

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACION JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-QUI-066</p>
<p>VERSION: 03</p>	<p>Rige desde: 22/12/2023</p>	<p>PAGINA: 1 de 8</p>

<p>Elaborado o modificado por:</p> <p>M Sc Manuel Oreamuno Zepeda Perito Judicial 2</p>	<p>Revisado por Líder Técnico:</p> <p>M Sc. Jorge Cartín Elizondo Líder Técnico</p>
<p>Visto Bueno Encargado de Calidad:</p> <p>M Sc. Jorge Cartín Elizondo Encargado de Calidad</p>	<p>Aprobado por:</p> <p>Licda. Patricia Fallas Meléndez Jefatura, Sección de Química Analítica</p>

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	02/11/2018	21/02/2020	Versión Inicial del Procedimiento	13-18	PFM
02	21/02/2020	22/12/2023	Introducción de mejoras en procedimiento y de diagramas	01-20	PFM
03	22/12/2023		Revisión documental	07-23	PFM

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 2 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

1 Objetivo:

Identificación de N-metilcarbamatos en alimentos adulterados, bebidas adulteradas y en formulaciones agrícolas.

2 Alcance:

Este procedimiento describe la metodología a utilizar para la identificación de N-metilcarbamatos (específicamente aldicarb, oxamilo, metomilo, carbofurán, carbarilo y propoxur) en muestras de alimentos sólidos y bebidas adulterados con cantidades de al menos entre 5 mg – 10 mg de plaguicida y en formulaciones agrícolas. La determinación se realiza por UV y FTIR-ATR.

3 Referencias:

3.1 EN 15662 "Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method", 2008.

3.2 Informe de Validación de la determinación cualitativa de N-metilcarbamatos en alimento de perros, salchichón, coca cola y leche por espectrofotometría UV y espectrometría FTIR-ATR con extracción por QuEChERS, 001-QUI-VAL-(2)-2018.

4 Equipos y Materiales:

4.1 Equipo instrumental:

- agitador de vórtice estándar con regulador de la intensidad de agitación o similar
- balanza granataria (rango de 0,01 g a 500 g; menor división 0,01 g) o similar
- centrífuga para tubos de PP de 15 mL y 50 mL que permita centrifugar a 3000 rcf con temporizador o similar
- espectrofotómetro UV visible que permita generar un espectro ultravioleta entre 210 nm y 350 nm o similar
- espectrómetro FTIR-ATR que permita generar un espectro infrarrojo entre 4000 cm^{-1} y 525 cm^{-1} o similar

4.2 Materiales y Cristalería:

- beaker de diferentes tamaños
- cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico
- cubre bocas para polvos 3M N95 o similar
- espátulas
- guantes desechables de nitrilo
- lentes de seguridad
- micropipetas de 1,0 a 5,0 mL
- mortero de ágata o similar
- probetas de diferentes tamaños
- puntas para micropipetas
- tubos cónicos de extracción de PP, de 15 mL
- tubos cónicos de extracción de PP, de 50 mL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 3 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

5.1 Reactivos:

- acetona, grado reactivo
- acetonitrilo, grado cromatográfico o similar
- agua destilada o desionizada
- éter de petróleo, grado reactivo
- metanol, grado espectrométrico o similar
- mezcla de sales EN15662 (paquete con proporciones: MgSO₄ 4,0 g; NaCl 1,0 g; citrato sódico tribásico dihidrato 1,0 g y citrato sódico dibásico sesquihidrato 0,5 g)
- tubos de extracción de fase sólida dispersiva (d-SPE) de 15 mL con 100 mg PSA, 10,0 mg GCB y 600 mg MgSO₄

5.2 Materiales de referencia:

- metomilo, estándar analítico sólido, pureza > 90%
- oxamilo, estándar analítico sólido, pureza > 90%
- carbofurán, estándar analítico sólido, pureza > 90%
- aldcarb, estándar analítico sólido, pureza > 90%
- propoxur, estándar analítico sólido, pureza > 90%
- carbarilo, estándar analítico sólido, pureza > 90%

Nota No. 1: El material de referencia del N-metilcarbamato a utilizar será el correspondiente para el o los casos en particular.

6 Condiciones Ambientales:

6.1 Los materiales de referencia deberán almacenarse en congelación (-20 °C ± 5 °C).

6.2 El espectrómetro FTIR-ATR y el espectrofotómetro UV requiere de un cuarto, con aire acondicionado con temperatura que oscile entre 18 °C a 23 °C y una humedad constante menor al 80% sin condensación. Los cambios de temperatura pueden provocar una variación en la respuesta del sistema.

6.3 Las condiciones ambientales de este laboratorio (cuarto con aire acondicionado con temperatura que oscile entre 18 °C a 23 °C) no afectan las mediciones de los análisis que se realizan en este procedimiento.

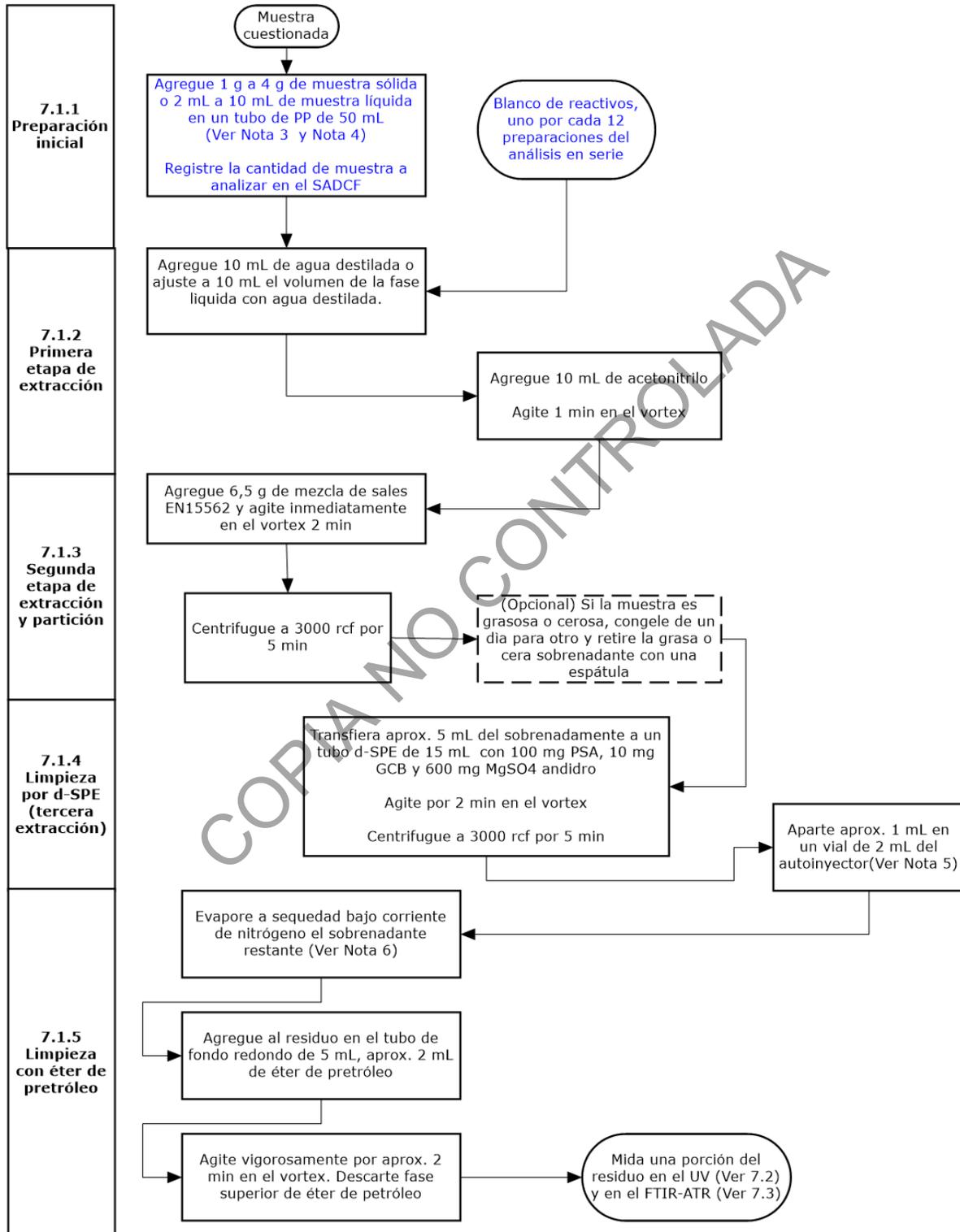
7 Procedimiento:

7.1 Limpieza y extracción:

Nota No. 2: Para formulaciones agrícolas sólidas: Proceda directamente con la determinación por UV (ver apartado 7.2) y con la determinación por FTIR-ATR (ver apartado 7.3), comparando con el material de referencia sin extracción. En caso que los resultados

3EPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 4 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR		P-DCF-ECT-QUI-066

por FTIR-ATR muestren contaminantes que no permiten la identificación espectral de forma directa, proceda con la limpieza y extracción (7.1).



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 5 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

Nota No. 3: La cantidad de muestra cuestionada puede variar. Por ejemplo, en el caso de formulaciones se toma cantidad suficiente que contenga 20 mg del ingrediente activo. Dependiendo del tamaño de la muestra (por ejemplo, un hueso o un trozo de salchichón grande) puede ser de utilidad realizar un lavado a la muestra con aprox. 10 mL de agua desionizada y aprox. 10 mL de acetonitrilo en un beaker. Posteriormente se decanta el líquido en el tubo de PP de 50 mL.

Nota No. 4: Las extracciones y limpiezas que se describen en 7.2 pueden ser escaladas, según el tamaño de las muestras, manteniendo las mismas proporciones de disolventes y resinas.

Nota No. 5: La limpieza con éter de petróleo puede llevar a la pérdida de algunos plaguicidas no incluidos en la validación de esta metodología (otros N-metilcarbamatos u organofosforados). Por lo anterior, se reserva un 1 mL del líquido sobrenadadamente para su análisis por GC/MSD. Esto es particularmente importante en caso que los resultados por UV (apartado 7.2) y principalmente FTIR-ATR (apartado 7.3) sean negativos.

Nota No. 6: Al evaporar a sequedad se pueden obtener cristales o un material viscoso.

7.2 Determinación por UV:

7.2.1 Configure el equipo para que realice la medición del espectro UV entre 210 nm y 350 nm, en el modo de barrido "Lento" (equivalente a una velocidad de barrido de 300 nm/min y un intervalo de datos de 0,50 nm), en modo "Haz doble" y aplicando la "corrección línea base".

7.2.2 Limpie la celda y ejecute la medición de la línea de fondo "background" con metanol.

7.2.3 Control negativo: agregue únicamente al tubo de vidrio de fondo redondo de 5 mL del control negativo sin matriz, aprox. 3 mL de metanol, agite en el agitador de vórtice por aprox. 1 min.

7.2.4 Mida la preparación evaporada del control negativo, de las muestras cuestionadas y del control positivo en el UV, empleando metanol como disolvente. Registre la medición de un blanco de celda entre cada medición.

Nota No. 7: El reporte del espectro del control negativo, cada muestra cuestionada y el material de referencia debe incluir el espectro del blanco de celda correspondiente.

7.2.5 Verifique que cada espectro obtenido (muestras cuestionadas y material de referencia) presente los máximos de absorción entre un valor de 0,05 uA y 1,0 uA. Para esto concentre o diluya con metanol.

7.2.6 Obtenga para cada espectro, con el software del equipo, el valor de longitud de onda para las bandas de absorción más cercanas a los valores, según se indica en el siguiente cuadro:

3EPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 6 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

Cuadro I: Bandas de absorción características de N-metilcarbamatos:

N-metilcarbamato	Longitud de onda máximos de absorción en nm/ ± 2 nm
metomilo	234
oxamilo	221
aldicarb	249
carbofurán	277
propoxur	272
carbarilo	221 y 280

7.2.7 Evalúe los resultados obtenidos con los criterios de aceptación y rechazo que se establecen en el apartado 8.

7.2.8 Registre los resultados en el SADCF, en el grupo de análisis "QTV N-metilcarbamatos por UV y FTIR-ATR" de la funcionalidad "Registro de datos y resultados de los análisis".

7.3 Determinación por FTIR-ATR:

7.3.1 Mida el sólido de la preparación de cada muestra cuestionada en el FTIR-ATR entre 525 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} realizando 32 repeticiones con una resolución de 4 cm^{-1} y aplicando la corrección ATR.

7.3.2 Mida el sólido del material de referencia directo o la preparación de extracción del material de referencia en el FTIR-ATR entre 525 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} realizando 32 repeticiones con una resolución de 4 cm^{-1} y aplicando la corrección ATR.

Nota No. 8: La comparación espectral se puede realizar tanto contra el material de referencia directo como contra el material de referencia extraído (control positivo). No obstante, en la validación de la metodología se determinó que para el oxamilo y el propoxur la comparación se realiza contra el material de referencia sometido al proceso de extracción sin matriz, pues el espectro obtenido difiere en algunas bandas.

Nota No. 9: Es posible realizar la comparación espectral contra un material de referencia de un N-metilcarbamato leído anteriormente siempre y cuando sea en el mismo FTIR y se logre demostrar la reproducibilidad de la posición de las bandas en el tiempo. Esto se logra con la evaluación del comportamiento del material de referencia de poliestireno.

7.3.3 Ejecute en el software del equipo, a los espectros obtenidos, la corrección de línea de fondo y muestre los espectros como porcentaje de transmitancia en el eje de las ordenadas.

7.3.4 Obtenga para cada espectro, con el software del equipo, el valor de número de onda para las bandas de absorción más cercanas a los valores, según se indica en el siguiente cuadro:

3EPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 7 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

Cuadro II: Bandas de absorción características de los N-metilcarbamatos incluidos en el alcance:

N-metilcarbamato	Bandas de absorción características en cm^{-1} / $\pm 4,0 \text{ cm}^{-1}$
metomilo	1705, 1598, 1326, 1246, 1093, 972, 932, 552
oxamilo	1713, 1568, 1399, 1239, 1109, 942, 909, 549
aldicarb	1715, 1625, 1251, 1231, 954, 937, 588
carbofurán	1618, 1475, 1334, 1227, 1056, 1010, 873, 791
propoxur	1603, 1456, 1281, 1194, 1041, 956, 741
carbarilo	1505, 1462, 1388, 1269, 1223, 1167, 806, 552

7.3.5 Evalúe los resultados obtenidos con los criterios de aceptación y rechazo que se establecen en el apartado 8.

7.3.6 Registre los resultados en el SADCF, en el grupo de análisis "QTV N-metilcarbamatos por UV y FTIR-ATR" de la funcionalidad "Registro de datos y resultados de los análisis".

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

Un resultado se considerará positivo por un N-metilcarbamato en la muestra cuestionada siempre y cuando se cumplan los siguientes criterios:

Cuadro III: Criterios de aceptación y rechazo de los resultados:

No.	Criterio de Aceptación	Valor Límite	Corrección Aplicable
8.1	Que el espectro ultravioleta del blanco de reactivos no presente absorción en el UV	Que no presente las bandas de absorción a la longitud de onda del analito a reportar en un valor superior a 0,05 uA. Ver longitudes de onda máximas de absorción características en el Cuadro II.	Repetir la preparación del análisis en serie.
8.2	Que el espectro ultravioleta de la preparación de la muestra cuestionada no difiera del espectro del material de referencia o preparación de éste. Específicamente se evaluará la variabilidad en la longitud de onda máxima de absorción.	Bandas de absorción ± 2 nm (ancho de banda): Ver longitudes de onda máximas de absorción características en el Cuadro I.	Si hay cristales purifique (volviendo a limpiar con éter de petróleo). Si no hay cristales envíe a GCMS.
8.3	Que el espectro infrarrojo de la preparación de la muestra cuestionada no difiera del espectro del material de referencia o preparación de éste.	Bandas de absorción características $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ (ancho de banda). Ver bandas de absorción características en el	Si hay cristales purifique (volviendo a limpiar con éter de petróleo). Si no hay cristales envíe a GCMS o discuta con el líder

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 03	PAGINA: 8 de 8
Determinación cualitativa de N-metilcarbamatos por QuEChERS – UV y FTIR	P-DCF-ECT-QUI-066	

	Específicamente se evaluará la variabilidad entre al menos 6 bandas de absorción características	Cuadro II.	técnico.
--	--	------------	----------

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

No aplica.

10 Reporte de Análisis y Resultados:

Reporte los resultados en el Dictamen Pericial como se indica en los "Resultados Predefinidos" incluidos en el grupo de análisis asociado al objeto desde la funcionalidad de "Datos y Resultados" del SADCF.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

- Utilice gabacha, lentes de seguridad y guantes desechables.
- Las formulaciones agrícolas sólidas en polvo de N-metilcarbamatos deben ser manipuladas con filtro buconasal para polvos.
- Los plaguicidas N-metilcarbamatos, son plaguicidas extremadamente tóxicos para los humanos, por lo que deben ser manipulados con guantes desechables. Se deben lavar las manos con agua y jabón ante cualquier contacto y al terminar la sesión de trabajo.

12 Simbología:

aprox.: aproximadamente

DCF: Departamento de laboratorios de Ciencias Forenses

d-SPE: extracción en fase sólida dispersiva

FTIR-ATR: espectrometría infrarrojo con accesorio de reflectancia total atenuada

GCB: carbón negro grafitizado

GC/MSD: cromatografía de gases con detector selectivo de masas

PP: polipropileno

PSA: amina primaria y secundaria

QuEChERS: técnica de extracción

SCD: solicitud de cambio documental

UV: espectrofotometría ultravioleta

13 Terminología:

No aplica.

14 Anexos:

No aplica.