

EVALUACIÓN DEL GRADO DE CONTAMINACIÓN POR PESTICIDAS ORGANOCORORADOS DEL RÍO OTÚN, MEDIANTE GC-MS.

Analysis of organochlorine pesticides in the Otún River, by GC-MS.

RESUMEN

En esta investigación, se presenta un método fiable para la determinación y cuantificación de 18 OCP's presentes en aguas y sedimentos. El método se basa en una LLE por etapas con acetonitrilo seguido por la separación por cromatografía de gases y detección por espectrometría de masas. La metodología es específica y selectiva. Los porcentajes de recuperación de la mayoría de los pesticidas estuvieron entre 70-120%.

Los residuos de plaguicidas organoclorados en las muestras de agua del Río Otún, departamento de Risaralda se analizaron con el fin de averiguar si dichas aguas estaban exceptas de plaguicidas y acumulaciones de estos.

PALABRAS CLAVES: GC-MS, Organoclorados, Pesticidas.

ABSTRACT

In this investigation, we report a reliable method for quantitation and determination of the limits of identification of 18 OCP's residues in water and sediments. The method is based on LLE with acetonitrilo followed by gas chromatographic separation and SIM mass spectrometric detection (GC-MS). The methodology is specific and selective. Recoveries of majority of pesticides from spikes samples range from 70 to 120%.

Organochlorine pesticide residues water samples from Otún river in Risaralda were determined to find out the except of pesticide contamination and accumulation in the river.

KEYWORDS: GC-MS, Organochlorine, Pesticides.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los recursos más importantes y el cual ha llamado mucho la atención debido a su alto índice de contaminación, y a su preocupante agotamiento.

La aplicación masiva de plaguicidas es parte integral de la agricultura moderna y de los programas de salud pública. En Colombia, como en el resto de mundo, no se puede concebir una agricultura sin plaguicidas, pues sin ellos nuestras cosechas disminuirían en un 50%. El país consume 40.000 toneladas de plaguicidas por año, a través de 1.500 formulaciones registradas en el Ministerio de Salud. En el área Suramericana es el segundo consumidor después de Brasil [1].

Aunque los plaguicidas han producido grandes beneficios agrícolas, a la vez también graves problemas en la salud y en el medio ambiente debido al mal manejo y uso indiscriminado.

Las diferentes formas de contaminación generan efectos indeseados como lo son la persistencia de residuos tóxicos, reducción de la flora y la fauna y aumento de la intoxicación humana.

La aplicación de plaguicidas es uno de los factores que mas influyen en la biodiversidad ya que tienen el efecto de reducir el hábitat, disminuir el número de especies de

malas hierbas y desplazar el equilibrio de especies en la comunidad vegetal. Estudios realizados en Suecia revelan también la influencia de los plaguicidas en la fertilidad de los suelos, incluyendo la inhibición de la nitrificación con la consiguiente merma de la fijación de oxígeno por las plantas [2].

Actualmente el uso de los pesticidas organoclorados está prohibido en el mundo, sin embargo debido a su persistencia en el ambiente y poca degradabilidad hacen que estos se bioacumulen en los afluentes hídricos por periodos mayores a diez años mostrando así como los plaguicidas organoclorados son una amenaza persistente al medio ambiente.

Además se ha calculado que solo el 10% de los plaguicidas producidos llegan al organismo blanco (plaga), y el restante se dispersa en el ecosistema. Por lo tanto en ciertas regiones del mundo, la contaminación de aire, agua y suelos con plaguicidas, crea además un riesgo adicional para el hombre, que corresponde a la incorporación de estos a los alimentos y a las cadenas alimentarias que culminan en el consumo humano [1].

Investigaciones realizadas en el Quindío en las quebradas el Congal y Agua Bonita detectaron la presencia de plaguicidas organoclorados en sus aguas en concentraciones del orden de 0,019 y 2.42 ppm,

Jessica Maritza Usma Rios

Tecnóloga Química
Universidad Tecnológica de Pereira
jessim017@hotmail.com

Carlos Mauricio Villegas Zuluaga

Tecnólogo Químico
Universidad Tecnológica de Pereira
carlosmvillegas@hotmail.com

Juan Pablo Arrubla Vélez

Químico MSc
Profesor auxiliar
Grupo de estudio del recurso hídrico
Universidad Tecnológica de Pereira
juanpablo77@utp.edu.co

resultados que muestran la importancia de realizar esta clase de análisis en la zona.

En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos al aplicar dos técnicas de extracción de muestras. Estas técnicas son extracción L-L continuo y extracción L-L por etapas; para la determinación de plaguicidas organoclorados en aguas y sedimentos del Río Otún, departamento de Risaralda, se usó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

2. METODOLOGÍA

El experimento se planeó como un diseño completamente aleatorio en bloques, para siete puntos de muestreo (históricos implementados por la empresa aguas y aguas de Pereira), en 5 diferentes épocas del año, por tres réplicas. Para ello se seleccionaron siete puntos de muestreo, en los cuales se tomaron 35 muestras en el periodo comprendido entre noviembre de 2007 y julio de 2008, las cuales cubren todas las temporadas climáticas de la zona y tiempos de aplicación de plaguicidas en los cultivos aledaños a la cuenca.

La toma de muestra se efectuó por inmersión del frasco a diferentes profundidades, recolectando muestra de la orilla, centro y extremo opuesto del río, con posterior unión de las muestras con el fin de obtener una homogenización del agua en el punto, esto se hizo en recipientes de vidrio color ámbar de 2L. escrupulosamente lavados. La preservación de la muestras se realizó a 4°C.

Extracción L-L continuo:

Del volumen total de la muestra se transfirieron 750 mL previamente homogenizados a un extractor líquido-líquido que contenía diclorometano retirándose la fase no acuosa que posteriormente se concentró en un equipo Kuderna-Danish y una columna Snyder de tres bolas hasta obtener 1 mL.

Extracción L-L por etapas:

Del volumen total de la muestra se transfirieron 100 mL previamente homogenizados a un beaker el cual contenía 28 g de NaCl, 13,6 de KH₂PO₄ y 17,4 de K₂HPO₄ se procedió a la solubilización de esta solución en agitador magnético, posteriormente se transfirió a un embudo de separación el cual contenía 75 mL de acetonitrilo, retirándose la fase no acuosa que posteriormente se concentró en un rotavapor hasta obtener 1 mL.

Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron las siguientes:

- Detector: MSD
- Columna: Rtx 5Sill MS
- Gas de arrastre: He
- Presión columna: 54.2 kPa
- Modo: Splitless
- Tem. Inyector: 280°C

- Tem. Detector: 260°C
- Rampa de temperatura: 50°C por 1min; 25°C/min) hasta 125°C; 10°C/min hasta 320°C por 10min.

Las condiciones operacionales para la espectrometría de masas se muestran en la tabla 1:

Modo de ionización: Impacto Electrónico-SIM

Pesticida	Tiempo de retención (min)	Iones de cuantificación (M/Z)
Alfa-BHC	13.427	219,181,183
Gama-BHC	14.003	219,181,183
Beta-BHC	14.148	219,181,183
Delta-BHC	14.752	219,181,183
Heptacloro	15.665	272,337,100
Aldrin	16.421	263,265,261
Epóxido de Heptacloro	17.183	353,351
Endosulfan I	17.943	241,195,265
p,p'-DDE	18.224	246,318
dieldrin	18.472	263,277,261
Endrin	18.907	263,317,345,281
p,p'-DDD	19.062	165,235,237
Endosulfan II	19.110	241,195
Endrin aldehído	19.378	345,347,343
p,p'-DDT	19.782	235,237,165
Sulfato de Endosulfan	19.825	272,274,229
o,p'-Metoxicloro	19.955	227,228
Metoxicloro	20.748	227,228

Tabla 1. Parámetros operacionales del espectrómetro de masas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Calibración de la técnica de GC-MS para OCP's

El análisis por GC-MS se realizó en un cromatógrafo de gases marca Shimadzu GC-MS QP-2010, equipado con autoinyector AOC-20i, automuestreador AOC-20s e inyección Splitless. Para el procesamiento de los datos obtenidos en el análisis cromatográfico, se utilizó el software SM solutions 2.5.

En la figura 1, se muestra el perfil cromatográfico obtenido por GC-MS de la solución de OCP's en hexano-acetona, el cual contiene los siguientes plaguicidas 1. Alfa-BHC, 2. Gama-BHC, 3. Beta-BHC, 4. Delta-BHC, 5. Heptacloro, 6. Aldrin, 7. Epóxido de Heptacloro, 8. Endosulfan I, 9. p,p'-DDE, 10. Dieldrin, 11. Endrin, 12. p,p'-DDD, 13. Endosulfan II, 14. Endrin aldehído, 15. p,p'- DDT, 16. Sulfato de Endosulfan, 17. O,p'-Metoxicloro, 18. Metoxicloro. Como se puede apreciar

los picos tienen una eficiente separación, sin embargo, aparecen tres picos a los 15, 15,9 y 17.6 minutos estos

corresponden a silicatos, pero no interfieren con ninguno de los plaguicidas analizados.

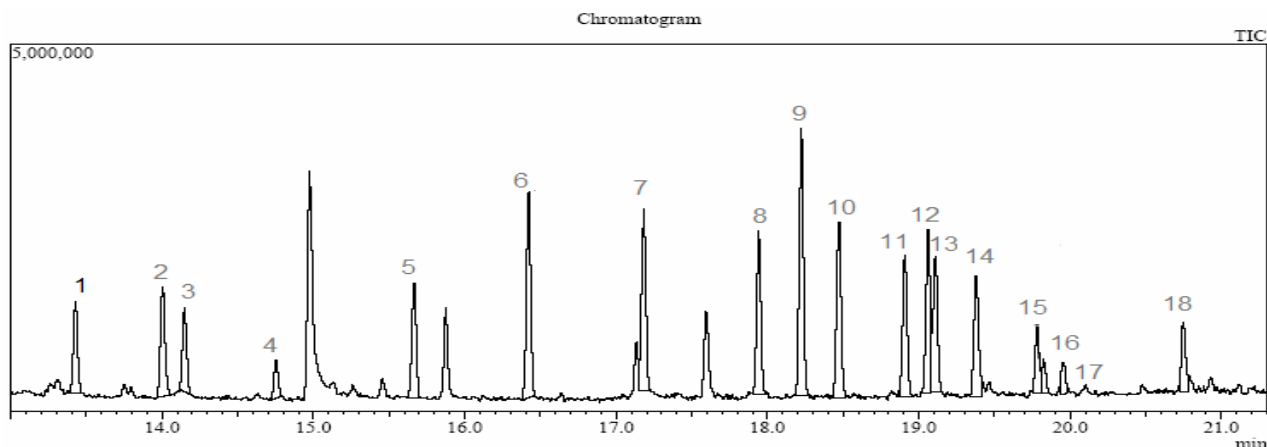


Figura 1. Perfil cromatografico obtenido en modo SCAN por IE de una muestra patrón de OCP's de 5 ppm

Para el correcto análisis de los plaguicidas se realizó la curva de calibración del equipo. La curva realizada esta comprendida ente los valores de 0.01 a 0.1 ppm, estos valores se seleccionaron por que eran los que mejor correlacionaban con una línea recta (ver figura 2). Para plaguicidas organoclorados el valor permitido por el decreto 1594/84 es de 0.001 ppm, aunque dicho valor no se encuentre dentro de la curva, el método cromatográfico es valido para esta concentración debido a que antes de la inyección las muestras problema son concentradas 100 veces, permitiendo así que las concentraciones queden entre el rango lineal de la curva.

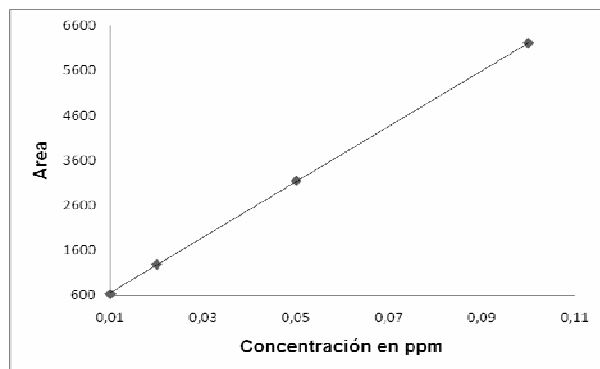


Figura 2. Curva de calibración del Alfa-BHC

Para cada curva de calibración de cada pesticida, se calcularon datos estadísticos necesarios para la confiabilidad del método, los cuales se muestran en la tabla 2.

El valor recomendable para el coeficiente de correlación es ≥ 0.999 , aunque en el caso de impurezas se admite ≥ 0.990 . Para las curvas de calibración realizadas el coeficiente de correlación (r^2) en

promedio es 0.9990 este valor es cercano a la unidad lo que significa que existe correlación con una probabilidad elevada.

La precisión del método es expresada en términos de desviación estándar (SD) o desviación estándar relativa (RSD). Ambas indican que el método es reproducible. El promedio de los valores de RSD es de 4,747% el cual no sobrepasa el 10% mostrando que el método cumple con lo anteriormente mencionado.

El LD menor es de $1,714E-04$ ppm este valor es muy bueno pues permiten detectar la presencia de plaguicidas organoclorados a nivel de trazas ya que de esta forma es que se encuentran disueltos en las muestras de agua.

El LC menor es de $1,714E-3$ ppm este valor es mas que aceptable por que el decreto 1594/84 permite que la presencia de pesticidas organoclorados en agua sea de 0,001 ppm. Los resultados obtenidos para el LD y el LC de las curvas de calibración garantiza la detección de estos plaguicidas a niveles más bajos que los permitidos por el Estado.

La sensibilidad de cada método se tomó como la pendiente de la curva de calibración, en general las curvas tienen una buena sensibilidad con un promedio de $6,775E+4$ (área/ppm).

El tratamiento estadístico se hizo con base en trabajos de investigación sobre determinación de pesticidas organoclorados por cromatografía de gases realizado por los autores Carvalho, Universidad de Portugal[3], por Darko, University of Science and Technology, Kumasi, Ghana [4] y por Sánchez del Departamento de Medio Ambiente, INIA, en España [5], obteniéndose resultados similares a los de estas investigaciones.

PLAGUICIDA	R ²	SD (ppm)	% RSD	LD (ppm)	LC (ppm)	SENSIBILIDAD (área/ppm)
Alfa-BHC	0,9998	1,839E-3	2,779	9,464E-04	8,696E-03	6,439E+04
Gama-BHC	0,9992	3,706E-3	5,762	2,641E-03	2,209E-02	6,531E+04
Beta-BHC	0,9999	9,215E-2	1,463	3,010E-03	3,010E-02	6,229E+04
Delta-BHC	0,9999	1,947E-2	0,837	9,010E-03	9,279E-02	2,310E+04
Heptacloro	0,9992	3,692E-3	7,929	4,686E-04	4,534E-03	5,002E+04
Aldrin	0,9997	3,024E-3	3,767	1,238E-03	1,237E-02	7,818E+04
Heptacloro epóxido	0,9999	3,189E-3	3,519	1,714E-04	1,714E-03	8,750E+04
Endosulfan I	0,9930	2,275E-3	6,805	7,542E-03	7,542E-02	3,182E+04
p,p'-DDE	0,9997	1,171E-4	4,451	4,410E-04	1,286E-02	2,551E+05
Dieldrin	0,9998	2,255E-3	6,523	2,101E-03	1,986E-02	3,570E+04
Endrin	0,9952	2,557E-3	6,933	4,121E-03	4,492E-02	3,640E+04
p,p'-DDD	0,9993	5,982E-3	6,232	6,391E-04	6,391E-03	9,741E+04
Endosulfan II	0,9996	1,252E-3	4,759	1,751E-02	1,889E-01	2,655E+04
Endrin aldehído	0,9996	1,955E-3	6,488	2,576E-02	2,576E-01	2,911E+04
p,p'-DDT	0,9991	4,888E-3	6,898	3,695E-03	3,403E-02	7,307E+04
Endosulfan sulfato	1,0000	1,343E-2	1,197	3,469E-03	3,635E-02	1,117E+04
Metoxicloro	0,9995	5,734E-3	3,466	7,461E-03	2,474E-02	6,283E+04
Metoxicloro	0,9998	6,914E-3	5,642	2,954E-03	2,429E-02	1,295E+05

Tabla 2. Datos estadísticos para las curvas de calibración

Se comparó el promedio de los coeficientes de correlación de las curvas de calibración el cual fue de 0.999 con el obtenido en la investigación realizada por [5], cuyo promedio de coeficiente de correlación fue de 0.998, lo cual indica que las curvas de calibración realizadas en este trabajo son similares a las realizadas en investigaciones internacionales.

Para el límite de detección se comparó con el obtenido en el trabajo de investigación realizado por Darko en Ghana [4] el cual fue de 2,083E-4 ppm.

II. Análisis cromatográfico

Se puede considerar un buen porcentaje de recuperación Entre el 70-120 %, y así aparece en la mayoría de trabajos de investigación como los realizados en la Universidad del Quindío [6], Universidad de Extremadura [7] y por el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC) [8].

Los porcentajes de recuperación obtenidos en estas investigaciones son del orden del 80-100% en la Universidad de Extremadura y del 50-90% en la Universidad del Quindío.

Los porcentajes de recuperación obtenidos por medio de la técnica de LLE por etapas, se resume en la tabla 3.

Para la extracción CLLE de los porcentajes de recuperación obtenidos cuatro superan el 70%, y los restantes están por debajo del 50% lo cual no hace muy eficiente el método, a pesar de ser recomendado por el

Standard methods, además el tiempo requerido para el análisis de estos pesticidas es de 48 horas por muestra lo que no hace viable su implementación en un laboratorio

Pesticida	Recuperación (%) LLE por etapas
Alfa-BHC	62,77±4,92
Gama-BHC	79,47±5,52
Beta-BHC	68,58±5,84
Delta-BHC	98,35±8,61
Heptacloro	83,98±3,07
Aldrin	69,24±3,30
Heptacloro epóxido	104,46±3,66
Endosulfan I	70,41±1,63
p,p'-DDE	81,68±2,48
Dieldrin	84,21±1,91
Endrin	93,80±2,47
p,p'-DDD	70,36±2,07
Endosulfan II	74,56±2,24

Endrin aldehído	59,88±3,65
p,p'-DDT	105,40±3,59
Endosulfan sulfato	115,72±13,17
o,p'-Metoxicloro	66,14±1,97
Metoxicloro	100,49±6,96

Tabla 3. Recuperación (%) de los OCP's, obtenidos por LLE por etapas, en muestras contaminadas con 5 ppm.

Buscando mejorar el porcentaje de recuperación se realizó el método de LLE por etapas basado en un trabajo de investigación sobre pesticidas organoclorados realizado por E. Ahmed [10], en East Carolina University, además en el método empleado por el Laboratorio de Calidad de productos naturales de la Universidad Tecnológica de Pereira quienes aplican este método según la Notificación 499 del Ministerio de salud, trabajo y bienestar social del Japón.

Para la extracción L-L por etapas los porcentajes de recuperación obtenidos están alrededor del 70% y hasta el 115%, mostrándose así que todos los plaguicidas tienen un buen porcentaje de recuperación, lo que unido a la buena precisión (coeficiente de variación <10%, tabla 3) demuestran la exactitud del método propuesto.

Los diferentes porcentajes de recuperación fueron comparados con un estudio realizado por Darko [4], de la University of Science and Technology, en el cual se obtuvieron porcentajes de recuperación mayores al 70%, como por ejemplo para el Lindano 85%, endosulfan 78%, Aldrin 91%, dieldrin 89% entre otros, mostrando que los porcentajes obtenidos en esta investigación son reproducibles y permiten confiabilidad en el análisis realizado.

III. Análisis de OCP's en aguas y sedimentos.

En el análisis de plaguicidas organoclorados en aguas no se detectó la presencia de ninguno de los 18 pesticidas organoclorados en ninguna de las 35 muestras analizadas en los siete de puntos de muestreo, en la tabla 4 se muestra la forma como se interpretaron los resultados con su respectivo límite de cuantificación, límite de detección y valor admisible por el decreto 1594/84. Estudios realizados por la Universidad Tecnológica de Pereira y la Empresa de Acueducto y Alcantarillado Aguas y Aguas de Pereira en el año 2006 confirman la ausencia de estos plaguicidas en la cuenca del Río Otún [11].

El tratamiento de los datos para el modelo planeado no se pudo realizar según se esperaba debido a que no se obtuvo ningún resultado numérico (concentraciones de analito por debajo del nivel mínimo de detección de la técnica o no detectable N.D) lo que limita la aplicación de cualquier método estadístico, este tipo de resultados se denominan distribución de eventos raros los cuales se rigen por la distribución de Poisson [12] [13] [14].

Pesticida	Concentración (ppm)	LD (ppm)	LC (ppm)	Valor admisible Decreto 1594/84
Alfa-BHC	ND	9,464E-04	8,696E-03	0,001 ppm
Gama-BHC	ND	2,641E-03	2,209E-02	0,001 ppm
Beta-BHC	ND	3,010E-03	3,010E-02	0,001 ppm
Delta-BHC	ND	9,010E-03	9,279E-02	0,001 ppm
Heptacloro	ND	4,686E-04	4,534E-03	0,001 ppm
Aldrin	ND	1,238E-03	1,237E-02	0,001 ppm
Heptacloro epóxido	ND	1,714E-04	1,714E-03	0,001 ppm
Endosulfan I	ND	7,542E-03	7,542E-02	0,001 ppm
p,p'-DDE	ND	4,410E-04	1,286E-02	0,001 ppm
Dieldrin	ND	2,101E-03	1,986E-02	0,001 ppm
Endrin	ND	4,121E-03	4,492E-02	0,001 ppm
p,p'-DDD	ND	6,391E-04	6,391E-03	0,001 ppm
Endosulfan II	ND	1,751E-02	1,889E-01	0,001 ppm
Endrin aldehído	ND	2,576E-02	2,576E-01	0,001 ppm
p,p'-DDT	ND	3,695E-03	3,403E-02	0,001 ppm
Endosulfan sulfato	ND	3,469E-03	3,635E-02	0,001 ppm
o,p'-Metoxicloro	ND	7,461E-03	2,474E-02	0,001 ppm
Metoxicloro	ND	2,954E-03	2,429E-02	0,001 ppm

TABLA 4. Resultado del análisis de plaguicidas organoclorados en agua

El hecho de no haber detectado la presencia de estos plaguicidas en el Río Otún demuestra la buena calidad del agua del río. Sin embargo hay que tener en cuenta que los plaguicidas organoclorados son hidrofóbicos y tienden a ser persistentes en el medio ambiente, encontrándose presencia de estos en sedimentos años después de su prohibición [15], por tanto se optó complementar el análisis del agua del río con una determinación de pesticidas organoclorados en sedimentos a lo largo de la cuenca del Río Otún. Dicho análisis nunca antes se ha realizado en la zona, por lo cual la evaluación de estos sedimentos expuso una mejor visión del estado del río frente a los plaguicidas organoclorados.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US-EPA) [15] considera a los sedimentos como los contaminantes más comunes en ríos, arroyos, lagos y embalses. Los sedimentos son arena, arcilla, limo y otras partículas sueltas del suelo que se depositan en el fondo de una masa de agua. Pueden provenir de la erosión del suelo o de la descomposición de plantas y animales. Los sedimentos que el agua de lluvia recoge al escurrirse degradan la calidad del agua para el consumo humano, para la vida silvestre y para el suelo que rodea los arroyos [15].

El análisis de plaguicidas organoclorados en sedimentos en la cuenca del Río Otún detectó la presencia de o,p'-metoxicloro en una concentración de 0,001 ppm la cual no supera los límites permitidos por la norma que rige a Colombia, decreto 1594/84, pero es un indicativo de la utilización de este plaguicida en cosechas agrícolas, siendo a través de este medio como entra al agua del Río

Otún, adhiriéndose a sedimentos y depositándose en el fondo de este. Además según estudios realizados el Metoxicloro tiene una vida media mayor a 10 años [16].

4. CONCLUSIONES

- De los métodos de extracción para determinación de pesticidas organoclorados en aguas CLL concentrador en Kuderna-Danish y L-L por etapas concentrador en rotavapor se seleccionó y evaluó este último por ser el que mejor % recuperación presentaba entre el 70-120% lo que unido a un coeficiente de varianza < 10% demuestran la calidad en precisión y exactitud.
- Se calibró la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, usando el modo de ionización de impacto electrónico para la determinación y cuantificación de pesticidas organoclorados.
- La técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, para el análisis de pesticidas organoclorados mostró muy buenos valores para los parámetros estadísticos; R^2 en promedio 0,9990; y RSD que no sobrepasa el límite de 10%.
- Los límites de detección y cuantificación de la técnica analítica están por debajo de 1,714E-4 ppm y 1,714E-3 ppm respectivamente. La sensibilidad y selectividad permiten detectar la presencia de plaguicidas organoclorados a nivel de trazas.
- Se complementó la batería de análisis para el sistema de monitorización para el Río Otún el cual consta de siete estaciones a lo largo de la cuenca seleccionadas estratégicamente con el fin de valorar y analizar las zonas mas susceptibles de contaminación, abarcando así los factores de riesgo en la salud y el ambiente.
- La evaluación del grado de contaminación por pesticidas organoclorados en el Río Otún, no detecta presencia de estos por encima del nivel mínimo de detección del método empleado. En contraste con la contaminación encontrada en otras investigaciones hechas por los autores en Ríos del departamento del Quindío, y lo reportado en otros trabajos alrededor del globo.
- En el análisis realizado en las muestras de sedimentos se encuentra presencia del pesticida organoclorado o,p'-metoxicloro en una concentración de 0,001 ppm, si bien no en concentraciones superiores a lo permitido, si es un indicativo de la utilización de este plaguicida en la zona.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1]Ministerio de salud., *Los plaguicidas en América Latina*. Bogotá: 1992, pp.1-497
- [2]J. Zapata., *Informe ambiental 2005 departamento de Risaralda*, Pereira: Contraloría General de Risaralda, 2006.
- [3]P. Carvalho., et al., *An expeditious method for the determination of organochlorine pesticides residues in estuarine sediments using microwave assisted pre-extraction and automated headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry*, Portugal.:Revista Talanta. 2008.
- [4]G. Darko., et al., *Persistent organochlorine pesticide residues in fish, sediments and water from Lake Bosomtwi, Ghana*, Gana: Revista Chemosphere. 2008(72):21-24
- [5]C. Sánchez., et al., *Determination of organochlorine pesticides in sewage sludge by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry*, España: Revista Talanta. 2008(74):1211-1217
- [6]A. Londoño., et al., *Caracterización de la calidad ambiental de la Quebrada El Congal, corregimiento de Barcelona, departamento del Quindío*. Armenia: Revista de investigaciones.2006 (16):93-103
- [7]J.P. García., *Estado actual de la contaminación por metales pesados y pesticidas organoclorados en el Parque Natural de Monfrague*.España:2002
- [8]J. Villaverde., et al., *Priority pesticides and their degradation products in river sediments from Portugal*.Science Direct.2008 (390):507-513
- [9]A. Londoño., et al., *Caracterización de la calidad ambiental de la Quebrada Agua Bonita, corregimiento de Barcelona, departamento del Quindío*. Armenia: Revista de investigaciones.2005(15):55-64
- [10]F. Ahmed., *Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks*,USA: Revista Science Direct.2001(20)
- [11]Universidad Tecnológica de Pereira- Empresa de acueducto y alcantarillado Aguas y Aguas de Pereira., *Estudios limnológicos de los Ríos Otún, Consota y quebradas afluentes*. Pereira:2006
- [12]Montgomery., *Diseño y Análisis de Experimentos 2ª Ed*. 2002. Wiley.
- [13]Pérez, César *Técnicas estadísticas con SPSS 2001* Editorial Alhambra, S.A.
- [14] Counting, G., et al., *Método para evaluar eventos de baja incidencia: Distribución Poisson*. Unidad de Análisis y tendencias en salud. 1999(4). [Available from:http://bvs.sld.cu/uats/rtv_files/rtv0499.htm]
- [15]M. Linares., *Evaluación ambiental de pesticidas organoclorados en sedimentos de la laguna de Chantuto (Chiapas, México) y de la Bahía de Santander (Cantabria, España)*.España:2007
- [16] MIREX: insecticida altamente contaminante camino a su eliminación. [Available: webs.chasque.net/~rapaluy1/mirex/Folleto_mirex.pdf]