



Revista Industrial  
y Agrícola de  
Tucumán

ISSN 0370-5404

En línea  
1851-3018

Tomo 102 (2):  
3-12; 2025



ESTACION EXPERIMENTAL  
AGROINDUSTRIAL  
OBISPO COLOMBRES  
Tucumán | Argentina

Av. William Cross 3150  
T4101XAC - Las Talitas.  
Tucumán, Argentina.

# Validación de una metodología para el análisis de residuos de atrazina y clorpirifos en suelo

Marina Lacina \*, Norma Kamiya \*, Walter D. Machado \*\* y Álvaro Bravo\*\*\*

\*Sección Química, EEAOC; \*\*Sección Ingeniería y Proyectos Industriales, EEAOC; \*\*\*Facultad de Ciencias Exactas e Ingeniería, UNT. Email: mlacina@eeaac.org.ar

## RESUMEN

El uso de agroquímicos para el control de plagas en los cultivos puede conducir a la contaminación de los suelos con sus residuos. En la provincia de Tucumán, el principal cultivo es la caña de azúcar, en el cual se utiliza atrazina como herbicida pre y post emergente para el control de gramíneas y hojas anchas. Clorpirifos, por su parte, es un insecticida cuyo uso no está permitido en Argentina desde el año 2023. Sin embargo, dadas sus características fisicoquímicas, es persistente en el ambiente y por lo tanto, es posible que aún se encuentren residuos a niveles traza en suelos agrícolas con historial de uso de este insecticida. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo y validación de un método para la determinación simultánea de atrazina, sus metabolitos desetil atrazina (DEA) y desisopropil atrazina (DIA), y de clorpirifos en muestras de suelo de uso agrícola, con el fin de contar con un método validado para evaluar posteriormente la degradación de estos compuestos en suelo y en lechos biológicos. La detección y cuantificación se llevó a cabo por cromatografía gaseosa (GC) con detector de masas simple cuadrupolo (CG-MSD). La extracción de los plaguicidas se basó en el método de QuEChERS original, empleando acetato de etilo como solvente de extracción. Se evaluaron límites de detección y de cuantificación, linealidad, reproducibilidad e incertidumbre. El método validado resultó adecuado para la determinación de residuos de los plaguicidas seleccionados, obteniéndose valores aceptables de los parámetros evaluados, en el rango de concentraciones de  $0,020 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  (atrazina, desetil atrazina y clorpirifos) y de  $0,050 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  (desisopropil atrazina). Estos valores son adecuados para los fines de esta validación y comparables con los de otros autores. Se comprobó que el método es también adecuado para otras matrices como compost de citrus.

**Palabras clave:** agroquímicos, desetil atrazina, desisopropil atrazina, plaguicidas, CG-MSD.

## ABSTRACT

### Validation of a methodology for the analysis of atrazine and chlorpyrifos residues in soil

The use of agrochemicals for pest control on crops can lead to soil contamination with residues. In the province of Tucumán, the main crop is sugarcane, where atrazine is used as a pre- and post-emergence herbicide to control grasses and broadleaf weeds. Chlorpyrifos is an insecticide whose use has been prohibited in Argentina since 2023. However, given its physicochemical characteristics, it is persistent in the environment; therefore, trace levels of residues may still be found in agricultural soils with a history of use of this insecticide. The objective of this study was to develop and validate a method for the simultaneous determination of atrazine, its metabolites desethyl atrazine (DEA) and desisopropyl atrazine (DIA), and chlorpyrifos in agricultural soil samples. This method was used to subsequently evaluate the degradation of these compounds in soil and biobeds. Detection and quantification were carried out by gas chromatography (GC) with a single quadrupole mass detector (GC-MSD). Pesticide extraction was based on the original QuEChERS method, using ethyl acetate as the extraction solvent. Limits of detection and quantification, linearity, reproducibility, and uncertainty were evaluated. The validated method was suitable for determining residues of the selected pesticides, yielding acceptable values for the parameters evaluated, in the concentration range of  $0.020 \text{ mg kg}^{-1}$  (atrazine, desethyl atrazine and chlorpyrifos) and  $0.050 \text{ mg kg}^{-1}$  to  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  (desisopropyl atrazine). These values are adequate for the purposes of this validation and comparable with those of

Fecha de  
recepción:  
20/05/2025

Fecha de  
aceptación:  
04/09/2025

other authors. The method was also found to be suitable for other matrices such as citrus compost.

**Key words:** agrochemicals, desethyl atrazine, deisopropyl atrazine, pesticides, GC-MSD.

## INTRODUCCIÓN

La atrazina (6-cloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-triazina-2,4-diamina) es uno de los herbicidas clorados más ampliamente utilizados en la agricultura (Hayes *et al.*, 2002; Lassere *et al.*, 2008). En los últimos años, varios estudios han demostrado un peligro potencial de su uso tanto para la salud ambiental como la humana. Es un herbicida sistémico selectivo autorizado en Argentina para el control de malezas en cultivos de maíz, sorgo granífero, caña de azúcar y té, entre otros. Se lo considera un potencial contaminante debido a sus características fisicoquímicas, con una vida media de varios días a meses, dependiendo de las características del suelo y las prácticas agrícolas utilizadas. El compuesto original y sus metabolitos se han detectado en suelos y aguas superficiales y subterráneas, siendo prohibido su uso en algunos países de Europa, y restringido en otros, considerándolo altamente contaminante del agua potable (Candela, 2016).

En la provincia de Tucumán, la atrazina (ATZ) es empleada comúnmente en el control de malezas durante la brotación y el macollaje de la caña de azúcar. Estas fases se extienden desde octubre hasta mediados de enero, con variaciones de acuerdo a las condiciones ambientales y de manejo. Además del cultivo de caña de azúcar, en el centro-oeste de la provincia también se cultiva maíz y soja con sucesión de trigo.

La azucarera fue la primera industria pesada de toda la Argentina y es la actividad agroindustrial más importante de la provincia, responsable del 65% del azúcar

producido en el país. En el cultivo de la caña de azúcar se emplea ATZ como herbicida pre y post emergente para el control de gramíneas y hojas anchas. Su uso está registrado en Argentina y autorizado por el SENASA, con un Límite Máximo de Residuo (LMR) de 0,25 mg kg<sup>-1</sup>.

En esta provincia se estudió el impacto de veintinueve plaguicidas sobre la calidad del agua superficial de la sub cuenca del arroyo Mista. La atrazina fue el plaguicida más detectado, con una frecuencia de detección del 40% y un registro máximo de 0,324 µg L<sup>-1</sup> (De Gerónimo *et al.*, 2014). Portocarrero *et al.* (2018), investigadora del INTA, relevó en su tesis doctoral las concentraciones de ATZ en el agua superficial de los arroyos Mista y Saladillo, pertenecientes a la cuenca del río Salí, al este del sector cañero de la provincia (departamentos Cruz Alta y Leales). Se detectó este herbicida en el 100% de las muestras, con concentraciones mínimas y máximas de 0,0004 µg L<sup>-1</sup> y 0,4 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Considerando su toxicidad, el uso generalizado y la estabilidad relativamente alta en el agua y el suelo (Chowdhury *et al.*, 2021; Reinhardt *et al.*, 1990; Rostami *et al.*, 2021; Schwab *et al.*, 2006), resulta indispensable contar con un método de análisis de atrazina y sus metabolitos principales de degradación biológica (desetil atrazina y desisopropil atrazina) (Figura 1) que sea confiable, rápido y sencillo de implementar, a fin de poder monitorear la presencia de este herbicida en suelos. Por otro lado, clorpirifos es un insecticida y acaricida organofosforado (Figura 1) de amplio espectro. Tras una revisión integral de antecedentes científicos sobre los riesgos para la

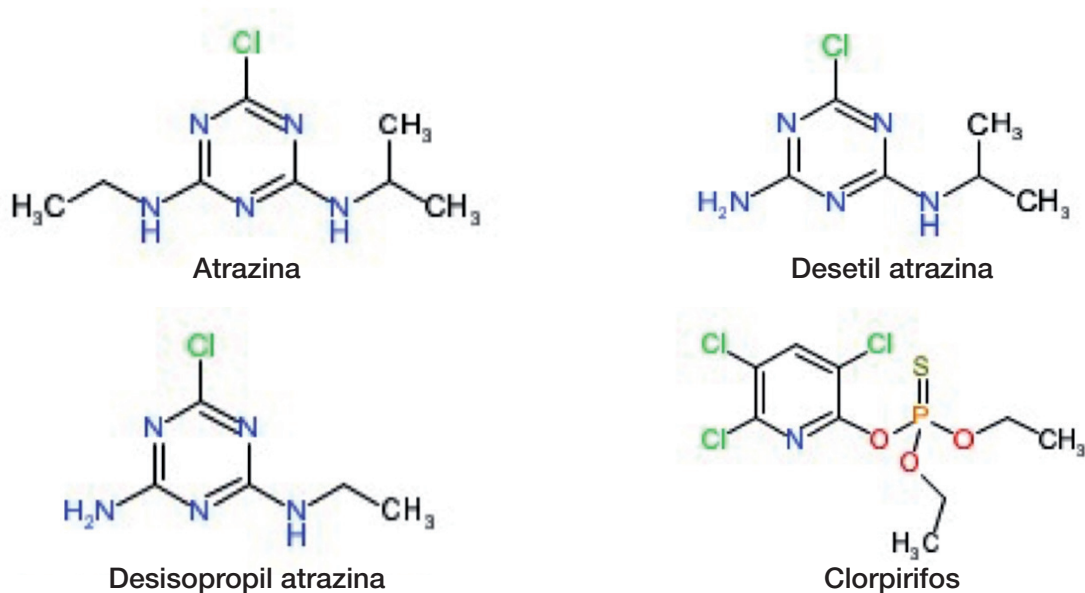


Figura 1. Estructura química de atrazina, sus metabolitos (DEA y DIA) y clorpirifos.

salud, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) de Argentina eliminó de sus registros los principios activos y los productos fitosanitarios que lo contengan, a partir de junio de 2023. Antes de esta medida, era ampliamente usado en diversos cultivos, como granos (garbanzo, maíz), papa, frutas cítricas, tabaco y distintas hortalizas. Este compuesto presenta baja solubilidad en agua y alto coeficiente de adsorción en suelos (Narváez Valderrama *et al.*, 2012). Dadas sus características fisicoquímicas, es persistente en el ambiente; por lo tanto, es posible que aún se encuentren residuos a niveles traza en suelos agrícolas con historial de uso de este insecticida.

Actualmente, existen numerosos trabajos publicados sobre metodologías de análisis de residuos de atrazina y clorpirifos en suelo (Fenoll *et al.*, 2006; Mojica and Guerrero, 2010; Pszczolińska and Michel, 2016; Maciá *et al.*, 2015). Los métodos de extracción empleados habitualmente incluyen la extracción Soxhlet (método de la Agencia de Protección Ambiental -EPA- 3540), extracción Soxhlet automatizada (método EPA 3541), extracción líquida presurizada (PLE) (método EPA 3545), extracción asistida por microondas (MAE) (método EPA 3546), extracción ultrasónica con solventes (USE) (método EPA 3550) y extracción con fluidos supercríticos (SFE) (método EPA 3562), así como extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase sólida (SPME), dispersión de matriz en fase sólida (MSPD) y extracción acelerada con solvente (ASE). Alternativamente, algunos autores proponen el uso de un método rápido, fácil, económico, efectivo, robusto y seguro, QuEChERS (por sus siglas en inglés de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) para reemplazar los métodos de extracción tradicionales para la determinación de plaguicidas en suelo (García Pinto *et al.*, 2010; Paramasivam and Chandrasekaran, 2013; Acosta-Dacal *et al.*, 2021; González Curbelo *et al.*, 2022).

En el laboratorio de Residuos de Plaguicidas de la Sección Química de la EEOC se analizan principalmente residuos de agroquímicos en frutas y hortalizas, en especial frutas cítricas y sus derivados industriales, y en alimentos en general. En muestras ambientales, sólo se analizan aguas. Debido a los requerimientos crecientes de análisis de contaminantes en suelos, se inició la puesta a punto de esta metodología. Se comenzó por atrazina y clorpirifos, por ser los plaguicidas que abarcan el trabajo de tesis de la autora principal, un estudio de degradación de estos plaguicidas en suelo y en lechos biológicos, en el marco de su trabajo de tesis de la Maestría en Gestión Ambiental. Para hacer el estudio de degradación, fueron necesarias la puesta a punto y la validación del método de análisis de estos analitos en suelo y en los componentes de las biomezclas a ensayar.

El objetivo de este trabajo fue validar la metodología para la determinación de residuos de atrazina y dos de sus metabolitos (DEA y DIA) con importancia toxicológica, y el insecticida clorpirifos, basada en el método de extracción QuEChERS original (Anastassiades *et al.*, 2003), empleando acetato de etilo en lugar de acetoni-trilo (Perihan *et al.*, 2007) y GC-MSD para su detección y cuantificación. La verificación del método se realizó en compost de citrus, por ser uno de los componentes de las biomezclas que se emplearán posteriormente para el estudio de degradación de estos plaguicidas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En la Tabla 1 se indican las propiedades fisicoquímicas de los compuestos estudiados. Dada la gran variabilidad en la solubilidad en agua de los analitos, se decidió emplear un solvente de extracción de polaridad media, como el acetato de etilo, que tiene afinidad por sustancias tanto de baja polaridad como intermedia, para asegurar una buena recuperación de los cuatro analitos.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los analitos evaluados.

Parámetro	Atrazina	DEA	DIA	Clorpirifos
Masa molar (g mol <sup>-1</sup> )	215,68	187,68	173,68	350,6
Solubilidad en agua (mg L <sup>-1</sup> )	33	3200	670	1,4
pKa	1,68-1,71	1,30-1,65	1,30-1,58	-----

Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico. El acetato de etilo grado plaguicida (GP) fue provisto por Sintorgan. El sulfato de magnesio anhidro (pureza 97%) y el cloruro de sodio fueron suministrados por Cicarelli, mientras que el PSA y C18 fueron adquiridos a Agilent Technologies. El carbón grafitizado (Supelclean ENVI-Carb 120/400) fue provisto por Supelco. Los estándares individuales de atrazina, DEA, DIA y clorpirifos, todos con una pureza mayor al 98,0%, fueron adquiridos a Dr. Ehrenstorfer.

Se prepararon soluciones madres individuales a una concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup> en acetato de etilo que se almacenaron a -20°C en freezer. Se realizaron diluciones de 100 mg L<sup>-1</sup> y a partir de éstas se prepararon mezclas de los cuatro analitos de 10 mg L<sup>-1</sup> y de 1 mg L<sup>-1</sup>, que se utilizaron tanto para la fortificación como para las curvas de calibración.

### Muestreo y preparación del suelo

Se empleó como matriz representativa suelo proveniente de una parcela agrícola libre de los plaguicidas en estudio. El muestreo se realizó en un lote de cultivo de granos de la localidad de Gobernador Piedrabuena, provincia de Tucumán, República Argentina, a una profundidad de 0 a 30 cm. El acondicionamiento de la muestra consistió en eliminar la brosa (pequeñas ramas y hojas), secar a temperatura ambiente y tamizar por malla de 2 mm (Sistema Norteamericano).

El suelo fue caracterizado como un suelo franco con un contenido de materia orgánica de 1,9%, una salinidad de 0,8 dS m<sup>-1</sup> y un pH de 7,5. Para la verificación de la aplicabilidad del método a otras matrices, se empleó compost de citrus libre de los plaguicidas que abarca esta validación, provisto por una empresa citrícola de Tucumán. El compost fue analizado para su caracterización, con un contenido de MO de 9,1%, un pH de 9,0 y una salinidad de 3,6%.

Tanto el suelo como el compost fueron analizados previamente para verificar que no se detectaran los plaguicidas y/o metabolitos que abarca esta validación.

- **Acondicionamiento de la muestra:** la muestra de suelo se acondicionó eliminando la brosa (pequeñas ramas y hojas) y secándola a temperatura ambiente; posteriormente, fue colocada en horno a 40°C durante 48 h y se tamizó con una malla de 2 mm (Sistema Norteamericano).

- **Muestras fortificadas:** se realizaron fortificaciones de las muestras de suelo blanco con las mezclas de los analitos en estudio, a tres concentraciones: 0,020; 0,050 y 0,10 mg kg<sup>-1</sup>. Para ello, se pesaron 5 g de suelo y 5 g de agua destilada, dejando que se hidratara por cinco minutos. Luego se realizaron las fortificaciones según el siguiente esquema (Tabla 2).

Luego de fortificar, los tubos de los testigos y de las muestras fortificadas se colocaron en heladera durante siete días, para permitir que los plaguicidas se adsorban a las partículas del suelo, antes de proceder a su extracción.

- **Método de extracción y limpieza del extracto:** la extracción de los plaguicidas se basó en el método QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003). Los plaguicidas adicionados a las muestras se extrajeron con acetato de etilo, seguido de una limpieza por extracción en fase dispersiva con PSA y C18. La detección, cuantificación y confirmación de los plaguicidas se realizó por cromatografía gaseosa con detector de masas simple cuadrupolo (CG-MSD).

- **Extracción de los plaguicidas de las muestras fortificadas:** se retiraron los tubos con las muestras guardadas por siete días en la heladera y se las dejó a temperatura ambiente por 20 minutos, hasta atemperarse. Luego se adicionaron 10 ml de acetato de etilo GP, se agitó por 1 minuto y a continuación se agregaron 2 g de sulfato de magnesio anhidro, pureza mayor a 98% (previamente acondicionado en mufla al menos 2 h a 500°C para remover agua y ftalatos residuales) y 0,5 g de cloruro de sodio anhidro p.a. Se agitó vigorosamente durante 1 min para permitir la interacción total de los reactivos y la muestra. Se centrifugaron los tubos durante 5 min a 4500 rpm en una centrífuga refrigerada a 10°C.

- **Limpieza de los extractos:** Se tomaron con pipeta automática entre 6 y 7 ml del extracto (fase orgánica superior correspondiente al acetato de etilo) y se procedió a la limpieza en el tubo de 15 ml, conteniendo 300 mg de MgSO<sub>4</sub> anhidro y 50 mg PSA. Se agitó 1 minuto cada tubo y luego se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos. Luego de centrifugar, se tomaron 5 ml del extracto limpio, se colocaron en tubos de hemólisis de vidrio y se concentraron a 1 ml en evaporador con corriente de nitrógeno a temperatura inferior a 40°C. Se transfirió el extracto a un vial de 1,5

ml para su análisis por CG-MSD.

- **Preparación de un blanco de muestra:** la muestra sin fortificar se utilizó como matriz para realizar las curvas de calibración. Se siguió el procedimiento indicado en la preparación de las muestras fortificadas, pero en lugar de 5 g, se pesaron 10 g de suelo y se adicionó el doble de los reactivos (20 ml de solvente, 4 g de MgSO<sub>4</sub> anhidro y 1 g NaCl). Por cada tanda de muestras se requirió preparar dos tubos de blanco.

- **Limpieza del extracto blanco:** se realizó la limpieza del extracto con tubos que contenían el doble de MgSO<sub>4</sub> anhidro y PSA, con el mayor volumen posible que se recuperó del sobrenadante del tubo de extracción de 50 ml. En el caso de compost, se realizó la limpieza con C18 y carbono grafitizado, por el alto contenido de lípidos y clorofila. Luego de centrifugar, se dividió cada extracto en dos o tres tubos de hemólisis, colocando 5 ml en cada uno, a fin de obtener volumen suficiente para realizar varios puntos de la curva de calibración. Se concentró y se llevó cada tubo a un volumen final de 1 ml (el factor de concentración, por lo tanto, fue de 5).

## Instrumentación

### • Condiciones cromatográficas

Los análisis cromatográficos se realizaron en un Cromatógrafo Gaseoso Agilent Technologies 6850, provisto con una columna para cromatografía gaseosa Phenomenex ZB-5MS Guardian 5% Polysilarylene-95% Polydimethylsiloxane, de 30 m de largo, 0,25 mm de diámetro y 0,25 mm de espesor de film, con un guarda-columna de 5 m; el gas transportador utilizado fue helio, con una velocidad de flujo de 1 ml min<sup>-1</sup> y una presión de 60,6 KPa, en modo flujo constante; el inyector automático split/splitless se utilizó en modo splitless, a una temperatura de 280°C, con un volumen de inyección de 1 µl. El programa de temperatura del horno fue el siguiente: temperatura inicial de 70°C, una rampa inicial de 70 a 200°C, a una velocidad de 25°C min<sup>-1</sup>. Luego, una segunda rampa de 200 a 230°C, a una velocidad de 5°C min<sup>-1</sup>, se mantuvo a 230°C durante 5 min; finalmente, una rampa de 230 a 280°C, a una velocidad de 50°C min<sup>-1</sup>, manteniendo esta temperatura por 2 min. El tiempo de corrida fue de 19,2 min.

### • Condiciones del espectrómetro de masas

La detección, identificación y cuantificación de los compuestos analizados se realizó empleando un espectrómetro de masas Agilent Technologies simple cuadrupolo, acoplado al cromatógrafo gaseoso, modelo 5973N, operado en modo ionización por impacto electrónico (EI), con una energía de ionización de 70 eV. La

Tabla 2. Esquema de fortificación.

Nivel de fortificación	Volumen de fortificación	Volumen de solvente adicionado
Testigo o Blanco (tres repeticiones)		1000 µl de Acetato de Etilo
Fortificado a 20 ppb (seis repeticiones)	100 µl de mezcla de 1 mg L <sup>-1</sup>	900 µl de Acetato de Etilo
Fortificado a 50 ppb (seis repeticiones)	250 µl de mezcla de 1 mg L <sup>-1</sup>	750 µl de Acetato de Etilo
Fortificado a 100 ppb (seis repeticiones)	50 µl de mezcla de 10 mg L <sup>-1</sup>	950 µl de Acetato de Etilo

temperatura de la fuente de iones fue de 230°C; y la del cuadrupolo, de 150°C. Para la identificación y selección inicial de los iones para cada analito se trabajó en modo full SCAN, en un rango de 50 a 500 m/z; el análisis y cuantificación de la curva de calibración, blancos y muestras fortificadas se realizó en modo SIM (Single Ion Monitoring). El método se armó en tres ventanas de tiempo según grupos de compuestos: en el primero se monitorearon los iones correspondientes a DEA y DIA; en el segundo, los de atrazina; y en el tercero, los de clorpirifos, seleccionando los iones indicados en la Tabla 2.

### Validación del método

Para llevar a cabo la validación de la metodología, se determinaron los siguientes parámetros, siguiendo lo sugerido en el Documento SANTE 11312/2021 de la Comunidad Europea: Límite de Detección (LD), Límite de Cuantificación (LQ) o Límite de Reporte, Precisión en condiciones de Repetibilidad y Precisión Intermedia, Veracidad, Especificidad, Linealidad, Efecto Matriz, Intervalo de Trabajo y Robustez.

#### • Límite de Detección (LD)

Para establecer el Límite de Detección se realizaron diluciones sucesivas de las soluciones madre y se analizaron las de concentración menor a 1 mg L<sup>-1</sup> (0,01, 0,05, 0,1 mg L<sup>-1</sup>), para establecer la mínima concentración en la que se cumplen las condiciones de detección de los iones de cuantificación y cualificación, y en la que los picos cromatográficos presenten una relación señal/ruido mayor o igual a 3. Luego se verificó que esa concentración se detecte en matriz.

#### • Límite de Cuantificación (LQ) (Nivel de Reporte)

El establecimiento del Límite de Cuantificación se realizó a partir de los ensayos de veracidad y precisión intermedia, y se determinó el menor nivel de fortificación que cumplió con las condiciones de un valor de coeficiente de variación porcentual (CV%) ≤ 20% y una recuperación entre 70 y 110%.

#### • Precisión en condiciones de Repetibilidad y Precisión Intermedia

Todos los ensayos se realizaron en condiciones de Precisión Intermedia; el mismo analista en diferentes días realizó las repeticiones a dos niveles de fortificación: al LQ y a 0,10 mg kg<sup>-1</sup>. Se calcularon el porcentaje de recuperación promedio y el CV%, considerándose aceptables valores de recuperación promedio entre 70 y 110% y CV ≤ 20%.

#### • Veracidad

Se calcularon las recuperaciones porcentuales promedio de las muestras fortificadas a 0,020 mg kg<sup>-1</sup>, 0,050 mg kg<sup>-1</sup> (DIA) y 0,10 mg kg<sup>-1</sup> en suelo, y a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> en compost de citrus.

#### • Especificidad

Las detecciones positivas se confirmaron cuando se cumplieron los siguientes requisitos establecidos en la Guía Sante N° 11312/2021:

- El tiempo de retención del pico en la muestra coincidió con el del analito en cuestión en la muestra fortificada.

- La relación señal/ruido de cada uno de los iones característicos de los analitos a determinar fue igual o superior a 3.

- Las intensidades relativas de los iones detectados, expresados como un porcentaje de la intensidad del ion más intenso, se correspondieron con la de la muestra fortificada o un punto de la curva de concentración comparable, con una diferencia máxima tolerable del 30%.

- Los picos de los analitos en los cromatogramas de iones extraídos se superpusieron totalmente.

#### • Linealidad

Se evaluó la Linealidad con soluciones estándares a concentraciones comprendidas entre 0,02 y 20 mg kg<sup>-1</sup> con estándares en matriz (extractos de muestras blanco-).

Los valores de aceptación de los coeficientes de correlación (R<sup>2</sup>) para las curvas de calibración son R<sup>2</sup> iguales o mayores a 0,99.

#### • Efecto Matriz

Se evaluó el Efecto Matriz, realizando las curvas de calibración en solvente y en extracto de suelo libre de plaguicidas. Se consideró que no existía Efecto Matriz si la relación entre las pendientes de la curva en matriz y en solvente era igual a 1; que existía un efecto de disminución de la señal si era menor a 1 y que existía efecto de incremento de la señal si era mayor a 1.

El porcentaje de Efecto Matriz se calculó como:

$$EM\% = \left( \frac{\text{Pendiente en matriz}}{\text{pendiente en solución}} - 1 \right) * 100$$

Se consideró: 0 – 20%: Efecto Matriz suave; 21 – 50%: Efecto Matriz moderado; >50%: Efecto Matriz fuerte.

#### • Robustez

Para comprobar la aplicabilidad del método a otras matrices además del suelo, se hizo una verificación del método en muestras de compost de citrus, a un nivel de fortificación de 0,2 mg kg<sup>-1</sup>, por triplicado.

#### • Intervalo de Trabajo

Se estableció el rango de trabajo entre el LQ y el mayor nivel analizado en la curva de calibración en matriz, siempre y cuando el R<sup>2</sup> diera un valor igual o mayor a 0,99.

#### • Incertidumbre de las mediciones

La estimación de la incertidumbre se realizó en base a lo indicado en el apéndice C de la Guía Sante 11312/2021/v2 (pág. 31 a 33), enfoque 1: Estimación de la incertidumbre de medición (MU) basada en datos de control de calidad/validación intralaboratorio.

Se identificaron las siguientes fuentes de incertidumbre: muestreo; preparación de la muestra (efectos atribuibles al analista); efectos atribuibles a los materiales de referencia; efectos atribuibles a los instrumentos de medición; efectos de la muestra (matriz); cálculo de resultados (número de cifras significativas, redondeo); errores aleatorios.

Para el cálculo de la incertidumbre se tomaron los

datos de recuperación para el nivel de fortificación de 20  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para atrazina, DEA y clorpirifos, y 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para DIA. Se calcularon las incertidumbres para cada plaguicida analizado, y la incertidumbre combinada y expandida para todos los plaguicidas en la matriz suelo.

• **Incertidumbre del Sesgo ( $\mu_{sesgo}$ )**

Para estimar la incertidumbre del sesgo de cada plaguicida se tuvieron en cuenta dos componentes: a) El sesgo (como diferencia porcentual con el valor nominal o valor certificado); b) La incertidumbre del valor nominal/certificado, ( $\mu_{Cref}$ ) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\mu_{sesgo} = \sqrt{sesgo^2 + \left(\frac{S_{sesgo}}{\sqrt{n}}\right)^2 + \mu_{Cref}^2}$$

Donde:

sesgo es el promedio de las diferencias porcentuales entre el valor experimental y el valor nominal.

$S_{sesgo}$  es el desvío estándar de las  $n$  mediciones que se realizaron para determinar el sesgo.

$\mu_{Cref}$  es la incertidumbre del material de referencia que se obtuvo dividiendo en 2 el valor indicado en el certificado analítico enviado por el proveedor (expresado en %).

• **Incertidumbre del plaguicida ( $\mu_{plaguicida}$ )**

Para el cálculo se combinaron las incertidumbres aportadas por el sesgo y la precisión intermedia para cada plaguicida aplicando la siguiente fórmula:

$$\mu_{plaguicida} = \sqrt{\mu_{sesgo}^2 + \mu_{prec\ int}^2}$$

Donde:

$\mu_{prec\ int} = CV$  de las recuperaciones de las  $n$  repeticiones realizadas.

■ **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Figura 2 se muestra el cromatograma iónico total de los compuestos analizados.

└ **Límite de Detección (LD)**

Para atrazina, DEA y clorpirifos se estableció como Límite de Detección 0,010  $\text{mg kg}^{-1}$  (que corresponde a un valor de 0,050  $\text{mg L}^{-1}$  de concentración de lectura), dado que a este nivel se cumplieron las condiciones de detección de los iones de cuantificación y cualificación y que los picos cromatográficos presenten una relación señal/ruido  $\geq 3$ . Para DIA, estas condiciones se cumplieron para una concentración igual o mayor a 0,1  $\text{mg L}^{-1}$  de lectura, por lo que el límite de detección se estableció en 0,020  $\text{mg kg}^{-1}$  para este analito. Estos límites de detección son similares a los obtenidos por otros investigadores (Mojica, 2010; Rezende, 2022) y resultaron adecuados para los fines de esta validación.

└ **Límite de Cuantificación (LQ) (Nivel de Reporte)**

Para atrazina, DEA y clorpirifos, el Límite de Cuantificación se estableció en 0,020  $\text{mg kg}^{-1}$  (20  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), determinando la concentración de residuos de plaguicidas de muestras fortificadas a este nivel que cumplan con las condiciones de  $CV \leq 20\%$  y Recuperación entre 70 y 110%. Para DIA estas condiciones se cumplieron en la concentración de 0,050  $\text{mg kg}^{-1}$  (50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), por lo que se estableció este valor como su límite de cuantificación. Los valores obtenidos son similares a los hallados por otros autores (Mojica, 2010; Rezende, 2022) y son adecuados para los fines de esta validación.

└ **Precisión en condiciones de Repetibilidad y Precisión Intermedia**

Para la determinación de estos parámetros se calculó la recuperación promedio y el Coeficiente de Variación porcentual (CV%). Los resultados obtenidos se

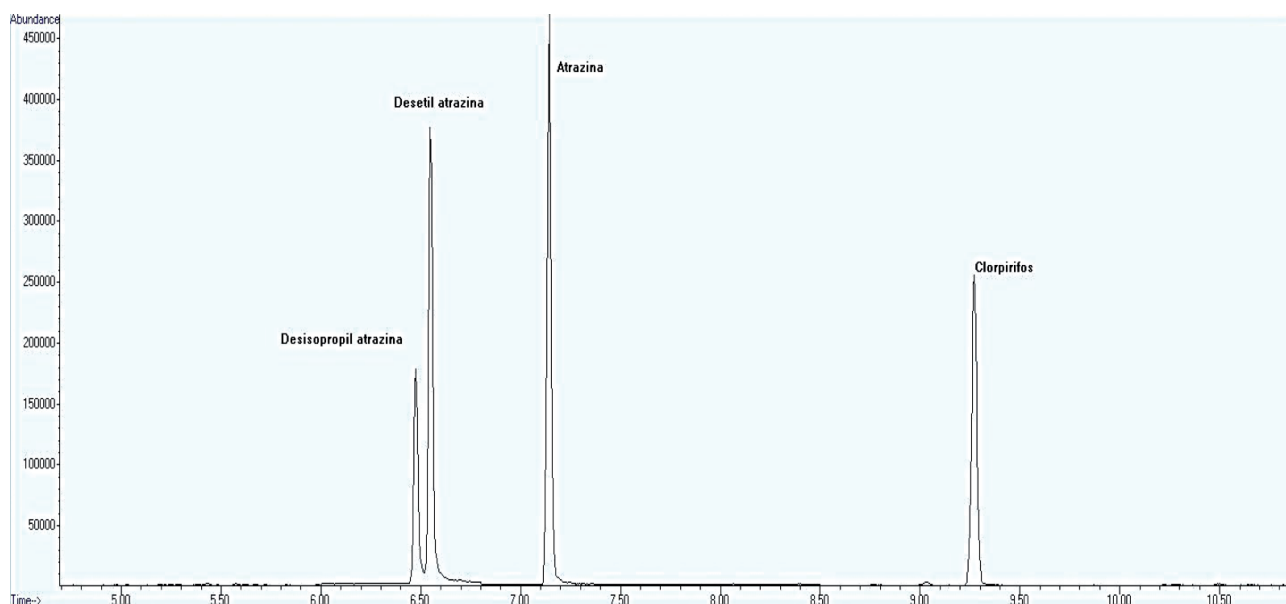


Figura 2. Cromatograma iónico total (TIC) de una muestra de suelo fortificada a 10  $\text{mg/kg}^{-1}$  con DIA, DEA, atrazina y clorpirifos.

muestran en la Tabla 3. Los valores obtenidos se encuentran entre 76 y 87%, lo que demuestra una buena eficiencia del método para extraer los analitos estudiados; los valores de CV% muestran que el método tiene una precisión aceptable. Tanto la recuperación como la precisión son comparables a las informadas por otros investigadores (Mojica, 2010; Rezende, 2022)

#### Veracidad

Las recuperaciones porcentuales promedio de las muestras fortificadas a 0,020 mg kg<sup>-1</sup>, 0,050 mg kg<sup>-1</sup> (DIA) y 0,10 mg kg<sup>-1</sup> en suelo se muestran en la Tabla 3.

#### Especificidad

Se verificó que en cada nivel de fortificación se cumplieran los criterios establecidos en el Documento SANTE 11312/2021 de la Comisión Europea: el tiempo de retención del pico en la muestra coincidió con el del analito en cuestión en la muestra fortificada; la relación señal/ruido de cada uno de los iones característicos de los analitos a determinar fue igual o superior a 3; las intensidades relativas de los iones detectados, expresados como un porcentaje de la intensidad del ión más intenso, se correspondieron con la de un punto de la curva de concentración comparable, con una diferencia máxima tolerable del 30 %; los picos de los analitos en los cromatogramas de iones extraídos se superpusieron totalmente. Esto demuestra que la Cromatografía Gaseosa simple cuadrupolo resulta una herramienta eficaz para la detección y confirmación de los analitos estudiados, siendo más simple y económica que metodologías más costosas como la cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo.

#### Linealidad

Los valores de R<sup>2</sup> para las curvas en matriz dieron valores iguales o mayores a 0,99 (Tabla 4). El método mostró una linealidad en un rango amplio de trabajo, pudiendo emplearse tanto para valores del orden de las ppb a ppm, siendo adecuado tanto para detectar trazas como para cuantificar concentraciones elevadas, por ejemplo, a causa de un derrame accidental, o para monitoreo de la degradación de estos plaguicidas en sistemas de biorremediación.

#### Efecto Matriz

Los valores obtenidos para los plaguicidas evaluados en esta validación se muestran en la Tabla 4.

En los cuatro analitos estudiados se observó un efecto matriz positivo; es decir, un aumento de la señal en la curva en matriz con respecto a la curva en solvente, lo cual es típico de la Cromatografía Gaseosa acoplada a Masas.

En todos los casos, el Efecto Matriz fue menor al 20%, lo que se considera un efecto matriz suave, pudiendo hacerse la cuantificación con curva en solvente. No obstante, debido a la gran variabilidad en la composición de las posibles muestras de suelo a analizar, es recomendable realizar las curvas de calibración en matriz, para evitar errores de sub o sobre cuantificación.

En las Figuras 3, 4, 5 y 6 se muestran los gráficos de linealidad en solvente y en extracto de suelo de cada uno de los compuestos analizados.

#### Robustez

Se verificó la aplicabilidad del método en otras matrices, empleando como matriz representativa compost de citrus. Se eligió esta matriz por ser uno de los componentes elegidos para la preparación de biomezclas que serán utilizadas para un estudio posterior de degradación de estos plaguicidas en lechos biológicos. Los valores obtenidos de recuperación para un nivel de fortificación de 0,2 mg L<sup>-1</sup> fueron aceptables, en el rango de 70 a 110%. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

#### Intervalo de Trabajo

Se estableció el rango de trabajo entre 0,02 a 20 mg kg<sup>-1</sup> para atrazina, DEA y clorpirifos; y 0,05 a 20 mg kg<sup>-1</sup> para DIA. Este rango es adecuado para la detección a niveles de contaminación ambiental y de derrames puntuales. El método permite ampliar el rango de trabajo para concentraciones más elevadas, agregando a la curva de calibración puntos de mayor concentración, siempre y cuando se verifique que la respuesta es lineal.

#### Incertidumbre de las mediciones

Los valores de incertidumbre de cada plaguicida se muestran en la Tabla 3.

Se obtuvo como incertidumbre expandida del

**Tabla 3.** Parámetros de validación para el método en suelo.

Analito	Recuperación promedio % (CV%)		LD (mg kg <sup>-1</sup> )	LQ (mg kg <sup>-1</sup> )	Incertidumbre de medida (calculada al LQ)
	LQ (0,02-0,05 mg kg <sup>-1</sup> )	0,100 (mg kg <sup>-1</sup> )			
Atrazina	76 (4,3)	80 (4,1)	0,01	0,02	17
DEA	87 (5,5)	82 (5,9)	0,01	0,02	10
DIA	81 (8,0)	77 (3,2)	0,02	0,05	14
Clorpirifos	80 (6,5)	83 (5,5)	0,01	0,02	14

**Tabla 4.** Efecto matriz y linealidad.

Analito	Pendiente curva en matriz (suelo)	Pendiente curva en solvente	R <sup>2</sup> curva en matriz	R <sup>2</sup> curva en solución	Relación de pendientes matriz/solución	Efecto matriz (EM) %
Atrazina	791942	80 (4,1)	0,9956	0,9969	1,09	9
DEA	955499	82 (5,9)	0,9974	0,9979	1,15	15
DIA	460029	77 (3,2)	0,9915	0,9986	1,17	17
Clorpirifos	450668	83 (5,5)	0,9966	0,9987	1,12	12

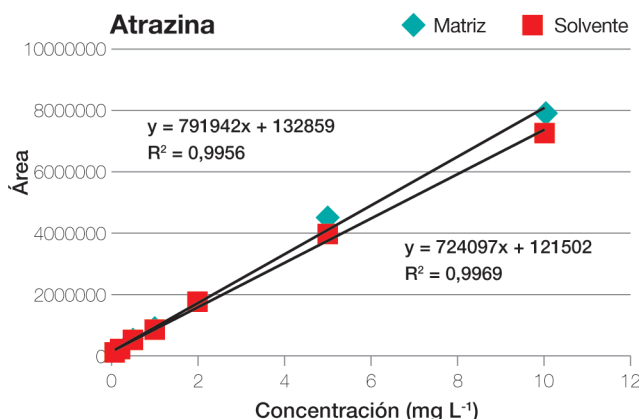


Figura 3. Curvas de calibración de atrazina en solvente y en extracto de suelo.

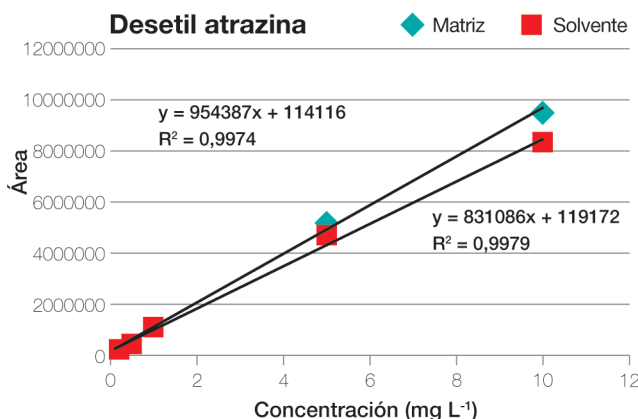


Figura 4. Curvas de calibración de desetil atrazina en solvente y en extracto de suelo.

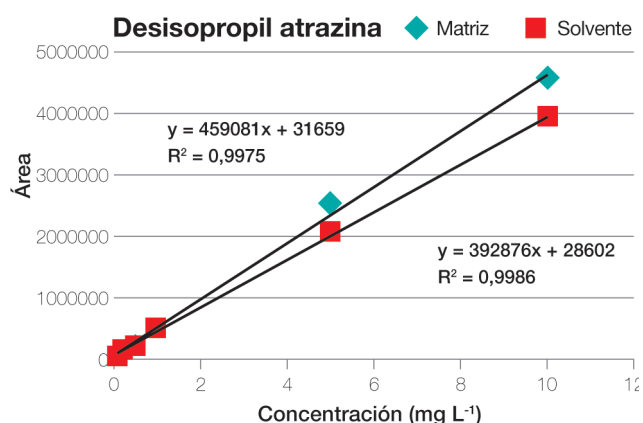


Figura 5. Curvas de calibración de desisopropil atrazina en solvente y en extracto de suelo.

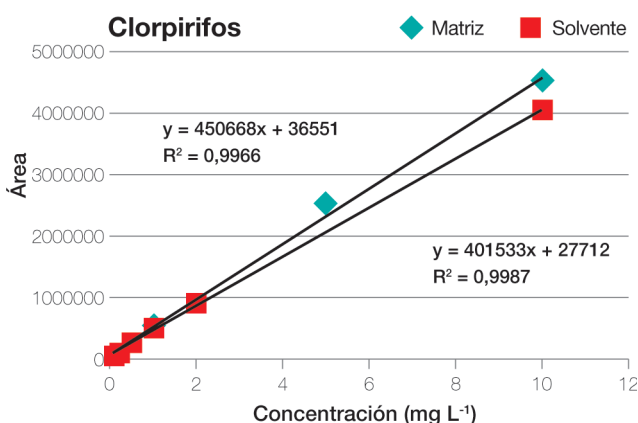


Figura 6. Curvas de calibración de clorpirifos en solvente y en extracto de suelo.

Tabla 5. Parámetros de verificación del método en compost de citrus para un nivel de fortificación de 0,2 mg kg<sup>-1</sup>.

Analito	Recuperación promedio -(CV%)	LD (mg kg <sup>-1</sup> )	LQ (mg kg <sup>-1</sup> )	Incertidumbre de medida (%)
Atrazina	83 -(2,1)	0,01	0,02	12
DEA	81 -(2,3)	0,01	0,02	14
DIA	104 -(3,0)	0,02	0,05	4
Clorpirifos	79 -(6,1)	0,01	0,02	15

método un valor de 27%. Este valor de incertidumbre es aceptable para los análisis de residuos de plaguicidas en matrices complejas, como alimentos o muestras ambientales.

## CONCLUSIONES

El resultado de este estudio muestra que el método validado, basado en el método QuEChERS, es aplicable a la determinación de los cuatro analitos presentados en esta validación en el rango de 0,020 a 20 mg kg<sup>-1</sup> para atrazina, DEA y clorpirifos; y de 0,050 - 20 mg kg<sup>-1</sup> para DIA. Es más rápido, sencillo y amigable con el ambiente,

en comparación con otros métodos como el de extracción sólido-líquido, el de ultrasonido o el de extracción por Soxhlet, que utilizan mayores volúmenes de solvente y tiempos prolongados de extracción; o técnicas de mayor complejidad tecnológica, como la PLE, la ASE o la SFE, que requieren la adquisición de equipamiento costoso y no disponible en la mayoría de los laboratorios de nuestro país. Los valores obtenidos de límite de detección y de cuantificación (0,01-0,02 mg kg<sup>-1</sup> para atrazina, DEA y clorpirifos; 0,02-0,05 mg kg<sup>-1</sup> para DIA, respectivamente) muestran que el método es lo suficientemente sensible para los fines de esta validación, y que puede ser empleado tanto en estudios de contaminación de suelos con trazas de estos plaguicidas como en la evaluación de la



degradación en lechos biológicos, o derrames accidentales de agroquímicos.

Se concluye que el método es adecuado para la determinación simultánea de los plaguicidas analizados por CG-MSD en muestras de suelo con una precisión, recuperación y sensibilidad aceptables. Puede ser de utilidad para los laboratorios que no cuentan con equipos de cromatografía líquida acoplada a triple cuadrupolo, que es la metodología mayormente empleada en la actualidad por los laboratorios de análisis de contaminantes en muestras ambientales. Se demostró, también, su versatilidad y aplicabilidad a otras matrices, como compost de citrus, lo cual permite, por ejemplo, su uso en estudios de degradación de estos plaguicidas en lechos biológicos. Se obtuvo un valor de incertidumbre expandida para los plaguicidas analizados de 27%.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Acosta-Dacal, A.; C. Rial-Berriel; R. Díaz-Díaz; M. Bernal-Suárez and O. Luzzardo. 2021.** Optimization and validation of a QuEChERS-based method for the simultaneous environmental monitoring of 218 pesticide residues in clay loam soil. *Science of the Total Environment* 753 (142015): 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142015>
- Anastassiades, M.; S. Lehotay; D. Štajnbaher and F. Schenck. 2003.** Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and Dispersive Solid-Phase Extraction for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. of AOAC International* 86 (2): 412-341. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
- Candela R. E. 2016.** Comportamiento de atrazina y su relación con la práctica de fertilización nitrogenada en un suelo de la pedanía Cañas, departamento Colón, provincia de Córdoba. Tesis de maestría en ciencias de la ingeniería mención ambiente. <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/4180/tesis%20raul%20candela.pdf?sequence=1&isallowed=y>
- Chowdhury, I. F.; M. Rohan; B. J. Stodart; C. Chen; H. Wu and G. S. Doran. 2021.** Persistence of atrazine and trifluralin in a clay loam soil undergoing different temperature and moisture conditions. *Environ. Pollut.* 276(116687): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116687>
- De Gerónimo, E., V. Aparicio, S. Bárbaro, R. Portocarrero, S. Jaime, J. L. Costa. 2014.** Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* 107:423-431. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.039>
- Environmental Protection Agency (USA). 2024.** Hazardous Waste Test Methods. 3500 series: Organic Sample Extraction. EPA's SW-846 Compendium (Last updated on June 14, 2024).
- European Commission. 2021.** EU Reference Laboratory for Residues of Pesticides (EURL). Documento N° SANTE 11312/2021. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.
- Fenoll, J.; P. Hellín; C. Marín; C. M. Martínez and P. Flores. 2006.** Multiresidue Analysis of Pesticides in Soil by Gas Chromatography with Electron-Capture Detection and Gas Chromatography Mass Spectrometry Detection. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 76: 361-372
- García Pinto, Carmelo; M. Fernández Laespada; S. Herrero Martín; A. Casas Ferreira; J. Pérez Pavón and B. Moreno Cordero. 2010.** Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples. *Talanta*. 81 (1-2): 385-391. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.12.013>
- González-Curbelo, M.; D. Varela-Martínez and D. Riaño-Herrera. 2022.** Pesticide-Residue Analysis in Soils by the QuEChERS Method: A Review. *Molecules* 27(13): 4323. <https://doi.org/10.3390/molecules27134323>
- Hayes, T.; K. Haston; M. Tsui; A. Hoang; C. Haefelle and A. Vonk. 2002.** Feminization of male frogs in the wild. *Nature*. 419: 895-896. <https://doi.org/10.1038/419895a>
- Lassere, J. P.; F. Fack; D. Revets; J. Renault; T. Bohn; A. C. Gutleb and L. Hoffmann. 2008.** Effects of the endocrine disrupting compounds atrazine and PCB 153 on the protein expression of MCF-7 human breast cancer cells. *J. Tox. Let.* 180 (S122). <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.06.379>
- Maciá, A.; K. Vazquez J. Campo and Y. Picó. 2015.** Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túrria River Basin. *Journal of Chromatography A* 1378: 19-31 <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.11.079>
- Mojica A. and J. Guerrero. 2010.** Extracción de residuos de plaguicidas en suelos asistida por ultrasonido. *Rev. Colomb. Quím.* 39 (3):371-387
- Narváez Valderrama, J. F.; J. A. Palacio Baena y F. J. Molina Pérez. 2012.** Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y Ambiente*. 15 (3): 27-37 [En línea] Consultado: 31 de Marzo de 2025. ISSN: 0124-177X. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424893002>
- Paramasivam, M. and S. Chandrasekaran. 2013.** Determination of fipronil and its major metabolites in vegetables, fruit and soil using QuEChERS and gas chromatography-mass spectrometry. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 93 (11): 1203-1211. <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2012.708747>
- Perihan, A.; A. Ambrus; S. J. Lehotay and A. Cannavan. 2007.** Validation of an efficient method for the determination of pesticide residues in fruits and vegetables using ethyl acetate for extraction. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 42: 481-490. <https://doi.org/10.1080/19312450701392490>
- Portocarrero, R.; V. Aparicio; E. De Gerónimo; C. Morales and J. L. Costa. 2018.** Pesticide presence in a hydrologic system of Tucumán province, Argentina. *Geophysical Research Abstracts* 20, EGU2018-2349 EGU General Assembly 2018.
- Portocarrero, Rocío. 2020.** Destino ambiental de los herbicidas atrazina y ametrina utilizados en el cultivo de caña de azúcar. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias

- Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Pszczolińska, K. and M. Michel. 2016.** The QuEChERS Approach for the Determination of Pesticide Residues in Soil Samples: An Overview. : Journal of AOAC International Vol. 99, No. 6:1403-1414 DOI: 10.7540/jaoacint.16-0274 Downloaded from <https://academic.oup.com/jaoac/article/99/6/1403/5658396> by guest on 30 March 2022
- Rezende, S.; N. Besil; L. Archondo; H. Heinzen and M. V. Cesio. 2022.** Multiresidue analysis of basic, neutral, and acidic pesticides in biobeds' biomixture. MethodsX 9, 101697. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101697>
- Reinhardt, C. F.; J. G. Ehlers and P. C. Nel. 1990.** Persistence of atrazine as affected by selected soil properties. S. Afr. J. plant soil 7 (3): 182-187. <https://doi.org/10.1080/02571862.1990.10634564>
- Rostami, S.; S. Jafari; Z. Moeini; M. Jaskulak; L. Keshtgar; A. Badeenezhad; A. Azhdarpoor; M. Rostami; K. Zorena and M. Deghani. 2021.** Current methods and technologies for degradation of atrazine in contaminated soil and water: A review. Environ. Tech. & Innov. 24. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102019>
- Schwab, A. P.; P. A. Splichal and M. K. Banks. 2006.** Persistence of atrazine and alachlor in ground water aquifers and soil. Water, Air & Soil Pollution 171: 203-235. <https://doi.org/10.1007/s11270-005-9037-2>.