

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ULTRA ALTA PRESIÓN (UHPLC/MS/MS) PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CARBAMATOS EN SUELO AGRÍCOLA

Gloria Cosco Salguero^a, Luis Gómez Guerrero^{*a}

RESUMEN

El presente trabajo de investigación propone la validación de un método por cromatografía líquida de ultra alta presión acoplada a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (UHPLC/MS/MS) con el objetivo de cuantificar carbamatos: aldicarb, carbofuran y sus metabolitos (aldicarb sulfona, aldicarb sulfóxido y carbofurano-3-hidroxi) en diferentes muestras de suelos agrícolas como punto de partida de contaminación al ambiente. Este método garantiza una buena separación cromatográfica de los analitos en las muestras, las ionizaciones de las moléculas y la separación de sus fragmentos, los cuales serán identificados por su relación masa carga (m/z) y sus iones ratio, parámetros que ayudan a identificar a los analitos de interés y el cálculo en concentraciones mucho más bajas en comparación de otros métodos de determinación de plaguicidas. El método propuesto presenta una recuperación en las muestras fortificadas con un nivel máximo de 103,91%, y la precisión con prueba de Barlett con un p -valor= 0,327, además de otros parámetros de desempeño de acuerdo a la técnica. Los límites de detección a 1 μ g/L y cuantificación a nivel de 5 μ g/L, lo cual demuestra que el método es más sensible que los métodos de HPLC, los que fueron evaluados con un software estadístico. La evaluación de los parámetros de validación concluyó que el método es preciso y veraz al 95% de confianza, en comparación con otros métodos de análisis, mejora el tiempo de análisis a 15 minutos, y se pueden identificar mejor los analitos, disminuyendo el efecto matriz.

Palabras clave: Cromatografía de alta resolución, UHPLC/MS/MS, carbamato, plaguicidas, aldicarb, carbofurano

^a Facultad de Química e Ingeniería Química, Departamento de Química Analítica e Instrumental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ciudad Universitaria Av. Venezuela, Lima, Perú, luis.gomez17@unmsm.edu.pe

VALIDATION OF AN ULTRA-HIGH RESOLUTION LIQUID CHROMATOGRAPHY (UHPLC/MS/MS) METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF CARBAMATES IN AGRICULTURAL SOIL

ABSTRACT

This research work proposes the validation of a method by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to a triple quadrupole mass spectrometer (UHPLC/MS/MS) with the aim of quantifying carbamates: aldicarb, carbofuran and their metabolites (aldicarb sulfone, aldicarb sulfoxide and carbofuran-3-hydroxy) in different samples of agricultural soils as a starting point for environmental contamination. This method guarantees a good chromatographic separation of the analytes in the samples, the ionization of the molecules and the separation of their fragments, which will be identified by their mass charge ratio (m/z) and their ion ratio, parameters that help to identify to the analytes of interest and calculated at much lower concentrations compared to other pesticide determination methods. The proposed method presents a recovery in the fortified samples with a maximum level of 103,91%, and the precision with the Barlett test with a p-value = 0,327, in addition to other performance parameters according to the technique, the detection limits at 1ug/L and quantification at the 5ug/L level, which shows that the method is more sensitive than the HPLC methods, which were evaluated with statistical software. The evaluation of the validation parameters concluded that the method is accurate and true at 95% confidence, compared to other analysis methods, it improves the analysis time to 15 minutes, and the analytes can be better identified, decreasing the matrix effect.

Key words: High performance liquid chromatography, LC/MS/MS, carbamate, pesticides, aldicarb, carbofuran.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del ambiente con productos orgánicos como por ejemplo los plaguicidas, los cuales tienen movilidad en los suelos y solubilidad en el agua¹, han sido un grave problema los últimos años, ya que estos han tenido un fuerte impacto tanto en la salud humana como en la salud animal.

Se registraron antecedentes en las ciudades de Piura², Huancayo^{3,4} con respecto al uso de estos plaguicidas del tipo carbamatos, que son moléculas derivadas del ácido carbámico⁵, las cuales son transportadas hacia las aguas subterráneas y otros efluentes naturales por medio de la lixiviación del suelo⁶. Los carbamatos como el aldicarb y carbofurano, objeto de este trabajo, se degradan en el ambiente formando metabolitos como son el aldicarb sulfona, aldicarb sulfóxido y carbofurano-3-hidroxi^{7,8}, los cuales tienen efectos más nocivos en los seres vivos. Dada esta problemática en nuestro país se procedió a analizar los suelos, para la identificación y cuantificación de estos carbamatos y sus metabolitos por medio de la técnica de cromatografía líquida acoplada a la espectrometría masas (UHPLC/MS/MS), la separación cromatográfica es posible gracias a la diferencia de polaridades, se podrá obtener cada molécula en su debido tiempo de retención con la ayuda de la fase estacionaria y la

fase móvil^{9,10}, las moléculas separadas cromatográficamente, se ionizan en el detector masas con ionización electrospray (ESI), formando los iones precursores, y pasan a través de los cuadrupolos, se dan las condiciones del equipo necesarias como la energía de colisión para la fragmentación de los iones precursores en la Celda de colisión, generando los iones productos, los cuales ayudaron a la identificación del analito según la m/z y el ion ratio¹¹. Son necesarios los tratamientos estadísticos para la evaluación de los parámetros de validación tales como la precisión, veracidad, linealidad, rango de trabajo, sensibilidad, selectividad, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre¹².

En la presente investigación se tiene como objetivo validar un método analítico con mayor sensibilidad para la cuantificación de carbamatos en suelos agrícolas por UHPLC/MS/MS, con tiempo corto de análisis y con un límite de cuantificación de 5 $\mu\text{g/L}$, en comparación con otros métodos¹³, los cuales tienen tiempo de análisis largos y límites de cuantificación más altos, y cumpliendo con parámetros de validación para garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos: Se utilizó Agua Ultrapura con Componentes Orgánicos Totales (TOC) < 5 $\mu\text{g/L}$, Acetonitrilo con pureza al $\geq 99,9\%$, sales de extracción que contienen: 4g de MgSO_4 + 1g de NaCl + 1g de citrato de sodio dihidratado + 0,5 g de hidrogencitrato de sodio sesquihidratado, sales de limpieza que contiene MgSO_4 y PSA (amina primaria y secundaria), ácido fórmico (HCOOH) grado PA (para análisis) diluido al 5%, Metanol con pureza al $\geq 99,9\%$, formiato de amonio (HCOONH_4) con una concentración de 5M, mezcla de estándares que contengan aldicarb, aldicarb sulfona, aldicarb sulfóxido, carbofurano, carbofurano-3-hidroxi.

Equipos y Materiales: Balanza Analítica con una resolución de 0,0001g, Centrífuga hasta 3500rpm, congeladora.

Condiciones Cromatográficas: UHPLC modelo NEXERA acoplado a un detector masas triple cuádruplo modelo LC-MS 8060-NX, para la identificación de los analitos de interés, trabajando con un volumen de inyección de 0,5 μL , fase móvil compuesta de una fase A: (Agua Ultrapura con Componentes Orgánicos Totales (TOC) < 5 $\mu\text{g/L}$) 90% / (Metanol con pureza al $\geq 99,9\%$) 10% / 1mL HCOONH_4 5M) y una fase B: (Metanol con pureza al $\geq 99,9\%$) 90% / (Agua Ultrapura con Componentes Orgánicos Totales (TOC) < 5 $\mu\text{g/L}$) 10% / 1 mL HCOONH_4 5M), la fase estacionaria es una columna Phenomenex Synergi 2,5 μm Fusion-RP (50mm x 2,00mm x 2,5mm) a 40°C, con la siguiente gradiente (Tabla 1):

Tabla 1. Composición de la gradiente de la fase móvil a flujo de 0,4 mL/min.

Tiempo de corrida	% Fase móvil A	% Fase móvil B
0,0	96,5	3,5
0,1	96,5	3,5
10,0	0,0	100
12,0	0,0	100
12,5	96,5	3,5
15,0	96,5	3,5

El detector masas con un capilar de ionización ESI en modo positivo, temperatura de desolvatación de 486°C, flujos de gas de secado y calentamiento a 10L/min y voltaje del detector 1,96 KV, con la interface de Electrodo de Focalización de iones, el cual se encuentra alrededor del spray generado por el ESI y por medio de campos electromagnéticos, focaliza los iones de interés, desechando los componentes orgánicos propios de la muestra.

Preparación del Estándar: Se usaron soluciones madre de aldicarb, aldicarb sulfona, aldicarb sulfóxido, carbofurano y carbofurano-3-hidroxi de 1000 mg/L en acetonitrilo, con micropipetas de 100 uL y 1000 uL se prepararon diluciones hasta llegar a una solución de trabajo que contiene todos los analitos a una concentración de 2 mg/L.

Colecta de suelos: Se recolectaron las muestras de suelos agrícolas en las localidades de Huancayo, Piura e Ica, se colectaron los suelos a una profundidad de 20 cm. Inmediatamente se guardaron en frascos de vidrio ámbar dentro de una caja térmica a una temperatura entre 6 a 10°C hasta la llegada al laboratorio, donde se procedió al tamizaje de la muestra con una malla de < 2 mm.

Preparación de la muestra: Se pesó 2,0000 g de muestra en balanza analítica, luego se agregó 10 mL de agua Agua Ultrapura con TOC < 5 ug/L y se agitó por 2 min. Luego se adicionó 10mL de Acetonitrilo con pureza al $\geq 99,9\%$ y se agitó por 2 min. Se agregaron las sales de extracción 4g de $MgSO_4$ + 1g de NaCl + 1g de citrato de sodio dihidratado + 0,5 g de hidrogenocitrato de sodio sesquihidratado y se agitó por 2 min, finalmente se centrifugó por 5 min.

Para la limpieza (clean-up), se tomó una alícuota de 6 mL de la parte orgánica del extracto anterior (acetonitrilo) y vertió en un cartucho con las sales de limpieza, las cuales contienen $MgSO_4$ y la amina primaria y secundaria PSA, es recomendable hacer este procedimiento el breve tiempo posible para no eliminar o dañar los analitos que puedan estar presentes en la muestra, se agitó por un minuto y centrifugó por 1 min respectivamente. Luego se pasó por un filtro de jeringa de nylon de 22 μm a un vial de 5 mL, después se tomó una alícuota de 1000 uL y se llevó a un vial de 1,5 mL, y se añadió 10 μL de ácido fórmico HCOOH al 5%, finalmente fue agitado.

Parámetros de Validación

Las soluciones de la curva de calibración se prepararon sobre una muestra de suelo agrícola limpia (blanco).

Para las fortificaciones en suelo agrícola, se pesaron 10 veces en tres días diferentes, las fortificaciones fueron al nivel 100 ug/L, en muestra aproximadamente 0,5 mg/Kg según el peso de muestra. Con estas fortificaciones se desarrollaron los siguientes parámetros de validación:

Linealidad y rango de trabajo: La linealidad, debe tener un $r^2 \geq 0,99$ ¹⁴, el rango de trabajo está compuesto por los puntos de 5, 10, 50, 100, 200 ug/L, los cuales son tomados a partir de la solución de trabajo de 2 mg/L, diluyendo en extracto de suelo agrícola limpio (blanco).

Exactitud: La exactitud es el desarrollo de la precisión y la veracidad, las fortificaciones realizadas los 3 días diferentes se sometieron a la evaluación de precisión aplicando el Análisis de Varianza con un factor (ANOVA) en la igualdad de las medias de los tres días diferentes y la prueba de Barlett, esta prueba se usa si los datos tienen distribución normal, en el caso de la veracidad, se evalúa si los datos tienen una recuperación dentro del rango de 70-120%¹⁵.

Límite de Detección y Cuantificación (LD y LC): Cálculo teórico de los LD con los coeficientes de las curvas de calibración de cada analito y la comprobación experimental con la relación promedio de la señal ruido.

Sensibilidad: Con la pendiente de las curvas de calibración.

Selectividad: La etapa de limpieza (clean up), debe apartar los analitos deseados, eliminando los compuestos propios de la muestra o reduciendo el efecto matriz, y en el sistema UHPLC/MS/MS, los iones que ingresan al detector Masas son separados de los componentes de la muestra gracias a los electrodos de Focalización de iones.¹¹

Incertidumbre: Se estima la incertidumbre expandida con los factores empleados para la expresión del resultado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cuantificación de los analitos es realizada mediante la curva de calibración, preparada con extracto de muestra de suelo agrícola limpia (blanco), con un criterio de aceptación para el $r^2 > 0,9900$.

Tabla 2. r^2 de cada analito.

analitos	días	r^2
Aldicarb	1	0,9989
	2	0,9997
	3	0,9990
Aldicarb Sulfona	1	0,9998
	2	0,9991
	3	0,9991
Aldicarb Sulfóxido	1	0,9997
	2	0,9998
	3	0,9995
Carbofurano	1	0,9994
	2	0,9992
	3	0,9989
Carbofurano -3-hidroxi	1	0,9982
	2	0,9953
	3	0,9992

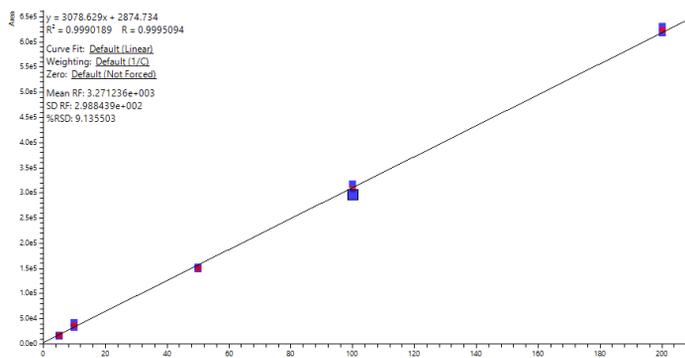


Figura 1. Curva de calibración de aldicarb (día 3)

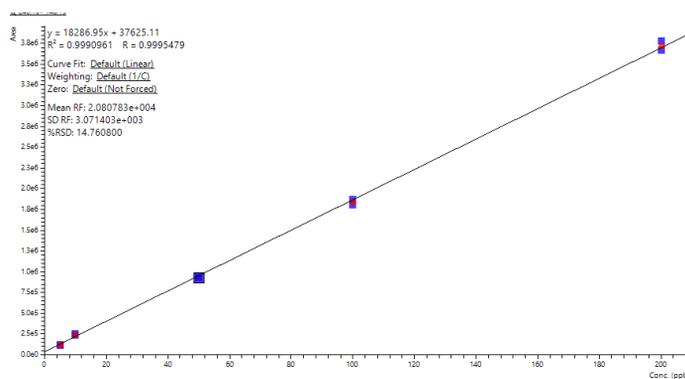


Figura 2. Curva de calibración de aldicarb Sulfona (día 3)

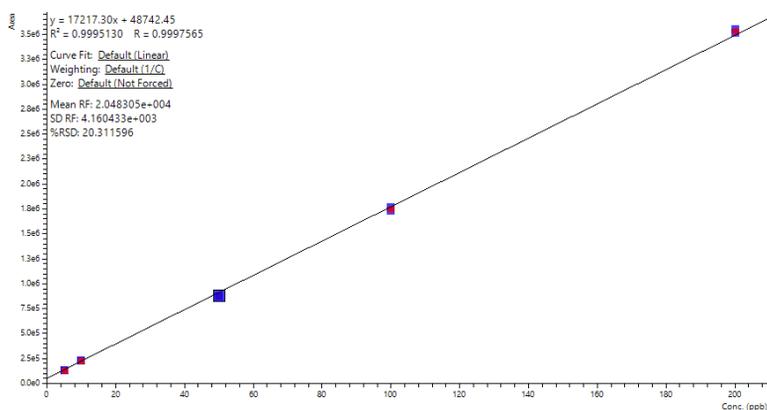


Figura 3. Curva de calibración de aldicarb sulfóxido (día 3)

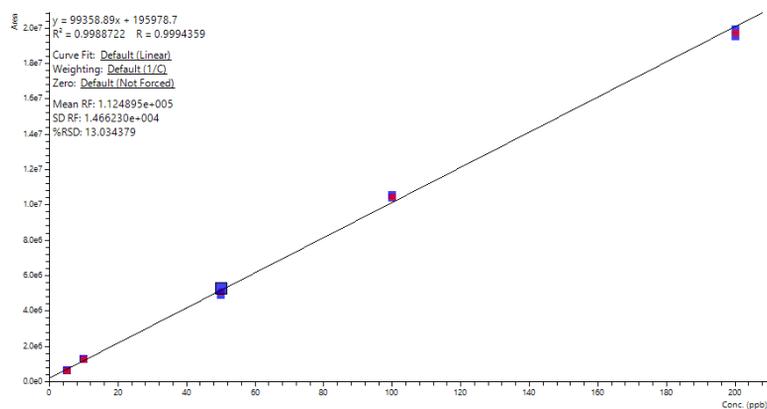


Figura 4. Curva de calibración de carbofurano (día 3)

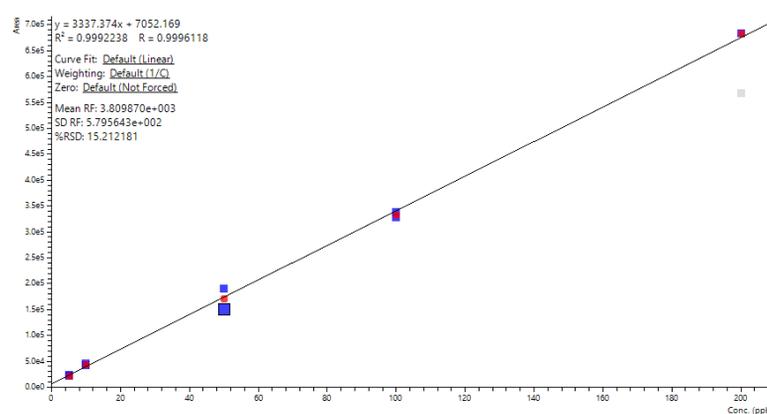


Figura 5. Curva de calibración de carbofurano-3-hidroxi (día 3)

Como se aprecia en la tabla 2 y las figuras de 1 al 5, el r^2 de todos los analitos en 3 días diferentes cumplen con el criterio de aceptación, un valor mayor a 0,9900 según el Laboratorio de referencia de la Unión Europea (EURL) y 0.9950 según la Agencia de Protección ambiental de Estados Unidos (EPA).

Para evaluar la exactitud, primero se tuvo que evaluar el tipo de distribución de los datos obtenidos de las 10 repeticiones durante tres días diferentes, con la prueba de Anderson-Darling.

Tabla 3. Prueba de normalidad Anderson-Darling

analitos	días	Valor-p
Aldicarb	1	0,644
	2	0,376
	3	0,358
Aldicarb Sulfona	1	0,385
	2	0,617
	3	0,726
Aldicarb Sulfóxido	1	0,533
	2	0,379
	3	0,503
Carbofurano	1	0,185
	2	0,555
	3	0,926
Carbofurano -3-hidroxi	1	0,779
	2	0,956
	3	0,276

Con los valores-p obtenidos en la prueba de Anderson-Darling en la tabla 3, se dedujo que los datos obtenidos de todos los analitos en los 3 días diferentes tienen una distribución normal. La precisión se analizó con las pruebas ANOVA y Barlett, de acuerdo a los resultados de la tabla 4 todos los analitos en 3 días diferentes tienen igualdad de medias.

Tabla 4. Valores-p de la prueba ANOVA, igualdad de medias

analitos	Valor-p
Aldicarb	0,551
Aldicarb Sulfona	0,832
Aldicarb Sulfóxido	0,294
Carbofurano	0,071
Carbofurano -3-hidroxi	0,072

Tabla 5. Valores-p de la prueba de Barlett, igualdad de varianzas

analitos	Valor-p
Aldicarb	0,613
Aldicarb Sulfona	0,262
Aldicarb Sulfóxido	0,088
Carbofurano	0,327
Carbofurano -3-hidroxi	0,465

Con los valores-p obtenidos en la prueba de Barlett, se infiere, que los datos obtenidos en todos los analitos en los 3 días diferentes tienen igualdad de varianzas.

En la tabla 6, se puede apreciar que los porcentajes de recuperación de las fortificaciones se encuentran dentro del rango de tolerancia entre el 70% al 120%, este rango de recuperación es sugerido por la EURL-2021 y el EPA 2012, cumpliendo con la veracidad del método.

Tabla 6. Porcentaje de recuperación de las fortificaciones en suelos agrícolas

analitos	días	recuperación máxima (%)	recuperación mínima (%)
Aldicarb	1	90,75	82,85
	2	93,89	77,63
	3	96,67	81,45
Aldicarb Sulfona	1	88,49	82,88
	2	90,16	80,85
	3	89,22	82,57
Aldicarb Sulfóxido	1	87,75	78,15
	2	86,07	79,98
	3	84,61	79,82
Carbofurano	1	103,91	98,77
	2	102,48	93,10
	3	99,99	94,07
Carbofurano -3-hidroxi	1	100,26	82,32
	2	92,33	73,69
	3	97,11	75,11

Para el cálculo teórico del LD y el LC, se procedió a usar las ecuaciones de las rectas obtenidas desde la figura 1 hasta la figura 5 y reemplazándolas en las ecuaciones [1] y [2], los resultados se muestran en la tabla 7

$$LD = \frac{3.\sigma_a}{b} \quad [1]$$

$$LC = \frac{10.\sigma_a}{b} \quad [2]$$

Tabla 7. Límite de detección y cuantificación de los analitos en suelo agrícola

analitos	LD (ug/L)	LC (ug/L)
Aldicarb	1,78	5,92
Aldicarb Sulfona	0,17	0,57
Aldicarb Sulfóxido	1,44	4,81
Carbofurano	1,42	4,73
Carbofurano -3-hidroxi	11,78	39,25

El cálculo experimental de los LD y LC se realizó con fortificaciones de 1ug/L, la evaluación consistió en la relación de alturas de cada analito con respecto a la altura promedio de la señal ruido, para el LD (relación 3:1) y LC (10:1) como mínimo respectivamente, resultados en la tabla 8.

Tabla 8. Relación de alturas de pico del analito con la señal ruido en 1ug/L.

analitos	Altura de pico	altura de señal ruido
Aldicarb	889	74
Aldicarb Sulfona	5392	128
Aldicarb Sulfóxido	2389	526
Carbofurano	11381	463
Carbofurano -3-hidroxi	2810	422

De manera experimental se confirmó el LD como se aprecia en la tabla 8, teniendo una altura promedio de la señal ruido, y el pico de cada analito a 1ug/L tiene una altura que es más de lo que indica la relación de 3:1, en donde se acepta el límite de detección a 1ug/L.

Según la tabla 9, y tomando en cuenta lo que el vocabulario internacional de metrología (VIM), se puede apreciar que el Aldicarb es el analito menos sensible en este grupo de carbamatos y el carbofurano es el analito con más sensibilidad.

Tabla 9. Pendiente de todos los analitos en 3 días diferentes.

analitos	días	Pendiente
Aldicarb	1	3563,46
	2	3173,04
	3	3078,62
Aldicarb Sulfona	1	18357,33
	2	18267,79
	3	18286,95
Aldicarb Sulfóxido	1	21287,12
	2	18102,72
	3	17217,30
Carbofurano	1	93777,88
	2	98745,35
	3	99358,89
Carbofurano -3- Hidroxi	1	11577,99
	2	2905,57
	3	3337,37

Para la selectividad, se eliminaron las impurezas propias de la matriz del suelo, y no hay interferencias en los picos cromatográficos debido al trabajo de limpieza (Clean up), y por el primer filtro de iones de los electrodos de Focalización de iones.

Para la estimación de la incertidumbre se toma en cuenta los factores que intervienen en el resultado en $C(mg/Kg)$, que se expresa en la ecuación [3].

$$C(mg/Kg) = \frac{C(ug/mL) \cdot V_{ACN} \cdot FD}{W_{(g)}} \quad [3]$$

Siendo: $C(mg/Kg)$: Concentración en mg/Kg

$C(ug/mL)$: Concentración en ug/mL

V_{ACN} : Volumen agregado de Acetonitrilo (Solvente extractor) 10mL

FD : Factor de dilución (aplicar si es necesario)

$W_{(g)}$: Peso de suelo (g)

Tabla 10. Incertidumbres de los factores que intervienen en el resultado de $C(\text{mg}/\text{Kg})$.

analitos	días	Uc(ug/mL)	$U_{VACN} = \frac{\text{tolerancia}}{\sqrt{3}}$	$U_{W\text{muestra}}$	Umet	$U_{\text{segro}} = C_o - C_r $	U_{analista}	$U_{\text{expandida}} = 2 * U_{\text{global}}$
Aldicarb	1	0,0002	0,0289	8,07E-05	0,001648	0,06647	0,01336	0,12
	2	0,0005	0,0289	8,07E-05	0,002924	0,06647	0,01336	0,12
	3	5,81E-08	0,0289	8,07E-05	0,001262	0,06647	0,01336	0,12
Aldicarb Sulfona	1	9,57E-07	0,0289	8,07E-05	0,001234	0,07357	0,009429	0,15
	2	0,001659	0,0289	8,07E-05	0,008343	0,07357	0,009429	0,15
	3	5,92E-09	0,0289	8,07E-05	0,001235	0,07357	0,009429	0,15
Aldicarb Sulfóxido	1	5,92E-09	0,0289	8,07E-05	0,001194	0,08835	0,006613	0,18
	2	0,0002361	0,0289	8,07E-05	0,001679	0,08835	0,006613	0,18
	3	1,02E-08	0,0289	8,07E-05	0,001175	0,08835	0,006613	0,18
Carbofurano	1	1,82E-09	0,0289	8,07E-05	0,001448	0,006048	0,007786	0,020
	2	2,15E-07	0,0289	8,07E-05	0,001419	0,006048	0,007786	0,020
	3	2,00E-09	0,0289	8,07E-05	0,001415	0,006048	0,007786	0,020
Carbofurano -3-hidroxi	1	1,31E-08	0,0289	8,07E-05	0,001304	0,06475	0,01724	0,13
	2	0,002432	0,0289	8,07E-05	0,01216	0,06475	0,01724	0,14
	3	0,003423	0,0289	8,07E-05	0,01707	0,06475	0,01724	0,14

Para la incertidumbre de la concentración de curva, se usó la siguiente ecuación:

$$U_{C(u\text{g}/\text{mL})} = \sqrt{\frac{CME}{b^2} * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(C(u\text{g}/\text{mL}) - \bar{c})^2}{nS^2} \right)} \quad [4]$$

Siendo: $U_{C(u\text{g}/\text{mL})}$: Incertidumbre de la $C(u\text{g}/\text{mL})$

CME : Cuadrado Medio del Error

b^2 : Pendiente de la curva al cuadrado

n : Número de puntos de calibración

m : Número de réplica de cada punto de calibración

\bar{c} : Promedio de las concentraciones de Calibración

S^2 : Variación Estándar de las concentraciones de calibración

Se analizaron los suelos provenientes de las ciudades de Ica y Piura, que tuvieron como resultado negativo en los analitos de interés en este trabajo de investigación, mientras que el suelo proveniente de la ciudad de Huancayo tuvo resultado positivo en Carbofurano y Carbofurano-3-hidroxi como se muestra en la tabla 11:

Tabla 11. Resultados de suelos provenientes de la ciudad de Huancayo

Código de Muestra	Analito	Peso de Muestra (g)	resultado Promedio(mg/Kg)	U (mg/Kg)
s-h-1	Carbofurano	2,0115	0,0279	$\pm 0,0077$
s-h-2		2,0099		
s-h-1	Carbofurano-3-hidoxi	2,0115	0,0335	$\pm 0,0089$
s-h-2		2,0099		

Los campos de cultivo de Piura e Ica cumplen con lo establecido por la Unión Europea del no uso de los carbamatos, ya que son fundos que exportan sus productos hacia Europa; sin embargo, en los campos de cultivo como de la papa en Huancayo todavía se usa el carbamato como el carbofurano, el cual es altamente tóxico, y como se aprecia en la tabla 11, el carbofurano genera su metabolito como el carbofurano-3-hidroxi, que se encuentra presente en estos suelos, la confirmación de estos analitos son debido a los iones ratio como el carbofurano, que tiene un ion ratio de 10,01 y un tiempo de retención de 4,94 min, , el carbofurano-3-hidroxi, que tiene un ion ratio de 540,1 y un tiempo de retención de 3,20 min, y los analitos en las muestras están en el rango permitido del 70-130% tal como lo indica la guía SANTE, los productos como la papa proveniente de la ciudad de Huancayo, son para distribución nacional.

CONCLUSIONES

Se validó un método analítico alternativo para identificar y cuantificar carbamatos tales como Aldicarb, Carbofurano y sus metabolitos por cromatografía líquida acoplado a un espectrómetro masas triple cuadrupolo (UHPLC/MS/MS).

Los parámetros de validación del método analítico, demostraron la selectividad, debido a la eliminación del efecto matriz, y bajar las interferencias. Es lineal en concentraciones de 5, 10, 50, 100 y 200 ug/L, con un coeficiente de correlación de $>0,99$. La exactitud se evaluó con la precisión, con las pruebas estadísticas, obteniendo que los datos son precisos, al tener los valores-p de la prueba de ANOVA y Barlett mayores a 0.05, tal como se muestra en las tablas 4 y 5, la exactitud después se evaluó con la veracidad la cual demuestra que los datos obtenidos están dentro del rango de 70-120% de recuperación, también ver que los diferentes analitos, tienen sensibilidades diferentes siendo el aldicarb el analito menos sensible, y el carbofurano el analito más sensible, esto es debido a las pendientes mostradas en la tabla 9. El método propuesto puede cuantificar estos carbamatos en muestras de suelos a partir de 5 ug/L.

AGRADECIMIENTO

Agradecer a Dios nuestro Señor, por hacer posible muchas cosas buenas y poner en mi camino diferentes factores que hicieron posible este artículo, a mis padres Ruth Guerrero Jara y Luis Gómez Alfaro por su infinito apoyo, a mi asesora la Dra. Gloria Cosco Salguero, que con sus importantes aportes, han hecho posible este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flores M, Molina Y, Balza A, Benítez P, Miranda L. Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida. *Invest Clin*. 2011; 52(4):295-311.
2. Andrea F. Efecto de los plaguicidas utilizados en los cultivos de arroz, sobre las comunidades de macroinvertebrados bentónicos y la calidad de las aguas en la cuenca baja del río Piura [Tesis para optar el grado PhD.] Lima: Universidad Agraria de La Molina; 2014. [citado el 11 Jun 2022]. Disponible en: www.lamolina.edu.pe/postgrado/?p=13220
3. Lazo C, Gamboa N. Contaminación de suelos dedicados al cultivo de papa por pesticidas. *Revista de Química*. 1997; XI: 49-57.
4. Montoro Y, Moreno R, Gomero L, Reyes M. Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2009; 26(4): 466-72
5. Mason Y, Choshen E, Rav-Acha C. Carbamate insecticides: Removal from water by chlorination and ozonation. *War Res*. 1990; 24(1): 11-21.
6. Jury W, Flühler H. Transport of chemicals through soil: Mechanisms, models, and field applications. *Adv Agron*. 1992; 47: 142-201.
7. Baron R, Merriam, T Toxicology of Aldicarb. *Rev Environ Contam Toxicol*. 1988; 105: 2-70.
8. Bachman J, Patterson H. Photodecomposition of the carbamate pesticide carbofuran: kinetics and the influence of dissolved organic matter. *Environ Sci Technol*. 1999; 33 (6): 874–881.
9. Skoog A, Holler J, Nieman T. Principios de Análisis Instrumental. Vol V/VI. Quinta Edición. Madrid: Editorial McGraw Hill; 2001.
10. McMaster M. LC/MS A practical User´s Guide. [Internet]. Hoboken, NJ (USA):Wiley-Interscience; 2005. [citado el 16 Jun 2022]. Disponible en: <https://dokumen.pub/lc-ms-a-practical-users-guide-0471655317-9780471655312.html>.
11. Schmitz O. UHPLC and Mass Spectrometry. *The HPLC Expert*. [Internet]. Weinheim, Germany: Wiley-VCHVerlagGmbH&Co.; 2016. [citado el 16 Jun 2022]. Disponible en: <http://www.aspu.edu.sy>.
12. Barwick V, Morillas P, Ellison S, Engman J, Gjengedal E, Oxenbøll U, et al. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. [Internet]. Second Edition; 2014. [citado el 1 Jul 2022]. Disponible en: https://www.academia.edu/69318546/The_Fitness_for_Purpose_of_Analytical_Methods_A_Laboratory_Guide_to_Method_Validation_and_Related_Topics_Second_edition.
13. Parcasio C, Lizano A, Pythias M. Challenges of a HPLC-UV Analysis of Methomyl, Carbofuran and Carbaryl in Soil and fresh Water for Degradation Studies. *Int J Pharm Chem Biol Sci*. 2014; 3(3):15-22.
14. Validation data of five selected pesticides using QuEChERS by liquid chromatography tandem mass spectrometry [Internet]. 2013. [citado el 3 Set 2022]. Disponible en: https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?LabID=500&CntID=917&Theme_ID=1&Pdf=False&Lang=EN
15. Main changes introduced in Document N° SANTE/11312/2021 with respect to the previous version (Document N° SANTE 12682/2019) [Internet]. 2021. [citado el 3 Set 2022]. Disponible en: https://food.ec.europa.eu/system/files/2022-02/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf