el CAR el  $R^2$  (0,9993), nos indica que el 99,93% de la variación del área está explicada por la concentración. Coeficientes de determinación de 0,997 y 0,998 para Napropamide (Herbicida) E1 y Bitertanol E2 (Fungicida) analizados por UPLC-MS/MS (Petrie y Camacho-Muñoz, 2021).

**Tabla 1.** Parámetros de calidad del método propuesto.

Compuesto	Rango de concentración (ppm)	Ecuación de recta	$R^2$	LOD* (ppm)	LOQ* (ppm)
Carbaril	0,0125-0,125	$y = 398.7x - 0,273$	0,9993	0,00123	0,00411
Simazina	0,025-0,25	$y = 298.1x - 0,680$	0,9996	0,00505	0,01683
Atrazina	0,025-0,25	$y = 248.75x - 0,546$	0,9990	0,00231	0,00769
Metomil	0,05-0,5	$y = 46.206x - 0,2119$	0,9987	0,00774	0,02582
Diuron	0,05-0,5	$y = 116.59x - 0,314$	0,9994	0,00446	0,01488
Propanil	0,05-0,5	$y = 113.48x - 0,766$	0,9988	0,00557	0,01855

\*IUPAC ppm ( $\text{mg L}^{-1}$ ) o ( $\text{mg Kg}^{-1}$ )

Los datos obtenidos de las curvas de calibración permitieron obtener los coeficientes de regresión que definen la ecuación de regresión. Los estadísticos  $t$  y sus niveles críticos (sig.) o (p-value) obtenidos con los datos de las curvas permitieron contrastar las hipótesis nulas de que los coeficientes de regresión valen cero en la población. Estos estadísticos  $t$  se distribuyen según el modelo de probabilidad  $t$  de Student con  $n-2$  grados de libertad. Por tanto, pueden ser utilizados para decidir si un determinado coeficiente de regresión es significativamente distinto de cero y, en consecuencia, si la variable independiente está significativamente relacionada con la dependiente. Al respecto, se plantearon dos hipótesis:  $H_0: r_{xy} = 0$  entonces el coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es cero ( $\rho = 0$ );  $H_1: r_{xy} \neq 0$  el coeficiente de correlación obtenido procede de una población cuya correlación es distinto de cero ( $\rho \neq 0$ ). De los resultados obtenidos, para el CAR se obtuvo un  $t_0 > t$  (0,025,28)(193,710 > 2,048), por lo tanto, se rechazó la  $H_0$ , esta misma conclusión se obtuvo por el método del valor de  $p$ , donde el valor de  $p$  fue menor de 0,05. Para todos los compuestos en estudio se obtuvo que la pendiente de la recta de regresión fue significativamente distinta de cero, lo cual nos permitió concluir que entre la concentración y el área existe relación lineal significativa. En los estudios de repetibilidad, se alcanzaron coeficientes de variación adecuados, lo que demostró la buena precisión del sistema, observándose una variabilidad de los resultados dentro de los límites establecidos para el método cromatográfico,  $CV \leq 5,0\%$ . Los valores que se obtuvieron de precisión intermedia para los plaguicidas demostraron bajo la prueba de ANOVA que no existe diferencia significativa entre las precisiones alcanzadas en diferentes días en cada uno de los niveles estudiados. Resultados de ANOVA para la SIM en el nivel de baja concentración mostraron un  $F_{tab} = 3,48$  ( $\alpha = 0,05$ , 4,10);  $F_{exp} \leq F_{tab}$  (1,182 < 3,48) lo que indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre el promedio del nivel de concentración en los diferentes días, esta misma conclusión se obtuvo por el valor- $p > 0,05$ . Para los otros dos niveles de concentración medio y alto en los diferentes días se obtuvieron resultados similares. Los resultados obtenidos permitieron establecer que las precisiones fueron aceptables para los plaguicidas SIM, ATR, DIU, PRO, MET y CAR. El método cromatográfico mostró ser repetitivo encontrándose coeficientes de variación (%CV) para CAR de 1,15-3,54, SIM de 1,22-4,50, MET de 1,11-3,45, PRO de 1,16-1,93, DIU de 1,03-3,63 y ATR de 1,17-4,82. El método mostró ser reproducible con %CV para el rango medio, bajo y alto para CAR de 1,09-4,25, ATR de 0,94-4,0, DIU de 1,19-6,93, PRO de 0,29-4,79, SIM de 1,03-3,82. Los coeficientes de variación estuvieron por debajo del 5% para la

mayoría de los plaguicidas estudiados, comprobando la repetitividad y reproducibilidad del método cromatográfico de acuerdo con lo establecido por USEPA (2000).

### *3.2. Determinación del porcentaje de recuperación de plaguicidas en aguas y sedimentos*

#### *3.2.1. Porcentaje de recuperación de plaguicidas en aguas por SPE*

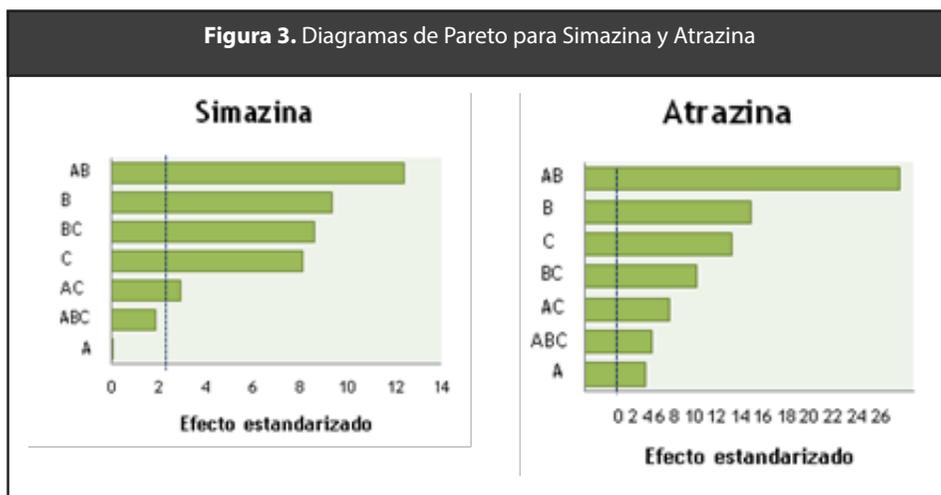
El porcentaje de recuperación para SPE se evaluó analizando disoluciones estándar que contenían plaguicidas a diferentes concentraciones dentro del rango de concentraciones evaluado. Se obtuvieron resultados con recuperaciones por encima del 87% para los plaguicidas ATR, DIU, PRO y CAR, para los otros dos compuestos éstas estuvieron en torno al 70% para la SIM y 15% para el MET. Las desviaciones estándar relativas oscilaron entre 1,3 y 10% para la mayoría de los plaguicidas. Estos valores de recuperación son aceptables ya que están en el rango de 70 a 130%, de acuerdo con las reglas establecidas por la EPA, con una desviación estándar relativa por debajo del 10% de acuerdo con USEPA (2000). Para determinar la existencia de una diferencia significativa entre la recuperación media y el 100% se aplicó una prueba estadístico (test de student), los valores de  $t_{exp}$  se compararon con los tabulados para el intervalo de confianza requerido con n-1 grados de libertad y la exactitud se evaluó para el promedio de recuperaciones de todas las concentraciones. Si  $t_{exp} < t_{tab}$ , no existe diferencia significativa con el 100% de recuperación. Para el CAR se obtuvo que la recuperación media para n=9 medidas fue 99,96%,  $t_{tab}$  (gl:8,  $\alpha=0,05$ )=2,306, como  $t_{exp} < t_{tab}$  (0,0149<2,306) para el CAR no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100%. Resultados similares se obtuvieron para DIU y PRO. De acuerdo con lo anterior los resultados fueron satisfactorios para CAR, DIU y PRO, al no encontrarse diferencias significativas entre los valores obtenidos y el 100%, por lo tanto, la recuperación media para estos tres compuestos fue apropiada. Para la ATR, la recuperación media para n=9 medidas fue de 91,91%, el  $t_{tab}$  (gl:8,  $\alpha=0,05$ )=2,306, como 2,94>2,306 existen diferencias significativas entre la recuperación media y 100%, similares resultados se obtuvieron para la SIM y MET. Para los plaguicidas SIM, ATR y MET, se obtuvo diferencia significativa entre los valores promedio de recuperaciones de todas las concentraciones y el 100%, sin embargo, los valores de recuperación para la SIM y ATR son aceptables de acuerdo con lo establecido con la USEPA (2000) ya que se encuentran en el rango de 70 a 130%. Para el MET, el porcentaje de recuperación fue muy bajo con la metodología propuesta, por lo que habría que utilizar otro tipo de condiciones en la extracción fase sólida

con  $C_{18}$ , solo para este compuesto, lo cual no resulta apropiado ya que habría la necesidad de más muestra, reactivos, inversión de tiempo, entre otros. Se obtuvieron resultados satisfactorios por extracción fase sólida para los plaguicidas SIM, ATR, CAR, DIU y PRO en aguas.

### *3.2.2. Extracción de plaguicidas en sedimentos por ultrasonido*

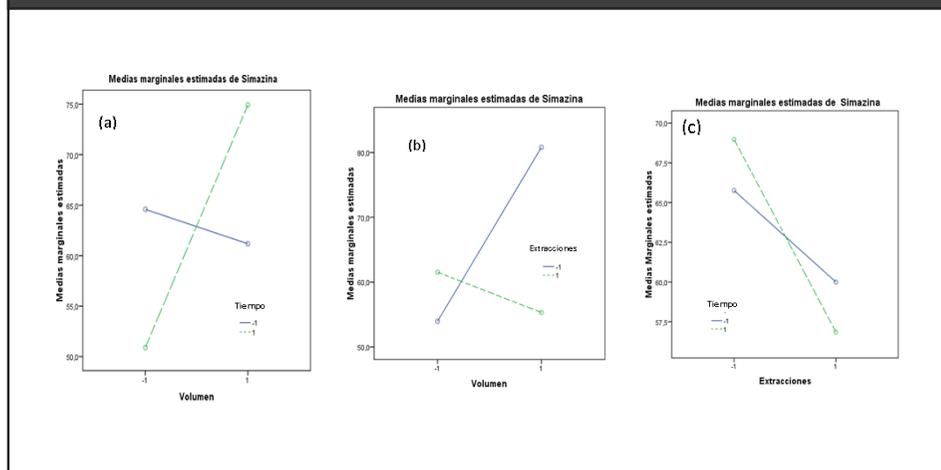
En el estudio de la extracción de los plaguicidas en sedimentos, se investigó la eficiencia de extracción con diferentes solventes: acetato de etilo, metanol, acetona, acetonitrilo y hexano, los cuales abarcan un amplio rango de polaridad. Las recuperaciones para los distintos solventes en las muestras de sedimentos fueron entorno al 60% para la mayoría de los plaguicidas estudiados. Se pudo apreciar que los porcentajes de recuperación obtenidos con acetona, metanol y acetonitrilo para la mayoría de los plaguicidas son superiores a las obtenidas con hexano y acetato de etilo. Los porcentajes de recuperación obtenidos con acetona, metanol y acetonitrilo para algunos de los compuestos fueron muy similares, por lo tanto, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para observar la existencia de diferencias significativas. Se realizó la prueba de Tukey (Honest Significant Difference) cuando fue necesario. Para el CAR, la prueba ANOVA indicó que si existen diferencias en al menos uno de los promedios ( $5,604 > 3,84$ ;  $\alpha = 0,05$ , 2, 6). Para saber cuáles medias o grupos diferían se realizó un test de comparaciones múltiples (Prueba de Tukey). Para el PRO los resultados obtenidos del ANOVA indicaron que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los promedios, al comparar las recuperaciones obtenidas con metanol, acetona y acetonitrilo. Similares resultados se obtuvieron para SIM y ATR. Para el DIU se encontró que no existe diferencia significativa entre las recuperaciones obtenidas entre acetonitrilo y metanol, pero estos dos difieren significativamente de la acetona. Para el MET se obtuvo que no hay diferencia significativa entre el acetonitrilo y acetona ( $\alpha$ ,  $0,194 > 0,05$ ), pero sí existe diferencia significativa entre el acetonitrilo y el metanol ( $\alpha$ ,  $0,037 < 0,05$ ). No se observó diferencia significativa en la extracción del CAR al usar como solvente acetonitrilo o acetona, pero sí se encontró diferencia significativa al utilizar metanol. De ahí que para el CAR se puede usar como solvente de extracción acetona o acetonitrilo. Para elección del solvente más adecuado para la extracción de los plaguicidas se escogió aquel con el que se obtuvieron mayores porcentajes de recuperación para la mayoría de los plaguicidas, también se tuvo en cuenta, los criterios sugeridos por Amparán-Salido et al (2003), de baja toxicidad, bajo costo, volatilidad adecuada para la rápida evaporación sin causar pérdidas de los plaguicidas, polaridad apropiada y que produzca un extracto final libre de interferencias co-extractivas.

La acetona cumplió con la mayoría de estas características antes mencionadas lo que permitió seleccionarlo como solvente para continuar el estudio de extracción, sin embargo, los porcentajes de recuperación en las condiciones descritas anteriormente son bajos, por lo cual, con base en estos resultados y con la finalidad de aumentar la eficiencia de recuperación de los plaguicidas en la extracción con acetona, se evaluó el efecto del tiempo, volumen y número de extracciones en el ultrasonido. El diseño factorial  $2^3$  permitió saber si variables como tiempo de extracción, volumen del solvente y número de extracciones pudieron afectar la eficacia de la extracción por ultrasonido de los plaguicidas estudiados; si tales factores lo afectan, como es tal efecto y cual combinación del tiempo, volumen y número de extracciones maximizan la recuperación. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para estimar la significancia de los efectos principales y sus interacciones, para el SIM los efectos de los factores individuales volumen y extracciones fueron significativos en el proceso de extracción por ultrasonido. Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los niveles del volumen de disolvente y número de extracciones. Las interacciones de AxB (tiempo-volumen), AxC (tiempo-extracciones) y BxC (volumen-extracciones), también fueron estadísticamente significativas. Los diagramas de Pareto permitieron observar efectos significativos, orden de prioridad y los efectos más influyentes. Los diagramas de Pareto permitieron representar los efectos estandarizados de cada factor e interacción en orden decreciente de magnitud, la línea vertical a 2,1 ( $t_{\alpha/2, y} \rightarrow t_{0,25,16} = 2,1$ ) muestra el límite de decisión para considerar un factor significativo ( $p = 0,05$ , al 95%). Si el valor del efecto estandarizado es mayor que 2,1, entonces el efecto será estadísticamente significativo. Para SIM y ATR (Figura 3), puede observarse que los factores que más influyeron en la variable de respuesta (% de recuperación) fueron AxB (tiempo-volumen), B (volumen), BxC (volumen-extracciones) y C (número de extracciones), el factor de menor influencia fue el AxC (tiempo-número de extracciones); el factor A (tiempo) y AxBxC (tiempo-volumen-extracciones) no fueron significativos. Para los demás plaguicidas, los factores que más influyeron fueron: CAR (AxB, AxC), MET (BxC, B, AxB), DIU (B, BxC, C) y PRO (BxC, C, AxBxC).



Por otra parte, se obtuvieron las gráficas de los efectos principales y de interacción para cada compuesto. Del gráfico de interacción para SIM (Figura 4a), podemos observar que cuando la extracción se lleva a cabo a un tiempo y volumen alto se tiene un efecto positivo, es decir, la variable de respuesta aumenta; el gráfico del factor individual B (volumen) figura 4a, también muestra un efecto positivo a un nivel alto, lo que indica que el factor A se debe trabajar en el nivel máximo. Para decidir los niveles de los factores B (volumen) y C (extracciones) tuvimos en cuenta el gráfico de interacción BxC (volumen-extracción) que tiene prioridad sobre los factores individuales, este gráfico de interacción figura 4b, muestra que, a un volumen máximo con un mínimo de extracciones, se obtiene una buena respuesta. El gráfico del factor individual C (extracciones) figura 4b confirma que se debe trabajar con el mínimo de extracciones. Para determinar el nivel más apropiado del tiempo de extracción tuvimos en cuenta la figura 4c, en ella se pudo observar que los valores obtenidos a un nivel alto y bajo de tiempo son similares, por lo cual, se llevó a cabo una comparación de la recuperación media obtenida en los dos tiempos de extracción, a un nivel máximo de volumen y mínimo de extracciones mediante un test de comparación (ANOVA), se encontró que no hay diferencia significativa, por lo tanto las mejores condiciones de extracción para la SIM se pueden llevar a cabo a volumen máximo, número de extracciones mínimo y tiempo mínimo o máximo dado que las dos medias son estadísticamente iguales.

**Figura 4.** Gráficos de efectos de interacción doble para la SIM: (a) tiempo-volumen (AxB); (b) extracciones-volumen (BxC); (c) tiempo- extracciones (AxC).



Para PRO se observó que el efecto del factor BxC (volumen-extracciones) presentó la mayor influencia sobre la variable de respuesta (% de recuperación). Los resultados de ANOVA para el CAR mostraron que los efectos de los factores individuales A (tiempo) y B (volumen) no son significativos, lo cual también se pudo apreciar con el diagrama de Pareto. Los diagramas de Pareto para los plaguicidas DIU y PRO mostraron que las mejores condiciones de extracción para ambos compuestos se llevan a cabo a tiempo mínimo, volumen máximo y número de extracciones mínimo. Los resultados del estudio de las mejores condiciones de extracción de plaguicidas por ultrasonido mostraron que la mayor eficacia se obtiene con un número de extracciones mínimas, tiempo y volumen máximos. Se realizó la comparación de la variación de la cantidad de muestra de sedimento (1,0 g y 5,0 g) durante el proceso de extracción. Los resultados del ANOVA indicaron diferencias significativas para todos los plaguicidas excepto para el PRO y se observó una disminución en las recuperaciones al incrementar la cantidad de muestra sólida. Al incrementar la cantidad de solvente (30 mL), empleando las condiciones de extracción optimizadas y realizar la prueba ANOVA no mostró diferencia significativa. Tiempos de extracción mayores (39 min) con las condiciones optimizadas descritas mostraron disminución en el porcentaje de recuperación y existe diferencia significativa. Los porcentajes de recuperación en sedimentos a nivel bajo, medio y alto de concentración se encontraron entre 81,75 y 92,75% para SIM, ATR, CAR, DIU, MET y PRO. Estos resultados estuvieron entre el rango del 70 al 130% de recuperación establecido por la EPA y desviaciones estándar relativas por debajo del 10%.

### 3.3 Análisis de muestras del río Cauca

Los plaguicidas analizados en muestras de sedimento (S) correspondientes al muestreo I, no fueron detectados en el **río Cauca en las estaciones de SP1** (La Balsa) a la SP8 (Anacaro). En la tabla 2 se presentan las concentraciones de plaguicidas para el muestreo I. Sin embargo, en el muestreo II, en las estaciones SP2 a la SP6, se encontró la presencia de DIU con rangos de concentración entre 0,036 mg/Kg y 0,115 mg/Kg, en la estación SP5 se encontró la presencia de SIM en concentración de 0,093 mg/Kg. Se pudo observar que el sitio con mayor concentración de los plaguicidas de estudio es la estación SP5. El muestreo I se realizó en temporada seca de mitad de año, cuando las lluvias presentan una disminución en su frecuencia e intensidad. El muestreo II se realizó en época de lluvias, encontrándose mayor número de plaguicidas, entre los cuales el DIU estuvo presente en las estaciones desde SP2 a SP6. La mayor incidencia del DIU en sedimentos pudo ser bebida a que su persistencia varía de moderada a alta (1 mes a un año) y su valor de coeficiente de adsorción del carbono orgánico Koc (680 mL/g) es el más alto en relación con los demás plaguicidas estudiados, lo que representa una mayor capacidad de este compuesto para ser adsorbido por la materia orgánica (%MO) presente en el sedimento de acuerdo con Masis et al (2008). El %MO para cada estación fue: SP1(0,38), SP2(0,29), SP3(0,58), SP4(0,46), SP5(0,51), SP6(0,34), SP7(0,58) y SP8(0,37). El Koc además de representar la capacidad de un compuesto para ser adsorbido por la materia orgánica también relaciona la capacidad de adsorción con la arcilla presente. Según Masis et al (2008), los contaminantes orgánicos usualmente, pueden ser solubilizados y eventualmente distribuidos en el agua, luego pueden ser adsorbidos a la superficie de las partículas de sedimento; por consiguiente, al detectarse más residuos de plaguicidas en el muestreo II, pudo ser resultado de una persistencia alta de acuerdo con Sarriavilla et al (2016). Otro factor que puede influir en la adsorción del plaguicida al sedimento es el pH, el cual fue para SP1(5,37), SP2(5,21), SP3(4,71), SP4(5,40), SP5(6,18), SP6(6,86), SP7(6,23) y SP8(8,04). Valores de pH ácidos favorecen la solubilización de plaguicidas como el clorpirifos, reduciendo su adsorción en sedimentos e incrementando su movilidad según Tao et al (2004). De los compuestos analizados en las muestras de agua, la ATR fue el plaguicida de mayor incidencia, el cual se encontró en tres de las ocho estaciones de muestreo en SP1, SP6 y SP7 con un rango de concentración entre 0,0258 mg/L y 0,2405 mg/L. El CAR solo se detectó en la estación de SP3 en concentración de 0,0125 mg/L y la SIM en la estación SP7 con 0,0248 mg/L. Los demás compuestos no fueron detectados. Para el muestreo II, los compuestos más frecuentemente encontrados pertenecen al grupo de las triazinas

(SIM y ATR), seguido del DIU, las concentraciones de plaguicidas halladas en los sitios de muestreo estuvieron para el DIU en un rango de 0,044 mg/L y 0,148 mg/L; ATR entre 0,026 mg/L y 0,029 mg/L y para la SIM entre 0,052 mg/L y 0,079 mg/L.

**Tabla 2.** Concentraciones de plaguicidas en sedimentos (S) y aguas (A) medidos en el río Cauca durante el muestreo I y muestreo II.

MUESTREO I												
Estaciones	Carbaril		Simazina		Atrazina		Diuron		Propanil		Metomil	
	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A
SP1	nd	nd	nd	nd	<lc	0,0594 ± 0,0003	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP3	nd	0,0125 ± 0,0005	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP6	nd	nd	nd	nd	<lc	0,2405± 0,0006	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP7	nd	nd	<lc	0,0248 ± 0,0002	nd	0,0258 ± 0,0002	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
MUESTREO II												
SP1	nd	nd	<lc	<lc	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
SP2	nd	nd	<lc	0,079 ± 0,002	nd	nd	0,074 ± 0,002	nd	nd	nd	nd	nd
SP3	nd	nd	nd	0,056 ± 0,005	nd	nd	0,036 ± 0,003	nd	nd	nd	nd	nd
SP4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,078 ± 0,001	0,044± 0,003	nd	nd	nd	nd
SP5	<lc	nd	0,093 ± 0,003	0,052 ± 0,002	nd	nd	0,115 ± 0,002	nd	nd	nd	nd	nd
SP6	nd	nd	nd	<lc	nd	0,026 ± 0,002	0,113 ± 0,003	0,093± 0,004	nd	nd	nd	nd
SP7	nd	nd	nd	nd	nd	0,029 ± 0,003	nd	0,148± 0,002	nd	nd	nd	nd
SP8	nd	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Concentraciones en sedimentos (S:mg/kg), Concentraciones en aguas (A:mg/L), nd: No detectado  
lc: Límite de cuantificación

Estudios indican que entre los plaguicidas más usados en el Valle del Cauca se encuentran simazina, atrazina, carbofuran, metomil, mancozeb, benomyl, propineb, entre otros de acuerdo con Nivia (2000). Niveles de oxígeno disuelto (OD mg/L) fueron medidos en SP1(7,25), SP2(5,99), SP3(4,39), SP4(2,27), SP5(1,45), SP6(1,76), SP7(0,84) y SP8(2,82). Niveles bajos oxígeno disuelto fueron observados en SP4, SP5, SP6, SP7 y SP8. Bajos niveles de oxígeno disuelto pueden indicar la presencia de bacterias aeróbicas que pueden causar la degradación de plaguicidas a especies menos o más tóxicas de acuerdo con Kumar et al (2018). Los resultados obtenidos en general muestran que en la estación SP1 durante el estudio solo se detectó la ATR, entre otras razones, porque está ubicada en el tramo del río con menor número de descargas, lo que disminuye la posibilidad de contaminación. En las estaciones desde SP2 a SP6 en aguas como en sedimentos, se observó un incremento en la concentración de los niveles de plaguicidas detectados, lo que se puede deber a la mayor actividad agrícola e industrial. Entre la estación SP7 y SP8 disminuye la concentración de los plaguicidas, esto es posible debido a una recuperación natural que presenta el río, un aumento en los caudales y la reducción significativa de los aportes de carga contaminante. Concentraciones de ATR y DIU estuvieron por encima del límite permisible de 0,1 mg/L establecido por el Ministerio de Medio ambiente de la República de Colombia para aguas superficiales naturales.

#### 4. Conclusiones

El análisis simultáneo de SIM, ATR, DIU, CAR, PRO y MET, por la técnica analítica HPLC cumplió con los requerimientos necesarios y aseguran, de esta manera, la calidad y la confianza de los resultados, por ende, su aplicabilidad para el análisis de los plaguicidas de estudio, en matrices de aguas y sedimentos, bajo las condiciones de trabajo establecidas. La metodología de extracción fase sólida resultó confiable para cinco de los plaguicidas estudiados, los porcentajes de recuperación estuvieron por encima del 87% para todos los plaguicidas excepto para el MET. Las extracciones por ultrasonido realizadas con las condiciones experimentales establecidas presentan recuperaciones, para todos los plaguicidas superiores al 80%, lo que está acorde con lo establecido por la EPA. En general los resultados de la aplicación de esta metodología en muestras reales evidencian que desde la estación SP2 hasta la SP6 tanto en aguas como en sedimentos, los plaguicidas de mayor frecuencia encontrados fueron la SIM, ATR y DIU, lo que se pudo deber a la mayor actividad agrícola e industrial en esta zona.

## 5. Agradecimientos

Los autores agradecen a Colciencias, Universidad del Cauca, a la Dra. Martha Paéz del Departamento de Química de Universidad del Valle, al Dr. William Ocampo-Duque de la Universidad Javeriana-Cali, a la Dra. Marta Schuhmacher de la Universitat Rovira i Virgili-Tarragona-España, AECID-España (Proyectos: D/026977/09, D/031370/10, y A1/040697/11).

## 6. Referencias

- Amparán-Salido, R.T.; López Téllez, J.; Navarro Rodríguez, M. (2003). Metodologías para el estudio del impacto de contaminantes plaguicidas. *RETEL revista de toxicológica en línea*, pp. 15-18.
- Babic, S.; Petrovic, M.; Kastelan-Macan, M. (1998). Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil. *Journal of Chromatography A*, 823(1-2), pp. 3- 9. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00301-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00301-X)
- Biswas, A.K.; Kondaiah, N.; Anjaneyulu, A.S.R.; Rao, G.S.; Singh, R.P. (2010). A simple assay for analyzing residues of carbaryl insecticide in buffalo meat by liquid chromatography-photodiode array detection. *Analytical Methods*, 2(4), pp. 393-396. <https://doi.org/10.1039/B9AY00301K>
- Carazo-Rojas, E.; Pérez-Rojas, G.; Pérez-Villanueva, M.; Chinchilla-Soto, C.; Chin-Pampillo, J.S.; Mora, P.; Alpízar-Marín, M.; Masís-Mora, M.; Rodríguez-Rodríguez, C.E.; Vryzas, Z. (2018). Pesticide monitoring and ecotoxicological risk assessment in surface water bodies and sediments of a tropical agro-ecosystem. *Environmental Pollution*, 241, pp. 800-809. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.020>
- Durak, B.Y.; Chormey, D.S.; Firat, M.; Bakirdere, S. (2020). Validation of ultrasonic-assisted switchable solvent liquid phase microextraction for trace determination of hormones and organochlorine pesticides by GC-MS and combination with QuEChERS. *Food Chemistry*, 305. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125487>.
- IUPAC. (1995). Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities. *Pure and Applied Chemistry*, 67, 1699-1723.
- Cui, S.; Hough, R.; Yates, K.; Osprey, M.; Kerr, C.; Cooper, P.; Coull, M.; Zhang, Z. (2020). Effects of season and sediment-water exchange processes on the partitioning of pesticides in the catchment environment: Implications for pesticides monitoring. *Science of The Total Environment*, 698. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134228>.
- Harshit, D.; Charmy, K.; Nrupesh, P. (2017). Organophosphorus pesticides determination by novel HPLC and spectrophotometric method. *Food Chemistry*, 230, pp. 448-453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.083>
- Nasiri, M.; Ahmadzadeh, H.; Amiri, A. (2020). Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 123. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115772>
- Masís, F.; Valdez, J.; Coto, T.; León, S. (2008). Residuos de agroquímicos en sedimentos de ríos, Poás, Costa Rica. *Nota Técnica Agronomía Costarricense*, 32(1), pp. 113-123.
- Kumar, S.; Kaushik, G.; Dar, M.A.; Nimesh, S.; López-Chuken, U.J.; Villarreal-Chiu, J.F. (2018). Microbial Degradation of Organophosphate Pesticides: A Review. *Pedosphere*, 28(2), pp. 190-208. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60017-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60017-7).
- Nivia, E. (2000). Mujeres y plaguicidas, una mirada a la situación actual, tendencias y riesgos de los plaguicidas, estudio de caso en Palmira, Colombia, RAPALMIRA.
- Villamizar, M.L.; Brown, C.D. (2016). Modelling triazines in the valley of the River Cauca, Colombia, using the annualized agricultural non-point source pollution model. *Agric. Water Manag.* 177, pp. 24-36. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.06.010>.

- Pellicer-Castell, E.; Belenguer-Sapiña, C.; Amorós, P.; El Haskouri, J.; Herrero-Martínez, J.M.; Mauri-Aucejo, A.R. (2022). Mesoporous silica sorbent with gold nanoparticles for solid-phase extraction of organochlorine pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A*, 1662. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462729>.
- Petrie, B.; Camacho-Muñoz, D. (2021). Environmentally friendly analytical method to assess enantioselective behaviour of pharmaceuticals and pesticides in river waters. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100558>.
- Pichon, V.; Coumes, C.C.D.; Chen, L.; Guenu, S.; Hennion, M.C. (1996). Simple removal of humic and fulvic acid interferences using polymeric sorbents for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic, neutral and basic pesticides. *Chromatography A*, 737, 25-33. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)01339-3](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)01339-3)
- RAS. (2000). *Sistemas de potabilización. Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico* [Online]. Disponible en: [https://procurement-notice.undp.org/view\\_file.cfm?doc\\_id=16483](https://procurement-notice.undp.org/view_file.cfm?doc_id=16483). Consultado: 22 febrero 2022.
- Rajput, S.; Kumari, A.; Arora, S.; Kaur, R. (2018). Multi-residue pesticides analysis in water samples using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). *MethodsX*, 5, pp. 744-751. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.07.005>.
- Ruberu, S.R.; Draper, W.M.; Perera, S.K. (2000). Multiresidue HPLC methods for phenyl urea herbicides in water. *J. Agric. Food Chem.* 48. <https://doi.org/10.1021/jf000266p>
- Sarria-Villa, R.; Ocampo-Duque, W.; Páez, M.; Schuhmacher, M. (2016). Presence of PAHs in water and sediments of the Colombian Cauca River during heavy rain episodes, and implications for risk assessment. *Science of the Total Environment*, 540, pp. 455 - 465. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.020>.
- Tao, S.; Guo, L.; Wang, X.; Liu, X.; Ju, T.; Dawson, R.; Cao, J.; Xu, F.; Li, B. (2004). Use of sequential ASE extraction to evaluate the bioavailability of DDT and its metabolites to wheat roots in soils with various organic carbon contents. *Sci. Total Environ*, 320, pp. 1 - 9. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00452-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00452-2).
- Tóth, E.; Tölgyesi, A.; Bálint, M.; Ma, X.; Sharma, V.K. (2022). Separation of fosetyl and phosphonic acid in food matrices with mixed-mode HPLC column coupled with tandem mass spectrometric detection and method application to other highly polar pesticides. *Journal of Chromatography B*, 1189. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.123083>.
- USEPA. (2000). *Environmental Protection Agency. Method 3550 C. Ultrasonic Extraction* [Online]. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/3550c.pdf>. Consultado: 10 enero 2022.
- Vagi, M.C.; Petsas, A.S.; Kostopoulou, M.N.; Karamanoli, M.K.; Lekkas T.D. (2007). Determination of organochlorine pesticides in marine sediments samples using ultrasonic solvent extraction followed by GC/ECD. *Desalination*, 210(1-3), pp. 146-156. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.06.020>.