

0057742ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE METILPARATION, METIOCARB, 2,4-D y DDT ADSORBIDOS EN FASE REVERSA (PLRP), COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL TRANSPORTE DE MUESTRAS DE AGUA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS ORIENTACION: QUIMICA ANALITICA PRESENTA: Q. F. B. JUAN CARLOS VAZQUEZ LIRA

DIRECTOR: DRA. LUZ ELENA VERA AVILA



MEXICO. D. F.

SEPTIEMBRE DE 1999

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

273641



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).


El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO PARA EL TEMA:**

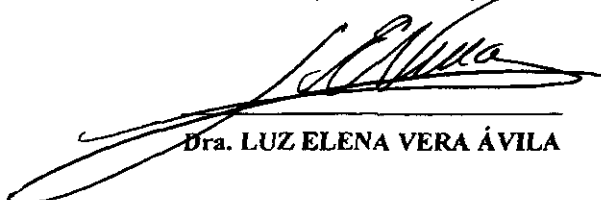
**PRESIDENTE:** Dr. RAFAEL NAVARRO GONZÁLEZ  
**PRIMER VOCAL:** M en C. FRANCISCO ROJO CALLEJAS  
**SECRETARIO:** Dra. MARTHA PATRICIA GARCÍA CAMACHO  
**PRIMER SUPLENTE:** Dra. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ  
**SEGUNDO SUPLENTE:** Dra. MARÍA DEL PILAR CAÑÍZARES MACÍAS

**El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Cromatografía de Líquidos del Departamento de Química Analítica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.**

**SUSTENTANTE**

  
\_\_\_\_\_  
Q.F.B. JUAN CARLOS VÁZQUEZ LIRA

**DIRECTOR DE TESIS**

  
\_\_\_\_\_  
Dra. LUZ ELENA VERA ÁVILA

## DEDICATORIAS

Deseo agradecer profundamente a mis padres, Juan y Amelia por el apoyo e infinita confianza que siempre han depositado en mí, por su amor tan grande y por el sacrificio inmenso para darme siempre lo mejor de cada uno.

A ti madre: gracias por darme siempre ánimos y confianza para seguir adelante, tus sacrificios han sido el ejemplo para admirarte cada día.

A ti padre: gracias por haberme encauzado siempre por el buen camino, por haberme dicho que todo se puede si lo hace uno con coraje y corazón, por tener la fortaleza de tratar de ser mejor y darme siempre lo mejor de ti.

A mi hermano Ramsés por creer en mí y por que me ha brindado todo lo que tiene con todo su gran corazón.

## DEDICATORIAS

Para la persona que con su amor y cariño incondicional quiero y amo profundamente, por que me ha brindado su confianza y admiración; pero sobre todo por que comparte conmigo un infinito amor, Luisa.

A Usted Sra. María Luisa Velasco, no tengo palabras para agradecerle su enorme confianza y apoyo en todo momento, gracias por sus consejos y por tratarme como un miembro de su familia.

A Luis Tomás: gracias por creer en mí y por brindarme tu apoyo en cualquier momento, esperando verte realizado en lo que a ti te gusta.

A Vicente Hernández: amigo mío, tu amistad ha sido siempre muy generosa, tus consejos me han ayudado en momentos difíciles, no me queda más que estar hoy y siempre agradecido contigo y estar cuando me necesites.

A Octavio Godínez: te admiro por no dejarte vencer y por salir adelante, amigo gracias por tu amistad.

A Alejandro Ruíz Cancino (†) en donde quiera que se encuentre le doy las gracias por sus sabios consejos y por contagiarme su empeño para poder realizar todos nuestros sueños.

A Elizabeth Basulto: amiga mía, nunca olvidaré tu enorme amistad y sobre todo tu gran corazón en los momentos difíciles.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca brindada durante mis estudios de Maestría y en la realización del presente proyecto.

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico PAPIIT-DGAPA por los recursos e insumos aportados en la realización del presente trabajo, el cual forma parte del proyecto IN-101397.

Se agradece a la M. en C. María del Rosario Covarrubias Herrera el apoyo brindado como asesor técnico para la realización de este trabajo.

Agradezco a la Dra. Luz Elena Vera Ávila su confianza, apoyo y gran ayuda brindada en mis estudios de Maestría y en la culminación del presente trabajo.

## INDICE

## CONTENIDO

PAG.

INDICE.....	i
NOMENCLATURA.....	iii
I. RESUMEN.....	1
II. ABSTRACT.....	3
III. INTRODUCCION.....	5
IV. OBJETIVOS.....	8
1. Objetivo general.....	8
2. Objetivos específicos.....	8
V. FUNDAMENTACION.....	10
1. Generalidades sobre plaguicidas.....	10
2. Plaguicidas en México.....	15
3. Propiedades químicas del metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.....	17
3.1 Reacciones químicas de degradación de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.....	18
3.1.1. Reacciones químicas de degradación de organofosforados (metilparatión).....	18
3.1.1.1. Hidrólisis.....	18
3.1.1.2. Oxidación.....	19
3.1.1.3. Fotodegradación.....	20
3.1.2. Reacciones químicas de degradación de carbamatos (metiocarb).....	21
3.1.2.1. Hidrólisis.....	22
3.1.2.2. Fotodescomposición.....	22
3.1.3. Reacciones químicas de degradación de herbicidas fenoxi (2,4-D).....	23
3.1.3.1. Hidrólisis.....	23
3.1.3.2. Metilación.....	24
3.1.4. Reacciones químicas de degradación de organoclorados (DDT).....	24
3.1.4.1. Declorinación.....	25
3. 2. Reacciones bioquímicas de intoxicación de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT..	27
3.2.1. Mecanismo tóxico del metilparatión.....	27
3.2.2. Mecanismo tóxico del metiocarb.....	29
3.2.3. Mecanismo tóxico del 2,4-D.....	30
3.2.4. Mecanismo tóxico del DDT.....	30
4. Impacto ambiental de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.....	31
5. Métodos de análisis de plaguicidas.....	34
5.1. Pretratamiento de la muestra acuosa.....	35
5.1.1. Extracción líquido-líquido.....	35
5.1.2. Extracción sólido-líquido.....	36
6. Principios de la extracción en fase sólida (EFS).....	36
6.1. Interacciones de superficie.....	37
6.2. Características de la adsorción en precolumnas o columnas.....	39

7. Extracción en fase sólida de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.....	42
8. Propiedades del adsorbente PLRP-S para preconcentración de plaguicidas.....	46
<b>VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>48</b>
Equipo.....	48
Accesorios.....	49
Disolventes y reactivos.....	50
<b>PRIMERA PARTE</b>	
1. Empacado de precolumnas y columna analítica.....	51
2. Determinación de las condiciones experimentales de análisis y preconcentración de los plaguicidas de estudio. (half-on-line).....	53
<b>SEGUNDA PARTE.</b>	
1. Toma de muestra del agua de la Presa Necaxa.....	59
2. Análisis químico del agua de la Presa Necaxa.....	59
2.1. Determinación de pH.....	60
2.2. Determinación de alcalinidad.....	60
2.3. Determinación de cloruros.....	61
2.4. Determinación de sulfatos.....	61
2.5. Determinación de dureza.....	62
2.6. Determinación de sólidos disueltos.....	63
<b>TERCERA PARTE.</b>	
1. Estudio de estabilidad de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT en agua grado reactivo (nanopure).....	64
2. Estudio de estabilidad de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT en agua de la Presa Necaxa con y sin utilización de agente conservador.....	65
<b>VII. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>67</b>
1. Condiciones del análisis cromatográfico.....	67
2. Determinación del volumen de carga en la precolumna PLRP-S para cada plaguicida.....	68
3. Porcentajes de recuperación con agua grado reactivo variando el tiempo y temperatura.....	71
4. Porcentajes de recuperación con agua de la presa Necaxa.....	81
5. Porcentajes de recuperación con agua de la presa Necaxa utilizando como agente conservador sulfito de sodio.....	91
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>96</b>
<b>IX. SUGERENCIAS.....</b>	<b>99</b>
<b>X. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>100</b>



## NOMENCLATURA

A	Angstroms
AcN	Acetonitrilo
C-18	Columna de fase enlazada octadecilsilano
CCA	Comisión de Cooperación Ambiental
CEE	Comunidad de Estados Europeos
CG	Cromatografía de gases
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
CICLOPAFEST	Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas
D.I.	Diámetro interno.
DAD	Detector de arreglo de diodos
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno
DCE	Detector de captura de electrones
DF	Detector de fluorescencia.
DNP	Detector de nitrógeno-fósforo
DMSO	Dimetilsulfóxido
ECH <sub>2</sub> OH	Enzima acetilcolinesterasa
EFS	Extracción en fase sólida
ELL	Extracción líquido-líquido
EM	Espectrometría de masas
EM-CP	Espectrometría de masas con cuádrupolo
EM-EM	Detector masas-masas (tandem)
EM-ES	Espectrometría de masas con electrospray.
EM-IQ	Espectrometría de masas por ionización química.
EM-TI	Espectrometría de masas con trampa iónica
EPA	Agencia de protección ambiental en EUA
ESL	Extracción sólido líquido
EtOH	Etanol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación.
DFE	Detector fotométrico de flama.
IE	Impacto electrónico
K <sub>D</sub>	Constante de distribución
LD	Límite de detección
M	Molaridad
mmol	Milimol
MeOH	Metanol
MFO	Enzimas oxidasas de función mixta.
N	Normalidad
NADPH	Dinucleótido de nicotinamida adenina reducido.
ng	Nanogramos
ODS	Octadecilsilano
OPA	o-ftalaldialdehído

---

<b>P-450</b>	<b>Pigmento microsomal</b>
<b>ppm y ppb</b>	<b>Partes por millón y partes por billón respectivamente.</b>
<b>meq</b>	<b>Miliequivalente</b>
<b>PRLP</b>	<b>Fase reversa de copolímero de poliestireno/divinilbenceno</b>
<b>RP-8 o RP-18</b>	<b>Fase reversa enlazada con 8 o 18 carbonos respectivamente</b>
<b><math>t^{1/2}</math></b>	<b>Tiempo de vida media</b>
<b>UV</b>	<b>Detector ultravioleta</b>
<b>UV-EM</b>	<b>Detector ultravioleta acoplado a espectrómetro de masas.</b>
<b>V</b>	<b>Volumen</b>

## I. RESUMEN

En el presente trabajo se presentan los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad de **metilparatión**, **metiocarb**, **2,4-D** y **DDT** adsorbidos en fase reversa (PRLP-S), como una alternativa para el transporte de muestras de agua.

Para observar la *degradación* de los plaguicidas anteriores, se manejaron variables de temperatura y tiempo en precolumnas cargadas con 25 ml de agua las cuales contenían una concentración de 3.52 ppb para el **2,4D** y de 2.64 ppb para los demás analitos. Inicialmente el estudio se realizó empleando agua grado reactivo (nanopure), posteriormente se procedió a utilizar agua procedente de la Sierra Norte del Edo. de Puebla, la cual tiene la particularidad que puede contener plaguicidas como el **metilparatión** o el **DDT**, debido a que en esta zona son utilizados por campesinos de la región. Esta agua se concentra en presas para ser utilizada como fuente generadora de electricidad, pero además debido a la práctica de la pesca en dichas presas, el monitoreo de la calidad del agua es importante para la salud humana.

El estudio realizado muestra que la fase reversa PRLP-S a temperatura ambiente, es adecuada debido a que la mayor degradación encontrada fue del 6.5% para 1 semana en el **metilparatión**, en contraste con la degradación del 87.2% del agua dopada de **metiocarb**. Por otro lado, a temperatura de 35°C la degradación mayor en precolumnas fue del 9.7% para el **metiocarb** y del 31% aproximadamente para el **DDT**. Las precolumnas cargadas y almacenadas durante 5 semanas a temperatura ambiente (15-20°C) presentaron una descomposición del 1.9%, 9.7% y 28.1% para el **DDT**, **metilparatión** y **metiocarb** respectivamente, sin embargo este último plaguicida almacenado por 5 semanas a temperatura de 4°C presenta una recuperación del 99.4%. En contraste, al utilizar un agente conservador (sulfito de sodio) en el agua dopada para simular la transportación de muestras acuosas, los resultados difieren muy poco de los obtenidos si no es utilizado.

---

Concluyendo que las precolumnas con fase reversa PLRP-S son adecuadas para transportar muestras acuosas que contengan plaguicidas del tipo del metilparatión (organofosforados), metiocarb (carbamatos), 2,4-D y DDT (organoclorados), mantenidos a una temperatura de 4°C, ó en su defecto a temperatura ambiente de 15-20°C.

## II. ABSTRACT

A study of the stability of methylparathion, methiocarb, 2,4-D and DDT adsorbed on a reversed phase (PRLP-S) is presented in this work, with a view to propose the use of precolumns or cartridges packed with this phase, as alternative means for the transport of water samples.

The degradation of the pesticides, was measured as a function of time and temperature in precolumns loaded with 25 ml of water samples spiked at 3.52 ppb of 2,4-D or at 2.64 ppb of one of the other analytes. Initially the study was carried out with spiked reagent water samples; thereafter, a natural water sample from the North Mountain Range of Puebla State was used. This water may contain pesticides as methylparathion or DDT because these compounds are used by peasants of the region. On the other hand, this water is concentrated in dams to be used for the generation of electricity but, due to the practice of fishing in such dams, it is necessary to monitor the water quality for the protection of human health.

The results from the study showed that PRLP-S is an adequate material for the transport of samples because, at room temperature, the highest degradation after one week only was 6.5% (for methylparathion). In contrast, the highest degradation in spiked water was 87.2% (for methiocarb). At temperature of 35°C, the highest degradation in precolumns were 9.7% (for methiocarb) and 31% approximately (for DDT). The loaded precolumns stored for 5 weeks at room temperature (15-20°C) presented degradations of 1.9%, 9.7% and 28.1% for the DDT, methylparathion and methiocarb, respectively; however, the latter, stored for 5 weeks in the precolumn at 4°C presented a recovery of 99.4%. On the other hand, it was observed that the addition of a preservative agent (sodium sulfite) to the spiked water sample, which has been suggested for aqueous sample transportation, does not considerably improve the stability of the pesticides in this matrix.

---

In conclusion, the precolumns packed with reversed phase PLRP-S, are well adapted for the transport of aqueous samples that contain pesticides such as methylparathion (organophosphur), methiocarb (carbamate), 2,4-D and DDT (organochlorides), if they are mantained at 4°C or at room temperature (15-20°C).

### III. INTRODUCCION.

Como consecuencia de las actividades humanas, especialmente en la producción de alimentos, penetran en los ríos, lagos, mares, entre otros, muchas miles de sustancias, orgánicas e inorgánicas, en estado gaseoso o en solución. Algunas de ellas son totalmente ajenas al medio hidrico, como son los plaguicidas dentro de los cuales encontramos grupos muy característicos tales como los organofosforados (metilparatión), carbamatos (metiocarb) y organoclorados (DDT y 2,4-D).

Los plaguicidas pueden persistir durante muchos años inicialmente en el suelo, según su naturaleza química, y así presentar mayor probabilidad de interacción con otros elementos del sistema natural que incrementan su acción. Su uso indiscriminado genera desequilibrios y círculos viciosos en los ecosistemas al provocar la desaparición de fauna benéfica y la aparición de especies que dañan los cultivos y que son resistentes a los compuestos químicos empleados. Por esta razón, se deben incorporar cada vez más productos de mayor toxicidad.

La población se afecta como consecuencia de la distribución de residuos de plaguicidas en el aire, suelo, agua, biota, en cadenas alimenticias y por ende en el organismo humano. La contaminación de alimentos se presenta por aplicación directa o por acumulación de productos químicos en las cadenas alimenticias, o a través del manejo, transporte y almacenamiento de productos químicos y alimentos.

El uso de plaguicidas contamina al agua directamente o a través de precipitaciones o canales de riego. En general los efectos en el agua superficial y subterránea se miden teniendo en cuenta además del consumo de los productos químicos, variables como topografía, características del suelo, naturaleza del principio activo, tipo de cultivo, comportamiento climático entre siembra y cosecha, manejo de envases y residuos.

En general, cuando se habla de contaminación, se entiende que es la perturbación originada en el medio ambiente por las actividades del hombre y se dice que hay contaminación cuando la concentración que han alcanzado algunas de estas sustancias puede producir algunos efectos indeseables como: la modificación cuali o cuantitativa de la estructura de las comunidades de organismos, alterar la calidad de los alimentos, disminuir o dificultar la utilización de las áreas de recreación, o en los casos más graves, provocar la muerte de aves, peces o mamíferos del medio ambiente, o poner en peligro la salud humana.

Dado el panorama, es importante un monitoreo ecológico continuo mediante técnicas analíticas adecuadas en la determinación de la calidad del agua tanto potable como la que se encuentra libre en ríos, lagos, presas, mar; sobre todo si de estas fuentes depende la salud humana porque de ellas se obtienen productos alimenticios o simplemente por que algunas de éstas son empleadas para una necesidad primaria -beber agua-.

Entre las técnicas de preparación de muestras empleadas para monitoreo ecológico de aguas, se encuentra la extracción en fase sólida (EFS) con adsorbentes diversos, tales como carbón grafitizado, fases reversas enlazadas y en los últimos años fases poliméricas entre las que destaca la PLRP-S (fase reversa de un copolímero de poliestireno/divinilbenceno). Dadas las concentraciones tan pequeñas que se pueden encontrar de plaguicidas en el agua, es necesaria una preconcentración, la cual puede ser realizada mediante la utilización de cartuchos, precolumnas, fibras o membranas que contienen los adsorbentes antes mencionados. La desorción de los analitos de interés puede llevarse a cabo directa o indirectamente, dependerá del equipo y método utilizados para el análisis cuantitativo. Entre las técnicas de separación y análisis más utilizadas destacan la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores tan finos como un espectrómetro de masas, captura de electrones, ó bien con detectores sencillos, pero no por eso inadecuados, tales como: el detector de UV, fluorescencia, etc.

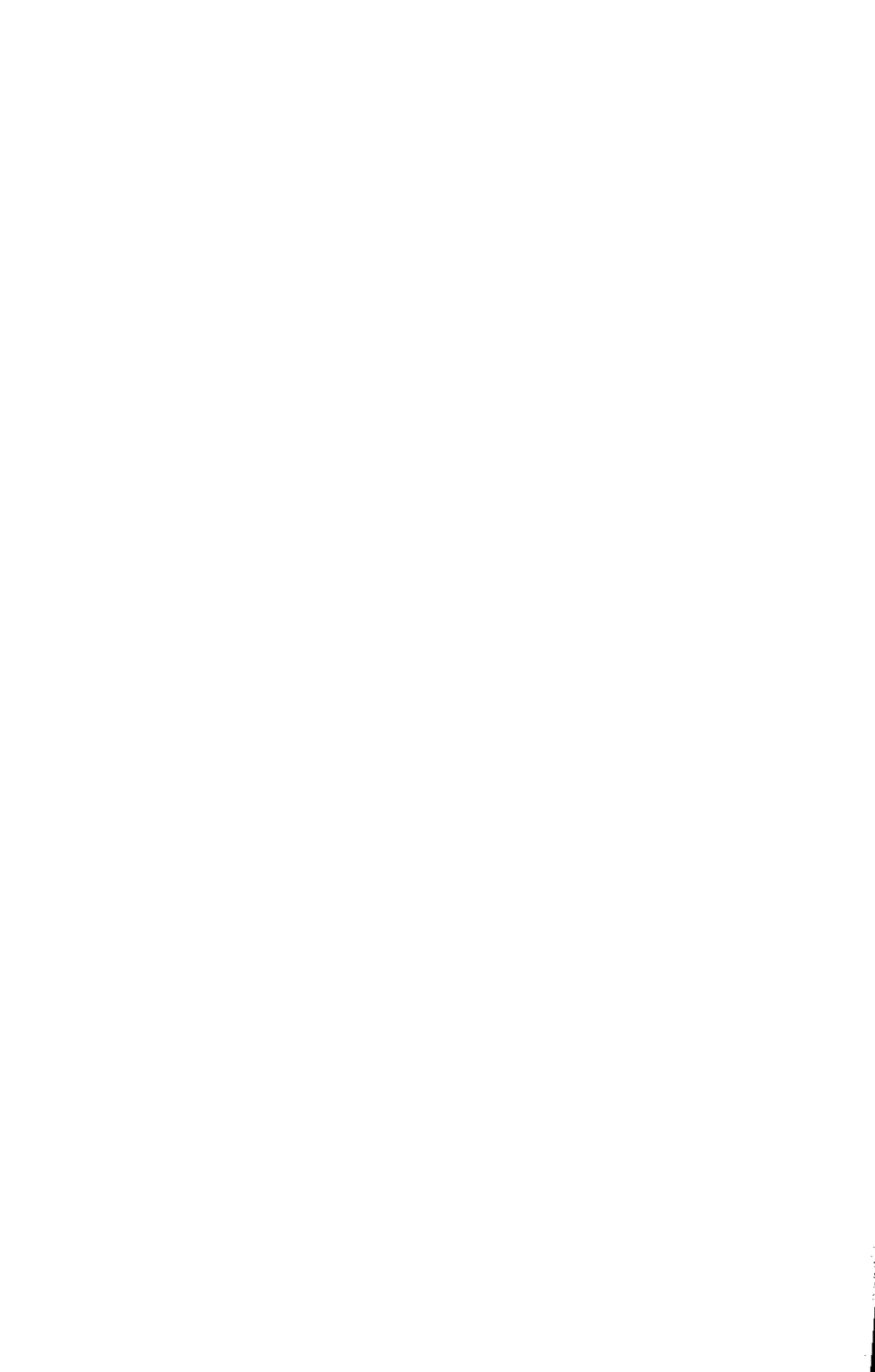


Por otra parte la EFS tiene que cumplir ciertas características para ser utilizada en el análisis de plaguicidas, siendo una de las más importante la estabilidad de los analitos de interés en el estado adsorbido. Esto es particularmente cierto cuando las etapas subsecuentes del proceso (purificación del extracto, formación de derivados, análisis cromatográfico) no se llevan a cabo inmediatamente después de la extracción.

Pocos han sido los estudios realizados de estabilidad en el estado adsorbido para plaguicidas, razón por la cual no se tienen antecedentes de estabilidad en la fase polimérica PLRP-S de plaguicidas como el metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT, los cuales son utilizados ampliamente a lo largo del territorio nacional. Además es interesante considerar que al utilizar esta fase en precolumnas o cartuchos se presenta la posibilidad de realizar la extracción y preconcentración de las muestras acuosas en el lugar mismo de muestreo, con lo que se evitaría en primer lugar la descomposición de plaguicidas en la matriz acuosa, aún con el uso de conservadores, y en segundo lugar el transporte de grandes volúmenes de agua.

Por lo tanto en el presente trabajo, se tiene como objetivo principal realizar el estudio de estabilidad de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT adsorbidos en precolumnas de fase polimérica PLRP-S. La estabilidad será evaluada en función del porciento de recuperación de los analitos de interés el cual, si es satisfactorio, será un antecedente primordial para considerar estas precolumnas como una alternativa para la transportación de muestras acuosas.

Dada la preocupación actual por el cuidado del ambiente, el proponer alternativas que faciliten la ardua tarea del transporte de muestras acuosas desde lugares remotos, podría promover un monitoreo ecológico más serio del grado de contaminación del agua (ríos, lagunas, mares etc.) por plaguicidas en nuestro país. En particular en lo que se refiere a plaguicidas que están restringidos como el DDT, el metilparatión o el 2,4-D.



## IV. OBJETIVOS.

### 1. OBJETIVO GENERAL.

Estudiar la estabilidad en el estado adsorbido de 4 plaguicidas de uso común en nuestro país (metilparatión, metiocarb 2,4-D y DDT), manejando variables de temperatura y tiempo, con el objeto de proponer el uso de precolumnas de fase reversa PLRP como un medio alternativo para el transporte de muestras de agua.

### 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar individualmente las condiciones para el análisis cromatográfico ( fase estacionaria, fase móvil, longitud de onda de detección) de cada uno de los plaguicidas estudiados.
- Determinar las condiciones para la EFS de estos compuestos a partir de muestras acuosas en las cuales su concentración se encuentra al nivel de trazas (partes por billón).
- Determinar la estabilidad de los 4 plaguicidas disueltos respecto al tiempo, cuantificando individualmente tal comportamiento en 2 diferentes matrices acuosas (agua grado reactivo y agua de presa).
- Determinar la estabilidad de los 4 plaguicidas adsorbidos respecto al tiempo, variando condiciones de temperatura (ambiente, refrigeración y 35°C) y utilizando dos diferentes matrices acuosas para la carga de las precolumnas.

- 
- Contrastar los resultados obtenidos de estabilidad utilizando un agente conservador recomendado por EPA (sulfito de sodio)
  - Evaluar las ventajas y desventajas del transporte de muestras acuosas en el estado adsorbido con respecto al transporte de la muestra total con los resultados obtenidos de estabilidad.

## V. FUNDAMENTACION

### I. GENERALIDADES SOBRE PLAGUICIDAS.

Los plaguicidas son el nombre genérico que recibe cualquier sustancia o mezcla de sustancias que es usada para controlar las plagas que atacan los cultivos o los insectos que son vectores de enfermedades. Los plaguicidas químicos sintéticos son el resultado de un proceso industrial de síntesis química y se han convertido en la forma dominante del combate a las plagas después de la segunda guerra mundial, gracias al desarrollo de la Industria química y al tipo de agricultura dependiente de estos insumos.<sup>1</sup>

El artículo 2º del Código Internacional de conducta para la Distribución y Utilización de plaguicidas (FAO 1995), define a los plaguicidas como cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de las enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causen perjuicio o que interfieran de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, desfoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y de las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte.<sup>2,3</sup>

Los plaguicidas se clasifican en una gran variedad de formas: según los organismos que controlan, su modo de acción, su composición química, según la presentación de sus formulaciones comerciales y según el uso al que se destinan.<sup>1,4-5</sup> Se clasifican según los organismos que controlan en: **Insecticidas** (insectos), **Fungicidas** (hongos), **Herbicidas**

(malezas o plantas nocivas), **Acaricidas** (ácaros), **Rodenticidas** (roedores) **Moluscocidas** (caracoles), **Nematicidas** (nematodos) y **Antibióticos de uso agrícola**;<sup>1,5</sup> por otro lado, según su modo de acción se pueden clasificar en **sistémicos** y **no sistémicos**. Los **sistémicos** se absorben en las partes vegetativas de la planta y se incorporan a la savia, transportándose con ella y metabolizándose en parte de la misma; su acción química la ejercen sobre insectos chupadores, hongos y ácaros al alimentarse de la planta; en tanto que los **no sistémicos** no se absorben por las partes vegetativas, su acción la ejercen sobre las plagas sea por contacto o por ingestión.<sup>1,6</sup>

Los plaguicidas considerados en su sentido más extenso se emplean sin formulación alguna o debidamente acondicionados en un vehículo adecuado que puede ser líquido soluble o emulsionable en agua o en presentaciones sólidas como lo son los polvos solubles e insolubles acuosos, polvos mojables y gránulos.<sup>1,5-6</sup>

Teniendo en cuenta todos los parámetros anteriores, ahora se puede vislumbrar la clasificación de plaguicidas de acuerdo a sus propiedades químicas. En la tabla 1 se ilustra la clasificación química y características principales de estas sustancias.

**Tabla 1. Principales grupos químicos de plaguicidas.**

<b>INSECTICIDAS</b>	
<b>Tipo</b>	<b>Características y ejemplos</b>
<b>Organoclorados</b>	<p>Son los pesticidas más antiguos. Incluyen algunos de los más peligrosos y persistentes en el medio ambiente. Muchos de ellos ya no se usan por problemas de toxicidad. Su efecto es rápido y perdura por <i>largo tiempo</i>.</p> <p>Modo de acción: contacto, fumigante y sistémico</p> <p><b>Ejemplos:</b> Thiodan, endosulfan, aldrin, endrin, mirex, DDT (DL<sub>50</sub> 300mg/Kg en ratas).</p>

<p><b>Organofosforados</b></p>	<p>Otra clase de pesticidas usados a partir del término de la 2da. Guerra Mundial. No son selectivos. Muchos son muy peligrosos para humanos. No son persistentes en el medio ambiente. Su efecto es rápido y pierde su efecto rápidamente. Muchos son fumigantes. Al ser usados por mucho tiempo algunas plagas como los gusanos adquieren resistencia a los pesticidas de esta clase.</p> <p>Modo de acción: sistémico y no sistémico</p> <p><b>Ejemplos:</b> Dimetoato, curacron, selecron, nuvacrn, azodrin, gusathion, MTD sumathion, metamidofos, metaforte, diazinon, disulfuton paration, malation, <b>Metilparatión (DL<sub>50</sub> 30 mg/Kg en ratas).</b></p>
<p><b>Carbamatos</b></p>	<p>Tienen un efecto similar a los organofosforados, pero son generalmente de menor toxicidad para los humanos. Pueden ser aplicados directamente a las plantas o al suelo. No son selectivos matan todo.</p> <p>Modo de acción: sistémico y no sistémico.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Baygon, lannate, sevin, carbaryl, temik, aldicarb, furadan, <b>Metiocarb (DL<sub>50</sub> 150 mg/Kg en ratas).</b></p>
<p><b>Piretroides</b></p>	<p>Esta familia tienen su origen en las flores margaritas. El Pyrethrum es un componente natural de las margaritas. A escala comercial se usan pyrethrums sintéticos que son mas fáciles de preparar y mucho más potentes que el natural. Tienen amplio efecto contra muchas plagas especialmente los gusanos. Son muy estables y tienen un largo periodo de actividad, casi de 10 días en algunos casos. Su toxicidad causa parálisis en el vector. No son muy tóxicos para humanos.</p> <p>Modo de acción : contacto.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Karate ambush, pounce, diatect, galgotrin, pyrinethra, pipermetrina</p>

<p><b>Nicotinas o Chloronicotinyl</b></p>	<p>Es una clase nueva similar a la nicotina del tabaco. Son muy efectivos para chupadores como áfidos. Son selectivos. No matan todos los insectos benéficos. No son efectivos contra los gusanos. Son de toxicidad moderada para los humanos.</p> <p>Modo de acción: sistémico</p> <p><b>Ejemplos:</b> Confidol, admire.</p>
<p><b>FUNGICIDAS</b></p>	
<p><b>Inorgánicos</b></p>	<p>Algunas sales de cobre y azufre.</p> <p>Los fungicidas elaborados a base de Cu y S son muy antiguos</p> <p>Modo de acción: contacto.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Hidóxido de cobre, sulfato de cobre, thiovit, polvo de azufre</p>
<p><b>Ditiocarbamatos</b></p>	<p>Unos de los fungicidas mas utilizados. No dejan reaccionar algunas enzimas y proteínas en la plagas.</p> <p>Modo de acción: preventivo y contacto.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Dithane, manzate, mancozeb, manex,, trimiltox , antracol.</p>
<p><b>Triazoles</b></p>	<p>Estos fungicidas impiden la utilización del ergosterol en las plagas, el cual es un componente de la membrana de los hongos.</p> <p>Su modo de acción: es sistémico, preventivo y un poco curativo.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Baycor, anvil, bayleton .</p>
<p><b>Nitrilos</b></p>	<p>Tienen modo de acción preventivo y de contacto, son muy persistentes en las plantas, más que otros fungicidas de contacto y por eso se prolonga más su efecto.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Bravo, daconil.</p>



<p><b>Acilalaninas</b></p>	<p>Estas sustancias orgánicas intervienen en la síntesis del DNA en los hongos.</p> <p>Modo de acción: sistémico, preventivo y curativo. Hay muchos problemas de resistencia de plagas a esta clase de fungicidas.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Ridomil.</p>
<p><b>HERBICIDAS</b></p>	
<p><b>Acidos fenoxi</b></p>	<p>Estos son unos de los más viejos herbicidas. Son similares a la hormona auxina que regula el crecimiento de las plantas. Su efecto es lento.</p> <p>Modo de acción: sistémico controla malezas de hoja ancha.</p> <p><b>Ejemplos:</b> 2,4,5-T, MCPA, weedone, 2,4-D (DL<sub>50</sub> 185 mg/Kg en ratas).</p>
<p><b>Acidos Benzoicos</b></p>	<p>Tienen una acción similar a los ácidos fenoxi.</p> <p>Modo de acción: sistémicos, controla malezas de hoja ancha.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Banvel, dicamba.</p>
<p><b>Triazinas</b></p>	<p>Estos herbicidas intervienen en la fotosíntesis y son selectivos.</p> <p>Modo de acción: sistémicos.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Atrazina, simazina, sencor.</p>
<p><b>Carbamatos</b></p>	<p>Estos herbicidas intervienen en la división celular.</p> <p>Modo de acción: sistémico.</p> <p><b>Ejemplos:</b> EPTC, eptam.</p>
<p><b>Amidas</b></p>	<p>Estos herbicidas no dejan crecer las hojas y puntas de crecimiento.</p> <p>Modo de acción: contacto.</p> <p><b>Ejemplos:</b> Propadox, supernox, propanil, surcopur, saturno.</p>

Los plaguicidas de amplio espectro (DDT) son biocidas y matan indiscriminadamente en el caso de los insecticidas, tanto a los insectos cuya población ha crecido y se convierten en plaga, como a otros insectos benéficos que pueden servir de controladores biológicos naturales para otras poblaciones de insectos. De este modo, el uso continuo de plaguicidas químicos agudiza el desequilibrio ecológico de un ecosistema. El uso creciente de plaguicidas químicos puede provocar también la resistencia de insectos, de plantas y de hongos. La resistencia a insecticidas es un proceso por el cual los insectos desarrollan mecanismos bioquímicos que permiten que la dosis aplicada ya no sea mortal y pueda ser transmitida genéticamente a las generaciones posteriores.<sup>7-9, 15</sup>

## 2. PLAGUICIDAS EN MEXICO.

En México el uso de plaguicidas es muy amplio. En el presente estudio se utilizaron 4 plaguicidas de uso común en el territorio nacional, los cuales pertenecen a los grupos químicos principales mencionados en la tabla I. Los plaguicidas en estudio son:

- Metilparation insecticida organofosforado.
- Metiocarb insecticida carbamato.
- 2,4-D herbicida derivado del ácido fenoxiacético
- DDT insecticida organoclorado.

En nuestro país el uso, almacenamiento, distribución, análisis, monitoreo ecológico, importación y exportación de plaguicidas están regulados principalmente por las Normas Oficiales Mexicanas y por el CICLOPAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas), apoyados en normas internacionales como las establecidas por USAEPA (Agencia de Protección al Medio Ambiente en Los Estados Unidos de América) y CEE (Comisión de Estados Europeos a través del Diario Oficial de las Comunidades Europeas). Adicionalmente se

ha formado desde 1992 la CCA ( Comisión de Cooperación Ambiental creada en 1992 por México, U.S.A. y Canadá).<sup>9-14</sup>

El DDT está prohibido en Estados Unidos y Canadá. En México sólo está autorizado para el control del paludismo por la Secretaría de Salud. Nuestro país junto con China y la India son los únicos productores de DDT a nivel mundial. La unidad industrial donde se produce el DDT se encuentra en Salamanca, Guanajuato, en las antiguas instalaciones donde se ubicaba le empresa estatal Fertimex. Actualmente la empresa productora de DDT es TEKCHEM, quien está obligada a satisfacer la demanda de la Secretaría de Salud, al ser parte de las condiciones de privatización de Fertimex.<sup>10,12</sup> Los problemas de contaminación existentes en México derivan en buena parte del uso de plaguicidas que han sido prohibidos o que están en desuso en otros países, sin embargo la utilización de tales contaminantes seguirá por un largo tiempo en nuestro país y en países en vías de desarrollo. En la tabla 2 se presentan los plaguicidas que están prohibidos o restringidos en nuestro país, cabe señalar que 3 de los 4 plaguicidas que se estudiaron figuran en esta lista.

**Tabla 2. Plaguicidas prohibidos o restringidos en México y en otros países**

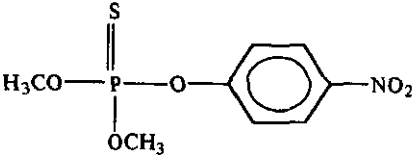
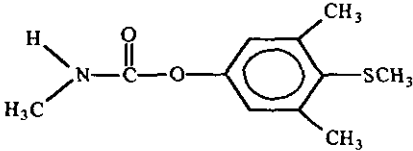
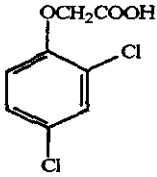
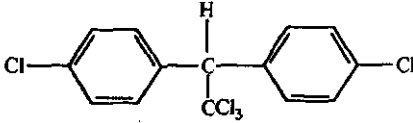
Alaclor	Metidación
Aldicarb	Metamidofos
Azinfos Metilico	Metoxicloro
Captafol	Mevinfos
Carbarilo	Monocrotofos
Captan	Ometoato
<b>DDT</b>	Paraquat
Dicofol	<b>Metilparatión</b>
Diurón	Pentaclorofenol
Endosulfán	Quintoceno
Forato	Sulprofos
Fosfamidón	Triazofos
Kadetrina	Tridemorf
Linuron	Vamidothion
Maneb	<b>2,4-D</b>

Fuente: CICLOPAFEST, EPA, CEE, CCA.

### 3. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.<sup>16-20</sup>

Las propiedades químicas de los plaguicidas en estudio se resumen en la tabla 3.

**Tabla 3. Propiedades químicas de los plaguicidas analizados en el estudio**

PLAGUICIDA	PROPIEDADES
 <p><b>Metilparatión</b> (O,O-dimetil-O-p-nitrofenil fosfoato),</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• P.M. 266 g/mol</li> <li>• Punto de fusión 36-37 °C</li> <li>• Solubilidad: aceites y grasas</li> <li>• Acción rápida</li> <li>• Sintetizado en 1952</li> <li>• Comercialmente se presenta como polvo y como mezcla con DDT y toxafeno</li> <li>• Acaricida e insecticida</li> <li>• Como estabilizante se agrega epiclorehidrina y como agente penetrante DMSO</li> </ul>
 <p><b>Metiocarb</b> [3,5-dimetil-4(metilio)fenilmetilcarbamat]</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• P.M. 229 g/mol</li> <li>• Punto de fusión. 121 °C</li> <li>• Solubilidad: acetona y alcoholes</li> <li>• Acción lenta</li> <li>• Inestable a pH alcalino</li> <li>• Muy tóxico para las abejas</li> <li>• Sintetizado en 1938.</li> <li>• Insecticida contra pulgones y moluscocida.</li> </ul>
 <p><b>2,4-D</b> (ácido 2,4-diclorofenoxiacético)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• P.M. 221 g/mol</li> <li>• pka 2.64</li> <li>• Se presenta comercialmente como sales sódicas agregándole EDTA (estabilizante).</li> <li>• Punto de fusión 140.5 °C</li> <li>• Baja tensión de vapor</li> <li>• Solubilidad en agua 3.5 g/l (como sal)</li> <li>• Máximo de absorción UV 235 y 280 nm</li> <li>• Herbicida.</li> </ul>
 <p><b>DDT</b> 4,4'-DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano]</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• P.M. 354.5 g/mol</li> <li>• Punto de fusión de la mezcla de tres isómeros 89 °C, isómero activo 109 °C</li> <li>• Inestable a pH alcalino</li> <li>• Soluble en aceites y grasas</li> <li>• Acción lenta</li> <li>• Insecticida de contacto</li> <li>• Poco sensible a rayos UV</li> <li>• Crea resistencia enzimática.</li> </ul>

### 3.1 Reacciones químicas de degradación de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.

Las propiedades físicas y químicas de los plaguicidas aunados a sus productos de degradación determinan su movilidad y persistencia en el medio ambiente. Existen cerca de 35 diferentes reacciones de transformación de plaguicidas que se agrupan en los siguientes tipos: reducción, oxidación, hidrólisis, reagrupamiento y conjugación, entre otras, las cuales suelen ocurrir dentro de los organismos receptores y en el medio donde fueron utilizados.<sup>23</sup>

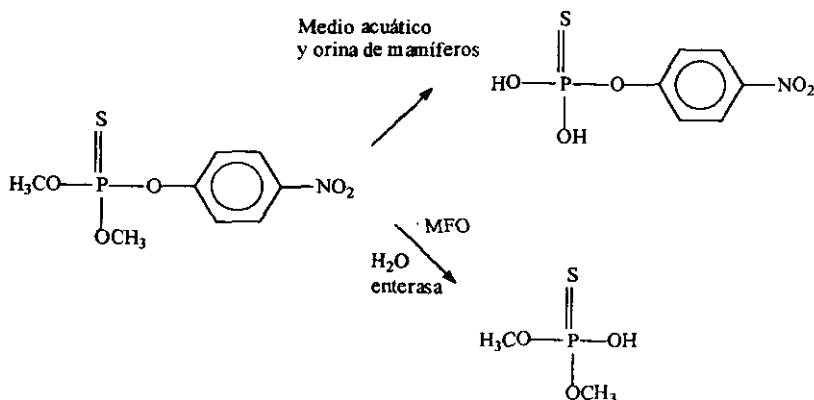
#### 3.1.1. Reacciones químicas de degradación de organofosforados (metilparatión).

##### 3.1.1.1 Hidrólisis

La hidrólisis de ésteres organofosforados se conoce también como desalquilación debido a que pueden liberarse los grupos alquilo en el mecanismo de reacción. El metilparatión sufre hidrólisis en el medio acuático debido al pH existente, sin embargo, también es hidrolizado vía enzimática por insectos, bacterias (*Pseudomona diminuta*)<sup>105</sup> y mamíferos, en estos últimos a través de unas enzimas llamadas MFO (oxidasas de función mixta), lo cual se ilustra en la figura 1.<sup>1,5</sup>

En soluciones acuosas los plaguicidas organofosforados son estables en el intervalo de pH de 1-5. Para el metilparatión en soluciones etanólicas a pH de 6 tiene un  $t^{1/2}$  de 8.4 horas,<sup>7</sup> al aumentar el pH la velocidad de hidrólisis es mayor siendo a pH 12 su  $t^{1/2}$  de tan solo 2 horas. Existe también una relación directa entre la velocidad de hidrólisis y la estructura química del organofosforado, siendo más rápida en aquellos que están constituidos por grupos alquilo más grandes.<sup>7</sup> Cabe esperar que, como contaminante de aguas superficiales, residuales y potables, el metilparatión pueda encontrarse como tal e

hidrolizado lo cual depende del uso prolongado del plaguicida y de las propiedades químicas del agua.



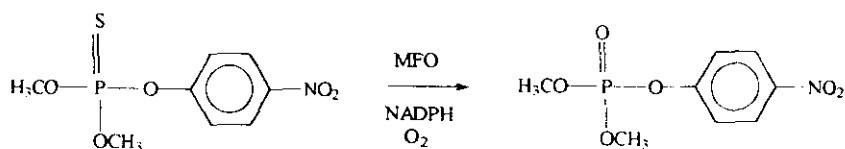
**Figura 1. Hidrólisis del metilparatión.**

Es importante señalar que la hidrólisis de organofosforados también es catalizada por iones metálicos, principalmente por iones divalentes como  $Zn^{+2} < Co^{+2} < Mg^{2+} < Ca^{2+} < Pd^{2+} < Ni^{2+} < Pb^{2+} < Cu^{2+}$ . El mecanismo de reacción se cree que se debe al carácter electrofílico que tienen estos cationes sobre el átomo de azufre u oxígeno de los organofosforados o sus metabolitos.<sup>7,22</sup>

### 3.1.1.2 Oxidación

La oxidación del metilparatión se realiza vía enzimática por las MFO en presencia de oxígeno molecular y de NADPH. Esta oxidación se realiza en el hígado de los vertebrados y en el cuerpo graso requiriendo un pigmento microsomal llamado P-450; en los insectos ocurre algo parecido en las estructuras grasas como mecanismo de

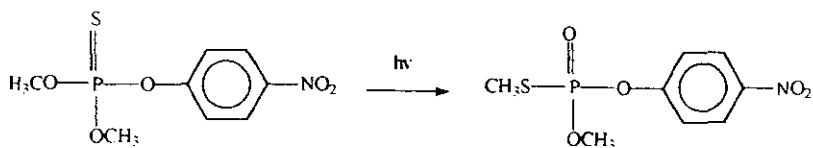
desintoxicación y resistencia al plaguicida. Cabe señalar que la oxidación del metilparatión de su estructura tio a oxo (figura 2), desencadena un efecto tóxico mucho mayor para los organismos que son atacados directamente por el plaguicida. sin embargo, es un paso hacia un mecanismo lento de desintoxicación que se llama desulfuración oxidativa.<sup>5</sup>



**Figura 2. Oxidación enzimática del metilparatión.**

### 3.1.1.3 Fotodegradación.

En el medio ambiente los organofosforados sufren reacciones fotoquímicas ya sea que se encuentren en el suelo, agua o en contacto con la planta e insectos. Las radiaciones ultravioleta desencadenan en el caso del metilparatión isomerización tiono-tiolo (figura 3.) la cual se incrementa si en el medio existe también un aumento de temperatura.<sup>7</sup>



**Figura 3. Reacción fotoquímica del metilparatión.**

### 3.1.2. Reacciones químicas de degradación de carbamatos (metiocarb).

#### 3.1.2.1 Hidrólisis

Los carbamatos son bases consideradas de fuerza media, son ionizables en soluciones acuosas y, por tanto, tienen una baja solubilidad en lípidos. Debido a estas características, se realizaron esfuerzos para modificar las moléculas base de carbamatos sintetizando derivados N-metilados, tales compuestos presentarían una mayor actividad insecticida por ser más lipofílicos.<sup>5</sup> La hidrólisis de carbamatos ocurre dentro y fuera de los organismos a los cuales afecta, dentro es por vía enzimática a través de las MFO y fuera en particular en el suelo y agua, son hidrolizados por el pH del suelo y matriz acuosa (pH ligeramente alcalino o débilmente ácido), básicamente se rompe el enlace carbamato y se forman alcoholes.<sup>5,7,19</sup> En el caso del metiocarb la hidrólisis del carbamato se ilustra en la figura 4.

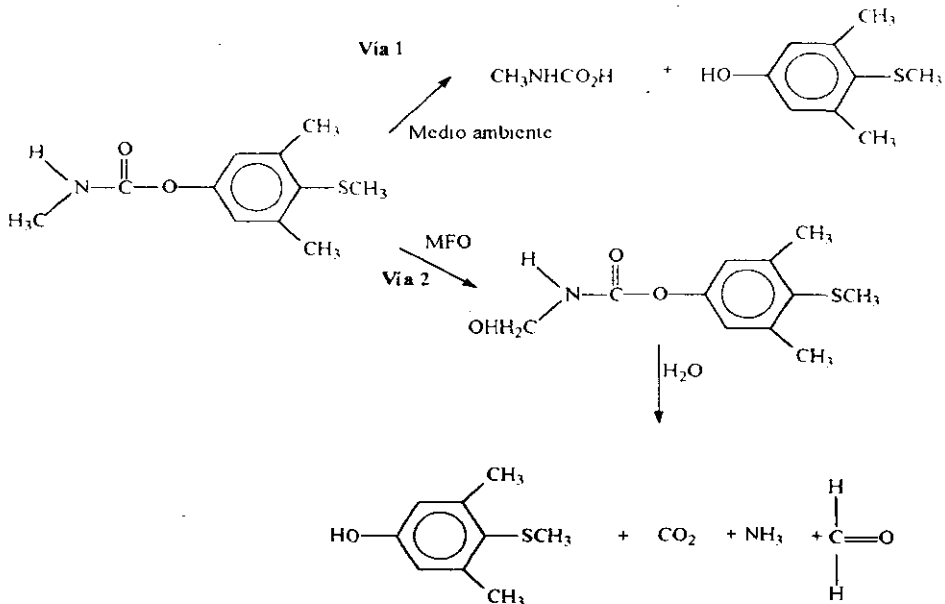
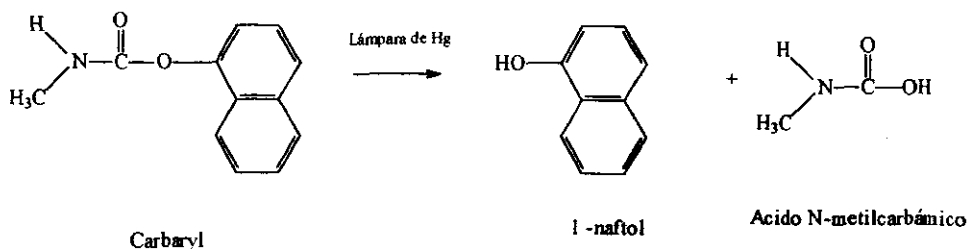


Figura 4. Hidrólisis del metiocarb.



### 3.1.2.2. Fotodescomposición.

Ciertos carbamatos son afectados por las radiaciones solares, degradándose y produciendo derivados que, sin embargo, siguen poseyendo una buena efectividad; el alcance práctico de esta descomposición ha sido estudiado por Bertrand y Barceló (1991).<sup>21</sup> La fotodescomposición por radiación ultravioleta  $> 290$  nm muchas veces va acompañada de transformación microbiana con ausencia o presencia de oxígeno, en el agua esta descomposición origina productos similares a los producidos por hidrólisis, observándose que al aumentar la temperatura la degradación es aún mayor. La presencia de ácidos húmicos en las aguas naturales acelera la fotodescomposición. Estas sustancias constituyen la clase más importante de agentes acomplejantes que abundan naturalmente, son resistentes a la degradación y se forman durante la descomposición de material vegetal; se les encuentra en forma más abundante en los sedimentos de ríos, lagos y presas y son intercambiadores de especies tales como los cationes divalentes. En el caso del carbaryl la fotodescomposición genera un producto de degradación menos polar, el 1-naftol, el cual por cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de arreglo de diodos (CLAR-DAD) es cuantificado utilizando una columna analítica C-18 con fase móvil metanol:agua 40:60 V/V a 220 nm, la reacción de degradación se ilustra en la figura 5.<sup>21</sup>



**Figura 5. Fotodescomposición del carbaryl.**

### 3.1.3. Reacciones químicas de degradación de herbicidas fenoxi (2,4-D).

Los herbicidas derivados del grupo fenoxi son en general muy estables en el medio ambiente, por lo tanto son de difícil degradación. Las reacciones que sufren son las típicas del grupo éter presente en la molécula (hidrólisis y oxidación generalmente) y las involucradas con la presencia de un halógeno, el cloruro, que en determinadas condiciones puede sufrir reacciones de dechlorinación por bacterias presentes en la matriz acuosa. Se cree que el mecanismo es muy parecido al que se mencionará más adelante para la dechlorinación del DDT.<sup>25</sup> Por otra parte, la presencia en la molécula de un grupo ácido lo hace susceptible a presentar una reacción de metilación con diazometano la cual es utilizada con fines prácticos para poder ser analizado por CG (cromatografía de gases) con detección DCE (detector de captura de electrones).<sup>26</sup> Si tal derivado no es preparado, el análisis se lleva a cabo por CLAR de fase reversa con detector UV, debido a que los ácidos fenoxiacéticos son muy polares e inestables térmicamente.<sup>27</sup>

#### 3.1.3.1. Hidrólisis.

La hidrólisis del 2,4-D se realiza generalmente en condiciones experimentales de laboratorio, se puede realizar en medio ácido o básico con soluciones 6N de  $H_2SO_4$  y o de NaOH por espacio de 2 horas a una temperatura de  $70-80^\circ C$ ,<sup>17</sup> la reacción se ilustra en la figura 6.

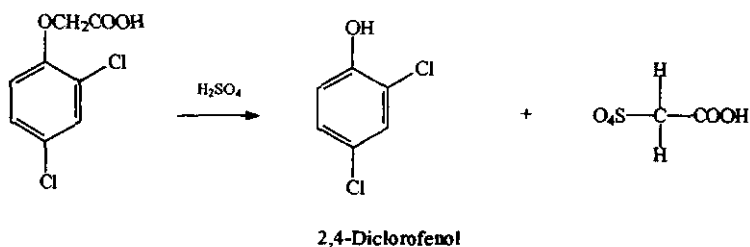


Figura 6. Hidrólisis ácida del 2,4-D.

### 3.1.3.2. Metilación.

La reacción de metilación se lleva a cabo en los ácidos fenoxi como alternativa para poder ser analizados por CG debido a que el derivado metilado es más volátil y térmicamente más estable. El derivado metilado del 2,4-D utilizando diazometano es el acetato 2,4 diclorofenoxi de metilo, la reacción se ilustra en la figura 7.<sup>17</sup>

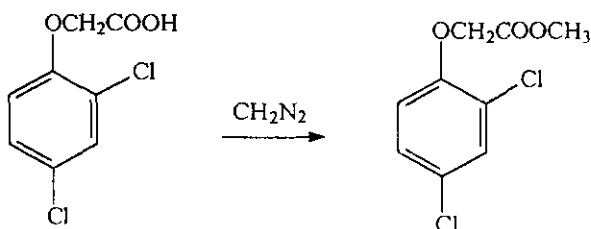


Figura 7. Reacción de metilación del 2,4-D

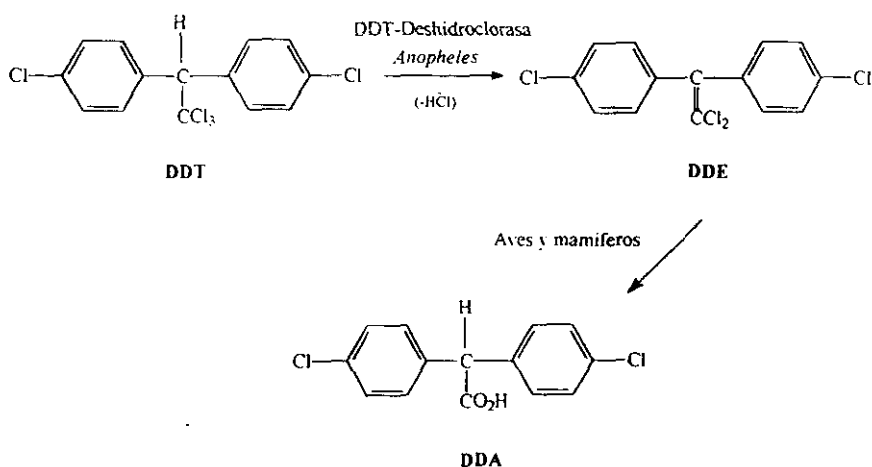
### 3.1.4. Reacciones químicas de degradación de organoclorados (DDT).

Cuando Müller descubrió las propiedades del DDT inició una revolución en el campo de los pesticidas, desencadenando la incorporación de productos derivados de síntesis orgánica a la lucha contra plagas y enfermedades, reducida hasta entonces a los productos "clásicos": nicotina, sulfato de nicotina, polvos nicotinados, pelitre y piretroides, anabasina ó nicotina rusa, normicotina, ryanodina, veratrina, etc. Todos ellos de origen vegetal y unos pocos, muy escasos, derivados de la química orgánica con aplicaciones muy limitadas. Aunque en este camino de la síntesis orgánica pueden citarse bastantes precursores, lo cierto es que el advenimiento del DDT significó el impulso decisivo hacia tal clase de derivados con los que, hasta entonces, no se había familiarizado el agricultor. Sin descartar los beneficios que trajo el uso del DDT, también es necesario mencionar que este producto es muy persistente en el medio, su degradación es lenta y los productos derivados no son destruidos fácilmente, se tiene conocimiento de persistencia de

metabolitos del DDT en aguas naturales después de haberse utilizado 20 años atrás.<sup>25</sup> Por este motivo ha sido prohibido en muchos países; en particular en México sólo es utilizado cuando existen brotes de paludismo, en el que el vector es un mosquito (*Anopheles*)<sup>9,10</sup> La reacción más importante de degradación en el medio ambiente y en los organismos sobre los cuales actúa o intoxica es la llamada declorinación,<sup>5,28</sup>

### 3.1.4.1. Declorinación.

La declorinación es el principal camino de degradación del DDT, este tipo de reacción se lleva a cabo en los insectos, aves, mamíferos<sup>5</sup> y en el medio ambiente generalmente en el agua por la presencia de Fe metálico.<sup>28</sup> En primer lugar, es importante mencionar que la declorinación en insectos es un mecanismo de defensa hacia el plaguicida el cual ha inducido generaciones de insectos con alta resistencia al DDT por la presencia de una enzima llamada DDT-deshidroclorasa. Por otro lado, las aves y mamíferos al intoxicarse por contacto, absorción o ingestión del DDT generan un derivado ácido el cual es excretado en la orina y presenta una alta solubilidad en el agua. La descomposición del DDT se ilustra en la figura 8.



**Figura 8. Declorinación del DDT en insectos, aves y mamíferos.**



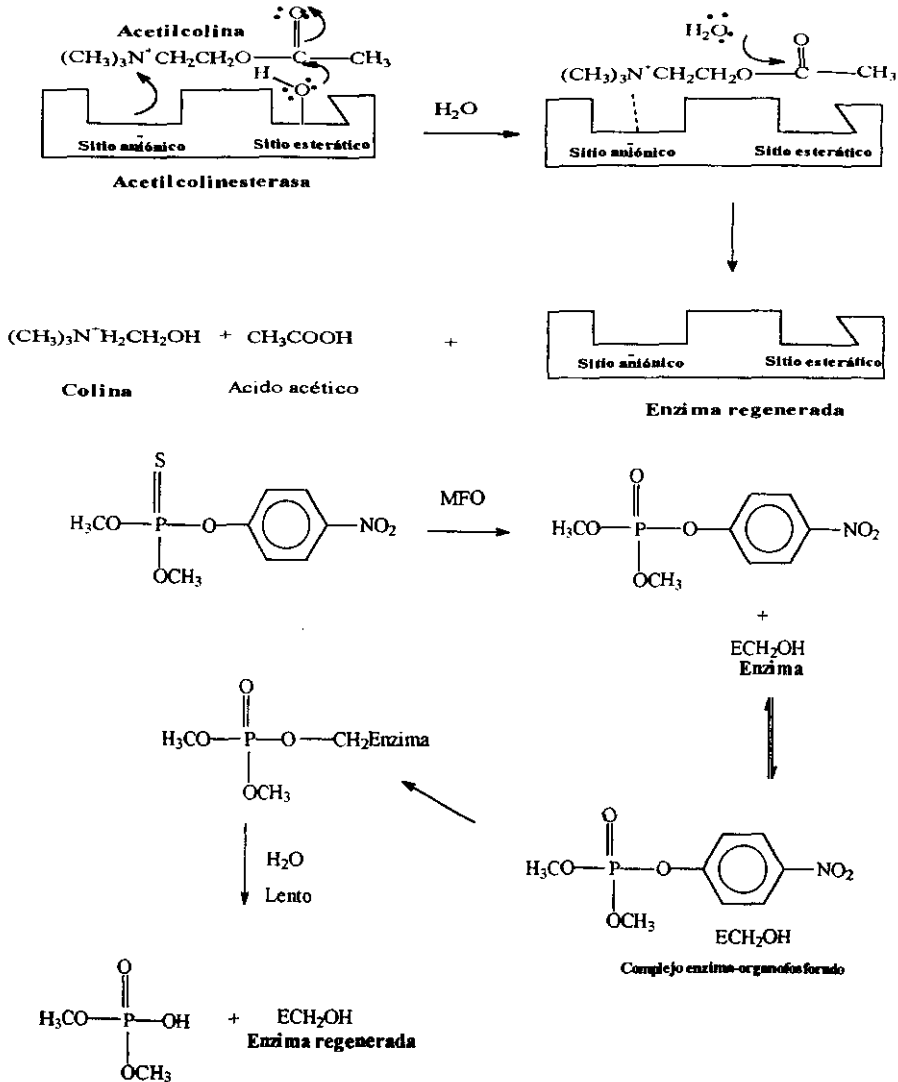
### 3.2. Reacciones bioquímicas de intoxicación de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.

En un principio fueron analizadas las reacciones metabólicas y químicas de degradación de plaguicidas, ahora se analizarán los mecanismos de acción a nivel bioquímico del metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT en los organismos a los cuales ataca incluyendo al hombre.

#### 3.2.1. Mecanismo tóxico del metilparatión.

Los plaguicidas organofosforados son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa.<sup>8,11,15,29,31</sup> Esta enzima cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, que se genera en las células nerviosas hasta colina. En la ausencia de acetilcolinesterasa, el neurotransmisor se acumula e impide la transmisión continua de *impulsos nerviosos* a través del espacio sináptico en las uniones nerviosas. Esto ocasiona la pérdida de la coordinación muscular, convulsiones y finalmente la muerte. La acetilcolinesterasa es una sustancia muy importante en insectos, aves y mamíferos; así que el mecanismo de toxicidad es el mismo en todos los géneros mencionados. El centro activo de la enzima acetilcolinesterasa contiene dos sitios reactivos: un aniónico que se une a la parte catiónica del sustrato y un sitio esterático que contiene el grupo alcohólico primario del aminoácido serina que ataca al carbono del carbonilo electrofilico del sustrato figura 10. Cuando el compuesto organofosforado mimetiza al sustrato acetilcolina y se liga al sitio esterático de la acetilcolinesterasa, inicialmente se forma un complejo enzima y fosfato, lo que da posteriormente lugar a la enzima fosforilada, siendo esta última hidrolizada lentamente para formar la enzima libre; con esto quiere decir que el mecanismo finalmente libera a la enzima, por lo que si la concentración de organofosforado no es alta el efecto tóxico no es apreciable, sin embargo a dosis altas (30mg/Kg DL<sub>50</sub> en ratas), puede ser mortal por falta de liberación de la enzima (figura 10). Cabe señalar que el sustrato oxigenado del organofosforado es más afín que el sustrato

azufrado, por lo cual tiene que suscitarse antes la reacción de desulfuración oxidativa. (mencionada en la página 19 figura 2).

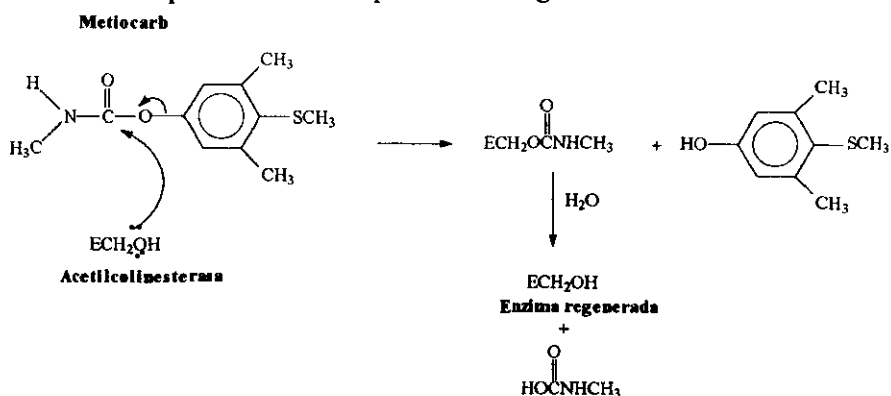


**Figura 10. Mecanismo de acción de la acetilcolinesterasa y mecanismo de acción con el metilparatión.**

En caso de una intoxicación grave en seres humanos pueden administrarse reactivadores de acetilcolinesterasa como la praloxima (Contrathion).

### 3.2.2. Mecanismo tóxico del metiocarb.

Los plaguicidas carbamatos también son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa,<sup>8,29,31</sup> solo que el mecanismo es distinto, la acumulación final de acetilcolina es el efecto tóxico esperado. La enzima sufre una carbamoilación del grupo hidroxilo primario de un residuo de serina, la especie resultante es hidrolizada lentamente en forma reversible a la enzima activa. Sin embargo, a diferencia de los compuestos organofosforados, la estructura del grupo voluminoso liberado es de importancia decisiva para determinar la actividad insecticida de los carbamatos. Generalmente la velocidad de descomposición de la enzima carbamoilada está en situación intermedia entre la enzima acetilada y la fosforilada, así que la acetilcolinesterasa es inactivada por un tiempo significativo. Pero, como sucede con los organofosforados, las propiedades anticolinesterásicas *in vitro* de los carbamatos frecuentemente guardan poca relación con su actividad insecticida *in vivo* debido a la importancia de factores adicionales tales como facilidad de penetración y metabolismo. El mecanismo inhibitorio de la acetilcolinesterasa por el metiocarb se presenta en la fig. 11.



**Figura 11. Mecanismo inhibitorio del metiocarb con la acetilcolinesterasa.**



Las intoxicaciones por N-metilcarbamatos son de menor duración que las producidas por organofosforados (12 a 24 horas como máximo), pero no son fácilmente diferenciables de éstas durante la fase crítica en ausencia de un antecedente de exposición aguda. La toxicidad aumenta tanto para organofosforados como carbamatos por el tipo de formulación empleada, siendo más peligrosas aquellas que contienen emulsificantes o tensoactivos, ya que incrementan la solubilidad en agua del pesticida y por lo tanto, los efectos adversos por ingestión de agua contaminada son mayores. Como medida terapéutica por intoxicación con carbamatos ( $DL_{50}$  150 mg/Kg en conejos) se puede administrar atropina.<sup>15</sup>

### **3.2.2. Mecanismo tóxico del 2,4-D.**

Los herbicidas como el 2,4-D son formulados con agentes tensoactivos, lo cual representa ciertas ventajas; entre las cuales está la reducción de la dosis para disminuir efectos de contaminación y costos. El uso irracional de este tipo de herbicidas provoca efectos irreversibles tanto a la planta parásita como al huésped, lo que ocasiona pérdidas enormes.<sup>6,10</sup> El mecanismo tóxico de los auxínicos o herbicidas fenoxi es la inhibición en la duplicación del DNA en las plantas, lo que influye de modo indirecto sobre la síntesis de enzimas. En general matan a las especies de hoja ancha y no dañan a las de hoja angosta (gramíneas, ciperáceas, liliáceas entre otras). La selectividad es fundamentalmente de tipo bioquímico y depende además del estado de desarrollo de la planta y de la concentración o dosis del herbicida. Las formas éster son más tóxicas y el aumento de temperatura las vuelve más peligrosas.<sup>8,15</sup> Para el 2,4-D el  $DL_{50}$  en ratones es de 185 mg/Kg.

### **3.2.2. Mecanismo tóxico del DDT.**

El DDT al ser un compuesto muy lipofílico se absorbe rápidamente en el tejido graso de animales e insectos. Con el desarrollo de formulaciones que involucran el uso de

tensoactivos, las concentraciones en agua aumentan considerablemente y si a esto se le agrega un plaguicida sinérgico como el metilparatión, las formulaciones son verdaderas bombas biocidas. El mecanismo tóxico del DDT se basa en la configuración espacial de la molécula, los 2 anillos bencénicos giran libremente alrededor de su eje y a menos que alguna configuración estérica lo impida la fijación de estos anillos en el tejido graso es muy rápida.<sup>1</sup> Otro aspecto de importancia es el efecto de la temperatura, a temperaturas bajas el DDT es más activo que a altas temperaturas, contrastando con los carbamatos, organofosforados y fenoxi que actúan mejor a altas temperaturas y que a bajas temperaturas se inhibe en muchos casos su acción plaguicida o herbicida respectivamente.<sup>1</sup>

#### **4. IMPACTO AMBIENTAL DEL metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.**

La variable demanda de plaguicidas es importante desde el punto de vista ambiental, para evaluar su impacto se deben tomar en cuenta otra serie de variables, dependiendo del elemento y del sistema natural que se esté considerando.<sup>10</sup>

En el suelo, el movimiento y la afectación de los plaguicidas son condicionados por las características intrínsecas de los productos químicos y están estrechamente ligados con las propiedades del medio. Son variables importantes, la naturaleza química del producto -clase, persistencia, degradación, etc.-, características del suelo -contenido en arcillas, materia orgánica, textura, estructura, porosidad, vegetación, humedad y pH-, condiciones climáticas en periodos de aplicación -temperatura, precipitaciones, vientos, etc.- y tipo de cultivo.<sup>13</sup>

Los plaguicidas en el suelo -dependiendo de su naturaleza química-, pueden persistir durante muchos años y así presentar mayor probabilidad de interacción con otros elementos del sistema natural que potencian su acción. El uso indiscriminado genera desequilibrios y círculos viciosos en los ecosistemas, al desaparecer fauna benéfica y

aparecer especies que dañan los cultivos y que son resistentes a los compuestos químicos empleados teniendo que incorporar productos cada vez más tóxicos al proceso.

En el agua, el uso de plaguicidas la contaminan directamente o a través de precipitaciones o canales de riego. En general los efectos en el agua superficial y subterránea se miden teniendo en cuenta además del consumo de los productos químicos, variables como topografía, características del suelo, naturaleza del compuesto químico, tipo de cultivo, comportamiento climático entre siembra y cosecha, manejo de envases y residuos.

En América Latina la contaminación del agua en zonas arroceras por el DDT ha producido mortandad de peces. Estudios en sedimentos revelan altos valores para clorados y fosforados. Estos estudios muestran también que el grado de contaminación rebasa los límites permitidos para la vida acuática; por norma internacional la concentración total de plaguicidas en agua debe estar en el intervalo de 0.4-0.6  $\mu\text{g/L}$ .<sup>10,12,13</sup>

En el aire, los plaguicidas aplicados por aspersión aérea contaminan la atmósfera. Según Rodríguez G. en su tesis de grado denominada "Impacto ambiental del uso de pesticidas Dimensión Ambiental" presentada en 1989 en Bogotá, de la aplicación de plaguicidas sólo el 53% del total se deposita en el área blanco y el 47% restante se deposita en los suelos, en aguas colindantes o se dispersa en la atmósfera hacia ecosistemas distantes, dependiendo de las condiciones climáticas.

La contaminación cruzada de alimentos con pesticidas se presenta por aplicación directa o por acumulación de químicos a través del manejo, transporte y almacenamiento. Los efectos en la población atribuibles al uso de plaguicidas responden al mismo tiempo a una serie de prácticas a nivel regional en el manejo de los productos; por ejemplo el "bandereo humano" como forma de orientar las fumigaciones por vía aérea.<sup>9,10</sup>

Las consecuencias de un uso continuo y desaprensivo de los plaguicidas, junto con la ausencia de aplicación de las normas de prevención, han determinado la aparición de una serie de problemas que al profundizarse inciden directa o indirectamente en la salud de los seres humanos. Los efectos adversos más comunes en la población se resumen en la tabla 4.

**Tabla 4. Efectos adversos de los plaguicidas en estudio sobre la salud en seres humanos.**

<b>Plaguicida</b>	<b>Efecto agudo</b>	<b>Efecto crónico</b>
Metilparatión	Vómitos , miasis	Mal de Parkinson
Metiocarb	Vómitos, dolor de cabeza	Miasis
2,4-D	Vómitos	Malformaciones teratogénicas
DDT	Cefalea, abortos, coma	Cánceres

Las causas desencadenantes del incremento en la utilización de estos tóxicos y por ende de las intoxicaciones pueden tener un origen interno a las explotaciones y a la actividad productiva o relacionarse con las condiciones sociales y económicas que las enmarcan.

Dentro de las causas podemos citar 2 orígenes:

#### **Origen macroeconómico**

- \* Caída en la rentabilidad productiva.
- \* Flexibilización laboral
- \* Necesidad de aumentar el rendimiento productivo.
- \* Retraimiento del estado en sus obligaciones de control y fiscalización.
- \* Excesiva presión comercial por parte de proveedores
- \* Incremento en la publicidad abierta y encubierta.

### **Origen interno**

- \* Masificación de insectos-plaga.
- \* Ausencia de equipo protector.
- \* Adquisición de productos prohibidos altamente tóxicos.
- \* Ausencia de capacitación en el personal contratado.
- \* Aplicación con equipos en inadecuadas condiciones de uso.
- \* Aplicación en condiciones climáticas inapropiadas (lluvia, alta temperatura, viento).
- \* Aplicación en presencia de terceros (otros trabajadores, niños, etc.)
- \* Desecho incorrecto de envases.

Desde el punto de vista ambiental, el análisis persistencia/degradabilidad de los plaguicidas es clave para análisis específicos de impacto sobre los recursos naturales, biota y población. Para entenderlo, se aborda el tema partiendo de la naturaleza química de los productos.<sup>30,31</sup>

## **5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS**

En la actualidad los análisis de contaminantes, en especial de plaguicidas presentes en muestras de agua están basados principalmente en la CG o en CLAR.

El empleo de una u otra técnica depende de las propiedades químicas y físicas de los plaguicidas, tales como volatilidad, estabilidad térmica y polaridad entre otras, sin embargo sea cual sea la técnica de análisis, se requiere generalmente un tratamiento previo de la muestra.

Dadas las concentraciones tan pequeñas y la interferencia de otros analitos, es necesario realizar una limpieza y una preconcentración antes del análisis.<sup>14-20</sup>

## 5.1. Métodos de pretratamiento de la muestra acuosa.

El tratamiento previo de la muestra puede realizarse principalmente por 2 métodos convencionales extracción líquido-líquido (ELL) y extracción sólido-líquido (ESL) ó también llamada extracción en fase sólida (EFS).

### 5.1.1 Extracción líquido-líquido.

La ELL es el método más antiguo de preparación de muestras acuosas, pero poco a poco esta siendo desplazado por EFS. La ELL puede realizarse manualmente mediante la agitación de la muestra acuosa con un disolvente orgánico inmiscible utilizando un embudo de separación<sup>58</sup> o automáticamente empleando un extractor continuo líquido-líquido, EPA recomienda para extracción continua el extractor Kuderna-Danish. Por otro lado, dependiendo de las condiciones empleadas, los extractos obtenidos pueden contener otras sustancias que interfieren en el análisis. Por ello es necesario en muchos casos realizar secuencias de extracción-reextracción bajo condiciones diferentes (particularmente de pH) con el objeto de eliminar, al menos en parte, los compuestos interferentes. La eficiencia de estas separaciones estará determinada por varios factores tales como: el coeficiente de reparto ( $K_D$ ) disolvente orgánico/agua del analito o analitos de interés y de los compuestos interferentes, las propiedades ácido-base de las diferentes especies, el pH del medio acuoso, la presencia de complejantes, etc.

La ELL presenta varias desventajas como método de pretratamiento de la muestra tales como:<sup>56,68-73</sup>

- Formación de emulsiones.<sup>88</sup>
- Manipulación de grandes volúmenes de muestra y de disolvente orgánico.
- Peligro de inflamabilidad.
- Riesgo de pérdida de los analitos por la manipulación continua de la muestra.

- Un solo disolvente generalmente no extrae cuantitativamente el soluto o solutos de interés por lo que se requerirá mezcla de disolventes o extracciones sucesivas de la matriz acuosa.
- Proceso que conlleva demasiado tiempo y a la larga un costo mayor.
- La mayor parte de las veces la ELL no es proceso automatizable.<sup>83</sup>
- Generalmente es necesario concentrar el extracto ya sea por destilación o por evaporación del o de los disolventes, lo que provocará contaminación adicional del ambiente.

### 5.1.2 Extracción sólido-líquido.

La extracción sólido-líquido llamada también extracción en fase sólida (EFS), es un procedimiento más innovador de preparación de muestras<sup>34-47</sup> La extracción en fase sólida es tan versátil que utiliza adsorbentes de todo tipo en distintas formas tales como carbón grafitizado (cartuchos),<sup>26, 48-50, 62</sup> fases reversas( cartuchos, precolumnas, discos, fibras),<sup>51</sup> fases inmunoselectivas (precolumnas y cartuchos)<sup>52-55</sup> fases a base de polímeros de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB),<sup>51</sup> o fases formadas de copolímero de poliestireno/divinilbenceno PLRP o PDB (precolumnas, gel y discos).<sup>47, 57-59</sup>

## 6. PRINCIPIOS DE LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (EFS).

El empleo de sólidos para la remoción de sustancias de medios acuosos se lleva a cabo por un proceso llamado adsorción que involucra el reparto diferencial de sustancias de la matriz acuosa hacia la superficie de un sustrato sólido. El proceso de adsorción involucra la separación de una sustancia de una fase seguida por un aumento en concentración en la superficie de otra. La fase que adsorbe se denomina **adsorbente** y la sustancia o sustancias adsorbidas se llaman **adsorbatos**.<sup>37-40</sup>

Los fenómenos de adsorción tienen muchas aplicaciones prácticas, por ejemplo el carbón grafitizado o parcialmente grafitizado (carbopack B) es utilizado como adsorbente para CG ya que soporta temperaturas superiores a 100°C, en cambio el carbón activado es empleado en la purificación de aguas residuales industriales contaminadas por sustancias orgánicas tales como los plaguicidas.<sup>38</sup>

### 6.1. Interacciones de superficie

La adsorción en una superficie es el resultado de las fuerzas de enlace de los átomos individuales, iones o moléculas de un adsorbato y la superficie del sólido. Todas estas fuerzas tienen origen en interacciones electromagnéticas. Los 4 tipos principales de adsorción son<sup>40</sup>:

- Intercambio
- Física
- Química
- Específica

La adsorción de intercambio conocida como intercambio iónico, involucra interacciones eléctricas entre las especies iónicas y los sitios de carga opuesta en la superficie del adsorbente.

La adsorción física es el resultado de la acción de fuerzas de Van der Waals, las cuales involucran fuerzas London y fuerzas electrostáticas clásicas.

La adsorción química, denominada también quimisorción, involucra una reacción entre el adsorbato y el adsorbente, resultando de esta manera un cambio en la forma



química del adsorbato. Este tipo de adsorción es más fuerte que la resultante de interacciones de tipo físico.

La adsorción específica es el resultado de la unión de moléculas de adsorbato a grupos funcionales en la superficie del adsorbente para dar como resultado interacciones específicas sin transformación del adsorbato. Este fenómeno sucede en la EFS con inmunoadsorbentes, una de las técnicas más novedosas para la preconcentración y análisis de plaguicidas.<sup>52-55</sup>

Dentro de los parámetros específicos de un adsorbato que afectan la adsorción en un sistema dado tenemos<sup>37,40</sup>:

- La concentración
- El peso molecular
- Configuración y presencia de otros adsorbatos competitivos.

Por otro lado, respecto al adsorbente los factores más importantes que determinan la capacidad de adsorción y la velocidad con que se alcanza el equilibrio son los siguientes:

- Area superficial
- Naturaleza fisicoquímica de la superficie
- Disponibilidad de la superficie para adsorber moléculas o iones.
- Forma y porosidad del adsorbente.

Cabe señalar que dentro del sistema, los factores en el proceso de adsorción son:

- Temperatura
- pH

- Fuerza iónica

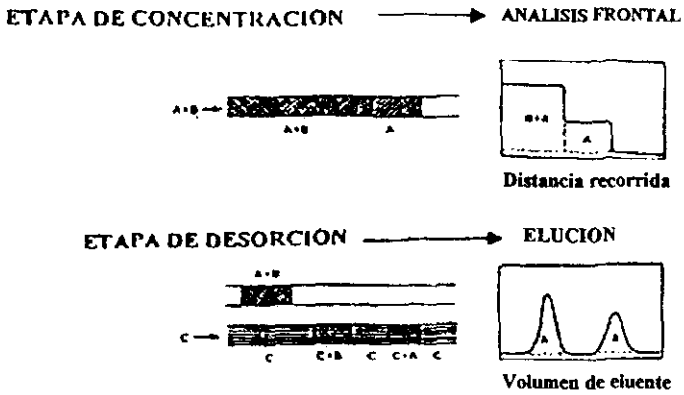
Como se puede observar existen una gran variedad de parámetros que en determinado momento es necesario controlar para poder tener un buen proceso de adsorción.

## 6.2. Características de la adsorción en columna.

Una de las técnicas más utilizadas en la extracción y preconcentración de plaguicidas a partir de medios acuosos es la que involucra un arreglo del adsorbente en columnas, el cual es conocido como de lecho fijo. Dado que la matriz acuosa con el adsorbato pasa a través del adsorbente, la adsorción de éste se lleva a cabo y un efluente libre del compuesto sale de la columna.

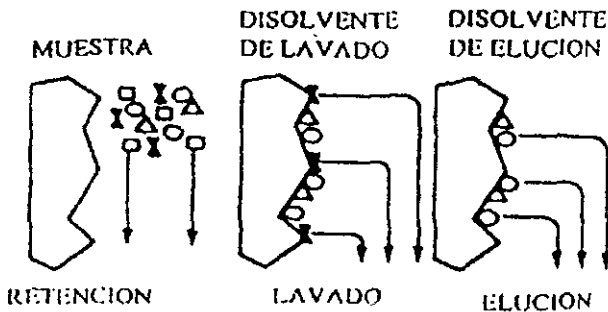
Para el diseño de un sistema de adsorción se deben tomar en cuenta tanto los factores cinéticos (velocidades de adsorción) como los aspectos termodinámicos (equilibrio para el sistema adsorbato/adsorbente/disolvente). La selección del adsorbente a utilizar para la preconcentración de los plaguicidas de interés se fundamenta en la naturaleza química de éstos de tal forma que su  $K_D$  entre el adsorbente y el agua deberá ser lo más grande posible. Al pasar la muestra de agua conteniendo los solutos de interés a través de la columna se llevará a cabo un proceso cromatográfico denominado análisis frontal, en donde los compuestos avanzarán en forma de frentes a lo largo del lecho fijo de acuerdo con su valor de  $K_D$  en el sistema particularmente propuesto (adsorbente/agua). La alimentación de muestra a la columna deberá suspenderse antes de que el frente del analito más rápido (menor  $K_D$ ) alcance el extremo final del lecho. La posterior desorción puede realizarse mediante un disolvente adecuado que permita eluir a los solutos de interés con un volumen pequeño (EFS fuera de línea), o bien mediante la fase móvil del sistema cromatográfico (EFS en línea). El proceso se ilustra en la figura 12.

**A) PROCESO CROMATOGRAFICO**



**B) DESCRIPCION DE LA EXTRACCION EN FASE SOLIDA**

¿Qué sucede sobre la superficie de la fase sólida?



**Figura 12. Descripción del proceso de preconcentración y análisis.**

La EFS y desorción de los analitos por lo tanto puede realizarse de 3 maneras :

- En línea (on-line).
- Fuera de línea (off-line).
- Semi en línea (half on-line).

En el proceso en línea las columnas de extracción son de dimensiones muy pequeñas (precolumnas de acero inoxidable) y se insertan mediante válvulas de conmutación entre el inyector y la columna analítica de un sistema CLAR. Dado que en este caso el adsorbente de EFS debe ser de diámetro de partícula pequeño, para conservar la eficiencia global del sistema, la alimentación de la muestra se realiza mediante una bomba. Una vez cargada la precolumna, la conmutación de la válvula permite el paso de la fase móvil y los solutos desorbidos son enviados directamente a la columna cromatográfica para su separación y análisis.<sup>32, 47, 57-59</sup>

El proceso fuera de línea involucra en primer lugar la etapa de extracción y preconcentración que puede realizarse en cartuchos, discos, geles o fibras que contienen al adsorbente. Luego, la desorción de los solutos se lleva a cabo con un volumen reducido de algún disolvente orgánico. Después se elimina parcial o totalmente el disolvente por evaporación, y se reconstituye el extracto en un disolvente adecuado para que pueda analizarse posteriormente por CLAR o por CG.<sup>16-20, 45, 60-64</sup>

En el proceso semi en-línea (utilizado en este trabajo) la preconcentración se lleva a cabo fuera del sistema cromatográfico en una precolumna de acero inoxidable empacada con un adsorbente de granulometría pequeña, pero la desorción de los solutos se realiza directamente hacia la columna analítica insertando la precolumna en el sistema CLAR.

### 7. Extracción en fase sólida de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT.

En la tabla 5, se presentan algunos de los métodos más recientemente desarrollados para la determinación de plaguicidas en agua por EFS-CLAR ó CG.

**Tabla 5. Métodos más recientes para preconcentración por EFS y análisis cromatográfico de organofosforados, carbamatos, clorofenoxi y organoclorados en aguas.**

ORGANOFOSFORADOS						
Compuesto estudiado	Naturaleza del agua	Método de preconcentración	Características del Método	Detector	LD	Referencia
Metilparatión y otros Organofosforados	Agua residual Filtración con Membrana de Nylon (0.45 µm)	precolumna 10 x 2 mm DI ODS 40 µm 26 ml de muestra concentración 10 ng/ml	Estudio de Estabilidad CLAR Columna 250 x 4.6 mm DI C-8 5µm (on-line)	DAD	10 ppb	24
Demeton Fenitroxon y otros	Agua Natural Filtración con Filtro de fibra de vidrio (0.45µm)	Discos de C-18 y de PLRP (500 mg) 46mm x 0.5mm de espesor (500ml de muestra)	CLAR Columna Zorbax 150 x 2.1 mm DI 5µm (off-line)	EM-ES	0.1 ppb	33
Metilparatión	Agua de río Filtrada en Millipore (0.45µm)	Precolumnas PLRP-S (25µm) (muestra de 20-200 ml) C-18 (40µm)	CLAR C-18 250 x 4.6 mm DI 5µm	DAD	0.02 ppb	47

ORGANOFOSFORADOS						
Compuesto estudiado	Naturaleza del agua	Método de preconcentración	Características del Método	Detector	LD	Referencia
Etilparatión y otros organofosforados	Agua de río Filtración con filtro de fibra de vidrio (0.45µm)	Discos de C-18 (500 mg) 47mm x 0.5mm de espesor (1-4 L de muestra)	CLAR Columna C-18 Lichospher 125 x 4.0 mm DI 4µm. (off-line)	UV Y EM	0.25 ppb	59
Metilparatión y Otros organofosforado	Agua residual Se agregó 4.5 ml de MeOH a 0.9 L de muestra para conservarla	Discos de C-18 (500 mg) 47mm x 0.5mm de espesor (250 ml de muestra)	CLAR Columna C-18 Parhisphere 125 x 4.6 mm DI 4µm. (off-line) CG Columna SPB 0.53 mm x 15 m	UV y ECD	0.3 - 27.9 <sup>7</sup> ppb	61
Paraoxon y otros	Agua Grado reactivo Nanopure	Fibras de poli dimetilsiloxano recubiertas con sílica gel fundida (10mm x 100 µm) Microextracción	CG (off-line)	EM y DNP	0.1 - 8 ppb	65
Metilparatión	Agua residual	Precolumnas C-18 Lichospher 10 µm	CLAR C-8 250 x 4.6 mm DI 5µm	EM-IQ	0.02 ppb	93

CARBAMATOS						
Compuestos estudiados	Naturaleza del agua	Método De preconcentración	Características del Método	Detector	LD	Referencia
Aldicarb Oxamyl metomyl	Agua de río Preservada con tiosulfito de sodio 0.5g/L	Cartuchos Carbograph 4 300 mg muestra 2 L	CLAR Columna C-18 5 µm 250 x 4.6 mm DI Columna Ciano 250 x 4.6 mm DI (off-line)	UV	0.25 ppb	50
Metiocarb	Agua potable	Microextracción Con fibras de polidimetilsiloxano divinilbenceno de 85 µm resina de Carbowax 50 µm	CLAR 50 x 4 mm DI C-8 3 µm (Off-line)	EM-EM	0.3 - 1.9 ppb	51
Carbaryl Carbamatos triazinas y organofosforados	Agua de río Preservada con tiosulfito de sodio 0.5g/L	Cartuchos Carbograph 4 500 mg muestra 1-4 L	CLAR C-18 Empacada 250 x 4.6 mm DI 5 µm (off-line)	EM-ES	1.1 - 10 ppb	63
Metiocarb	Agua potable y de río	Discos de C-18 (500 mg) 47mm x 0.5mm de espesor	CLAR Zorbax ODS 5µm 150 x 4.6 mm DI (off-line)	Derivación post- columna OPA DF	0.05-0.4 ppb	76 107
Aldicarb	Agua potable Agua de río Agua residual	Cartuchos (10 x 2 mm DI) PLRP-S 15-25 µm	CLAR Hypersil ODS 150 x 4.6 mm DI 5µm RP-18-Chrompack 250 x 4.6 mm DI 5µm.	DAD	0.05-0.5 ppb	92

CLOROFENOXI						
Compuestos estudiados	Naturaleza del agua	Método De preconcentración	Características del Método	Detector	LD	Referencia
2,4-D	Agua potable Preservada a pH 2	Cartucho C-18 (muestra de 500 ml)	CLAR Hypersil ODS 100 x 2.1 mm DI 5 µm (off-line)	UV DAD	0.05-0.1 <sup>*</sup> ppb	27
2,4-D DDT metilparatión	Agua residual potable Preservada con sulfito de sodio 0.2g/L	Cartuchos Carbopack B 300 mg muestra 2 L	CLAR Columna C-18 5 µm 250 x 4.6 mm DI Columna Ciano 250 x 4.6 mm DI (off-line)	UV	0.02 -0.14 <sup>*</sup> ppb	66
2,4-D	Agua potable y residual	Precolumnas PRP-1 (estireno-divilbenceno) PLRP-S (poliestireno-divinilbenceno)	CLAR Columna C-18 5 µm 250 x 4.6 mm DI (on-line)	UV	0.01 ppb	76
2,4-D	Agua de río	Precolumna Con resina PLRP y C-18	CLAR Columna C-18 5 µm 250 x 4.6 mm DI on-line y off-line	UV	0.05-0.2 <sup>*</sup> ppb	77
2,4-D	Agua potable Muestras de 50 a 100 ml	Precolumnas PRP-1 (40 mg) (estireno-divilbenceno) PLRP-S (40 mg)	CLAR Columna C-8 5 µm 250 x 4.6 mm DI (On-line)	UV-MS	0.1 ppb	79

\* El intervalo de límite de detección LD se debe a la utilización de diferentes matrices acuosas.



ORGANOCOLORADOS						
Compuesto estudiado	Naturaleza del agua	Método de preconcentración	Características del Método	Detector	LD	Referencia
DDT y atrazinas	Agua residual de río	Cartuchos C-18	CG (off-line)	EM-IE	0.05 ppb	25
DDT y otros organoclorados	Agua de río	Cartucho Gel poliestireno Divinilbenceno 7.5 x 300 x 2 mm (muestra 180 ml)	CG (off-line)	EM	0.2 ppt	64
DDT DDE	Agua potable Filtrada en fibra de vidrio	Cartuchos C-18 (360 mg)	CG Columna Chromopack 50 m x 0.32 mm DI (off-line)	DCE	0.2 ppb	86

### 8. Propiedades del adsorbente PLRP-S para preconcentración de plaguicidas.

El adsorbente conocido como PLRP-S es un copolímero de poliestireno-divinilbenceno en forma de esferas rígidas macroporosas. Comercialmente la empresa Polymer Laboratories fabrica tres tipos distintos de fase reversa polimérica, que tienen distintas aplicaciones:

- **PLRP-S 100Å** : fármacos, alimentos, nucleósidos, contaminantes (en general pequeñas moléculas).
- **PLRP-S 300Å** : péptidos
- **PLRP-S 1000Å/4000Å** : proteínas y biomoléculas.

El adsorbente utilizado en el estudio de estabilidad es el PLRP-S 100Å, el cual según reportes de eficiencia de Polymer Laboratories presenta el siguiente comportamiento de acuerdo al tamaño de partícula:

Tamaño de partícula	Eficiencia (platos/m)
• 5µm	>50,000
• 8µm	>30,000
• 10µm	>25,000
• 10-15µm	>20,000
• 15-20µm	>12,000

Este tipo de fases presentan una estructura rígida que les permite tener una alta resistencia a la presión además de ser estables en todo el intervalo de pH (1-14). El adsorbente presenta la propiedad de retener solutos en su forma neutra; sin embargo, solutos de carácter altamente hidrofóbico pueden ser retenidos muy fuertemente aun cuando se encuentren ionizados.

El mecanismo de retención para este tipo de adsorbente se ha tratado de explicar en relación a las interacciones hidrofóbicas similar al que ocurre en las fases químicamente enlazadas C-18; además debido a la presencia de anillos aromáticos en la red de la matriz polimérica, se pueden esperar fuertes interacciones  $\pi-\pi$  con los anillos aromáticos de los solutos.<sup>40</sup>

Es importante mencionar que la adsorción en este tipo de polimeros disminuye para ciertas familias de compuestos, sobre todo de naturaleza aromática, conforme el adsorbente es utilizado. Lo anterior se debe a que las partículas esféricas pueden sufrir con el uso prolongado una compactación, afortunadamente se pueden regenerar fácilmente con un tratamiento a base de disoluciones acuosas de alcoholes. Por último, cabe mencionar que este adsorbente puede ser utilizado con fases móviles constituidos por disolventes de baja constante dieléctrica como lo son el hexano, cloroformo y cloruro de metileno.

## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

En la bibliografía revisada de los últimos 10 años, no se han encontrado estudios de estabilidad de metilparatión, metiocarb, DDT y 2,4-D adsorbidos en precolumnas con fases poliméricas de poliestireno-divinilbenceno (PLRP-S), la utilización de estas fases reversas es sólo con fines de preconcentración y limpieza de muestras acuosas; razón por la cual se desarrolló el presente trabajo. En la primera parte se presenta la metodología analítica empleada para el estudio de estabilidad que involucra la puesta a punto de las condiciones cromatográficas de separación, detección y cuantificación, el establecimiento de las condiciones experimentales para la carga de las precolumnas y el empacado de las precolumnas y columna analítica.

En la segunda parte se presenta el análisis químico del agua utilizada como muestra real para el estudio de estabilidad, (la cual se tiene la sospecha que puede contener DDT o metilparatión) así como el procedimiento de la toma de muestras.

En la tercera parte se presenta el desarrollo empleado en el estudio de estabilidad de los analitos de interés, empleando como referencia agua grado reactivo y utilizando muestras de agua reales procedentes de una presa situada en la Sierra Norte de Puebla (Necaxa,). Por otro lado, también se realiza una comparación de estabilidad utilizando sulfito de sodio como agente conservador en el agua de la presa.

### EQUIPO

- Cromatógrafo de líquidos Varian modelo 5000 con capacidad para gradiente de elución binario.
- Detector UV de longitud de onda variable Thermo Separations modelo 3200

- Integrador y graficador Hewlett- Packard modelo 3396
- Sistema de empacado de columnas y precolumnas a alta presión Haskel modelo 29426.
- Bomba isocrática (A), Eldex modelo CC-30-S, para lavado de columnas y precolumnas
- Bomba isocrática (B), Eldex modelo CC-1300-S, para preconcentración de muestras
- Sistema purificador y desionizador de agua NANOPURE, Barnstead modelo 04747.
- Baño de ultrasonido para desgasificación de fases móviles Sonicor modelo SC-100.
- Potenciómetro, Corning modelo 220, equipado con electrodo combinado de vidrio calomel, Cole-Parmer modelo 60648
- Balanza analítica, Ohaus
- Sistema de calentamiento a temperatura controlada para columnas con bloque de calentamiento Eppendorf CH-30 y fuente de poder TC-50.

#### ACCESORIOS.

- Frascos de borosilicato color ámbar con tapón de plástico,
- Inyector Altex 210A con loop de 22  $\mu\text{L}$ .
- Válvula de conmutación de 6 puertas Rheodyne 7000.
- Columna de acero inoxidable de 150 x 4.6 mm (d.i.) empacada con fase reversa Hypersil ODS de 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (Thermoquest)
- Precolumnas de acero inoxidable de 20 x 2 mm (d.i.) empacada con fase polimérica PLRP-S de 10  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (Polymer Laboratories)
- Micropipeta de volumen variable de 50 a 200  $\mu\text{l}$  Scorex modelo 811/821.
- Micropipeta de volumen variable de 5 a 50  $\mu\text{l}$  Scorex modelo 811/821.
- Sistema de filtración de vidrio Millipore modelo OM027.
- Membranas de filtración de 47 mm de diámetro, con poro de 0.45  $\mu\text{m}$ , Phenomenex AFO-0504

- Papel filtro, Whatman No. 41.
- Pipetas volumétricas de 25 y 100 ml

### DISOLVENTES Y REACTIVOS.

- Acetonitrilo Grado HPLC, Prolabo
- Metanol Grado HPLC, Omnisolv.
- Acido perclórico reactivo analítico, 70-72% Aldrich Chemical Co.
- Acido nítrico 67% reactivo analítico, J.T. Baker.
- Acido clorhídrico 35-37% grado analítico, J.T. Baker.
- Hidróxido de amonio 60% grado analítico, Sigma Aldrich
- Acetona Grado analítico, Prolabo
- Etanol absoluto grado analítico, J.T. Baker
- Metilparatión (O,O-dimetil-O-p-nitrofenil fosfotioato), pureza 99.5%, Chem Service.
- Metiocarb (3,5-dimetil-4-(metiltio)fenilmetilcarbamato) pureza 99%, Chem Service
- 4,4'-DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano pureza 99.2%, Chem Service.
- 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) pureza 99%, Polyscience.
- Hidróxido de sodio en lentejas grado reactivo, J.T. Baker.
- Carbonato de calcio grado analítico 99.9%, J.T. Baker.
- Sal disódica del EDTA dihidratada grado reactivo 99.9%, Sigma Aldrich.
- Nitrato de plata 0.01N solución estandarizada, J.T. Baker.
- Murexida (indicador metalocrómico) grado reactivo, J.T. Baker
- Cloruro de sodio grado reactivo 99%, J.T. Baker
- Negro de eriocromo T (indicador metalocrómico) grado reactivo, J.T. Baker.
- Cloruro de amonio grado reactivo 99.9%, Sigma Aldrich.
- Sulfito de sodio anhidro grado reactivo 99%, J.T. Baker.
- Fenolftaleína grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Anaranjado de metilo grado reactivo, Sigma Aldrich.

- Cromato de plata 99% grado reactivo, Sigma Aldrich.
- Cloruro de bario grado reactivo 99%, Sigma Aldrich.
- Permanganato de potasio grado reactivo 99%, Sigma Aldrich.
- Carbonato de sodio 99.9% grado analítico, Sigma Aldrich.

## PRIMERA PARTE

### 1. Empacado de precolumnas y columna analítica.

Tanto las precolumnas como la columna analítica fueron empacadas en el laboratorio con ayuda del sistema de la figura 13.

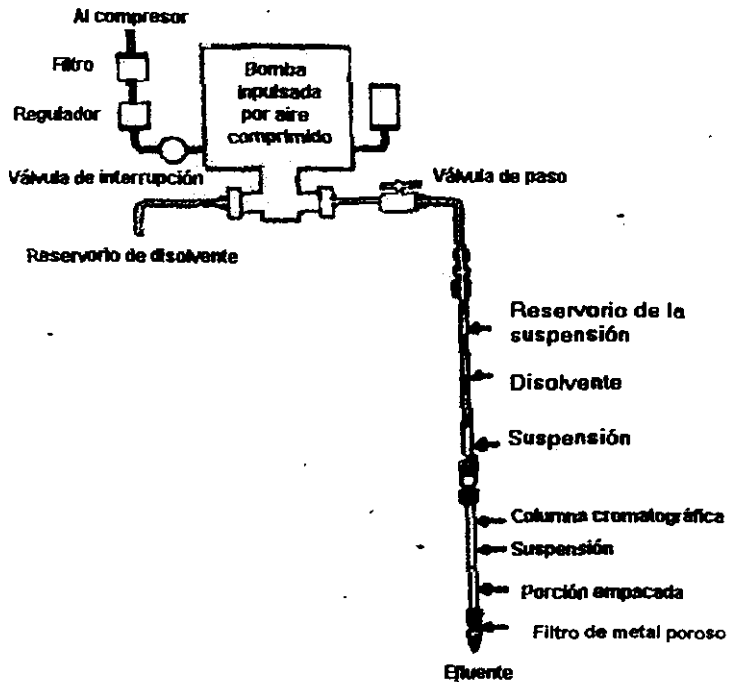


Figura 13. Sistema de empacado para precolumnas y columna analítica

Tabla 6. Condiciones para el empaqueo de precolumnas y columnas

Tipo	Fase	Suspensión	Diámetro de partícula	Tipo y volumen de disolvente de empaque	Presión (psi)
Precolumna 20 x 2 mm	PLRP-S Copolimero de poliestireno/ divinilbenceno	40 mg en 0.5 ml de AcN-H <sub>2</sub> O 20:80 v/v	10 µm	AcN-H <sub>2</sub> O 20:80 v/v 150 ml	2 golpes a 1700 psi.  1 golpe a 1500psi.
Columna 150 x 4.6 mm	Hypersil ODS	2.2 g en 20ml de solución 1:1 v/v EtOH absoluto y acetona	5 µm	AcN-H <sub>2</sub> O 20:80 v/v 70 ml	1 golpe a 7500 psi 1 golpe a 4500 psi 1 golpe a 3000 psi

La metodología de operación del empaqueo fue la siguiente: Se preparó inicialmente una suspensión de la fase reversa en el disolvente adecuado, manteniéndola en un baño de ultrasonido por aproximadamente 3 minutos, de manera simultánea se desgasificaron aproximadamente 25 ml del disolvente utilizado en la preparación de la suspensión. La columna o precolumna a empaquear se llenó con este disolvente y se conectó al reservorio de suspensión, posteriormente, la suspensión de la fase reversa se vertió rápidamente en el reservorio e inmediatamente se conectó al sistema de presión. Terminada la conexión, la presión se incrementó hasta alcanzar la establecida para el primer golpe, después se abrió la llave de paso del disolvente de empaque a presión, con lo cual la fase reversa fue proyectada a gran velocidad hacia la columna o precolumna según el caso. Después del paso de volúmenes adecuados del disolvente de empaque y de los golpes adicionales a las presiones establecidas, se paró la bomba y cuando el sistema se despresurizó se desconectó la columna o precolumna. Para finalizar, el exceso de fase reversa depositado en la parte superior de la columna o precolumna se retiró cuidadosamente con ayuda de

una espátula delgada y se colocó un filtro de acero inoxidable poroso y una tuerca para cerrarlas. Posteriormente, la columna o precolumna recién empacadas fueron sometidas a un tratamiento de lavado, el cual se detalla en la tabla 7. El lavado y activación fue realizado a un flujo de 2 ml/min con la bomba isocrática A.

**Tabla 7. Procedimiento de limpieza y activación de columna y precolumnas.**

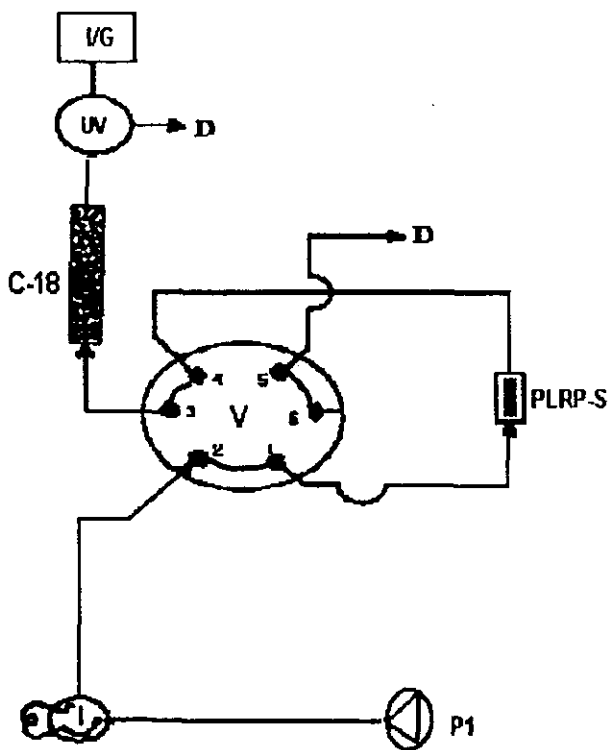
Precolumna	Columna
1. Lavado con 25 ml de agua nanopure	1. Lavado con 25 ml de agua nanopure
2. Lavado con 25 ml de etanol.	2. Lavado con 25 ml de etanol
3. Lavado con 40 ml de agua nanopure.	3. Lavado con 25 ml de agua nanopure
4. Lavado con 25 ml de NaOH pH=12	4. Lavado con 25 ml de una mezcla
5. Lavado con 20 ml de agua nanopure	AcN-H <sub>2</sub> O 80:20 v/v.
6. Lavado con 25 ml de HClO <sub>4</sub> pH=1	
7. Lavado con agua nanopure.	

## 2. Determinación de las condiciones experimentales de análisis y preconcentración de los plaguicidas en estudio. (half-on-line).

En primer lugar se buscó ajustar la retención de cada uno de los analitos a aproximadamente 10 minutos, con un flujo de 1 ml/min, y determinar la longitud de onda óptima para su detección. Para ello, la precolumna empacada con la fase polimérica se colocó entre dos puertas de una válvula de conmutación, la cual fue a su vez insertada entre el inyector y la columna analítica del sistema cromatográfico (figura 14). Con la precolumna acoplada en línea a la columna, se realizaron inyecciones individuales de los solutos variando las proporciones acetonitrilo-agua (AcN-H<sub>2</sub>O) de la fase móvil hasta obtener la retención deseada. En el caso del 2,4-D fue necesario acidificar la fase móvil para inhibir la ionización del analito y lograr una retención adecuada. Posteriormente,



utilizando la composición de fase móvil determinada para cada soluto, se realizaron inyecciones variando la longitud de onda del detector en el intervalo de 230 a 280 nm.



I= inyector P1= Bomba del cromatógrafo PLRP-S= Precolumna V= Válvula de conmutación  
 C-18= Columna analítica D=desechos UV= Detector IG = integrador

**Figura 14. Diagrama del montaje experimental. La figura ilustra la posición de la válvula para el acoplamiento en línea precolumna-columna analítica usado durante la fase de elución y análisis.**

El segundo conjunto de experimentos realizados tuvo por objeto determinar la cantidad mínima de soluto requerido para obtener una buena señal, utilizando las condiciones cromatográficas previamente determinadas para cada analito (composición de fase móvil y longitud de onda de detección). Se fijó la sensibilidad del detector a 0.1 AUFS (unidades de absorbancia a plena escala) y se inyectaron estándares de concentración progresivamente decreciente de cada plaguicida. Se encontró que para el metilparatión, metiocarb y DDT se podía obtener una buena señal con una concentración mínima de 3 ppm.

Para el 2,4-D cuya respuesta es considerablemente menor a la de los otros plaguicidas, fue necesario trabajar a una sensibilidad de 0.05 AUFS (lo que implica un poco más de ruido en la línea base) y en estas condiciones se logró detectar adecuadamente una concentración de 4 ppm.

Considerando que el volumen del rizo del inyector (previamente calibrado) es de 22  $\mu$ l, las concentraciones mínimas antes mencionadas corresponden a una masa inyectada 66 ng para el metilparatión, metiocarb y DDT y de 88 ng para el 2,4-D. Tomando como base estos datos se procedió a determinar el volumen y condiciones de carga de la precolumna.

Es importante hacer notar que la composición de la muestra que se carga en la precolumna depende fuertemente de la hidrofobicidad del analito a determinar. En efecto, entre mayor es la hidrofobicidad del soluto, mayor es su tendencia de adherirse a las paredes de los recipientes que contienen la muestra acuosa, en las membranas utilizadas para filtrarla y aún en las paredes internas de la tubería y en los filtros de la bomba empleada para cargarla en la precolumna. Por lo tanto, para disminuir los efectos hidrofóbicos y evitar pérdidas de los analitos es necesario añadir un poco de disolvente orgánico a las muestras acuosas. Sin embargo, el volumen de muestra que puede cargarse en una precolumna sin que se fuguen los analitos disminuye a medida que el contenido de

disolvente orgánico aumenta; esto significa a su vez una disminución en la sensibilidad del método analítico. Por ello, para cada compuesto de interés, es necesario optimizar cuidadosamente la composición de la muestra de carga, buscando que el contenido de disolvente orgánico sea estrictamente el mínimo indispensable para evitar pérdidas por adsorción de ese soluto.

Tomando en cuenta los puntos anteriores se realizaron las siguientes series de experimentos:

1) Para metilparatión, metiocarb y DDT se prepararon disoluciones con una concentración de 13.2 ppb del plaguicida y un contenido variable (de 3 a 10%) de metanol en agua. Se cargaron 5 ml de disolución en la precolumna, lo que equivale a 66 ng del soluto, y después ésta se colocó en el sistema cromatográfico (figura 14) y se analizó para determinar la recuperación del plaguicida.

El DDT (compuesto muy hidrofóbico) no se recuperó bien en ninguno de los experimentos anteriores, por lo que se prepararon nuevas disoluciones de la misma concentración pero con acetonitrilo (entre 5 y 30%) en vez de metanol. Se siguió el mismo procedimiento que en el caso anterior (carga y análisis de la precolumna). Para el 2,4-D (compuesto menos hidrofóbico) se prepararon disoluciones con una concentración de 17.6 ppb del soluto, a pH=1 fijado con  $\text{HClO}_4$  y con un contenido variable (de 2 a 5%) de metanol en agua. La precolumna se cargó y analizó como anteriormente.

A partir de estos experimentos se determinó la composición adecuada de la disolución de carga para cada plaguicida. El criterio seguido fue: recuperación completa ( $\cong 100\%$ ) del compuesto y mínimo contenido de disolvente orgánico en la muestra. Los resultados se resumen en la tabla 8. Adicionalmente en la tabla 9 se detallan algunas condiciones experimentales optimizadas para la etapa de EFS.

**Tabla 8. Composición de la muestra acuosa para extracción en fase sólida en precolumnas PLRP-S.**

Plaguicida	Fase de carga acuosa
Metilparatión	MeOH-H <sub>2</sub> O 8:92 v/v
Metiocarb	MeOH-H <sub>2</sub> O 4:96 v/v
2,4-D	MeOH-H <sub>2</sub> O (pH=1 con HClO <sub>4</sub> ) 4:96 v/v
DDT	AcN-H <sub>2</sub> O 25:75 v/v

**Tabla 9. Velocidades de operación y tipo de disolvente durante la etapa de EFS.**

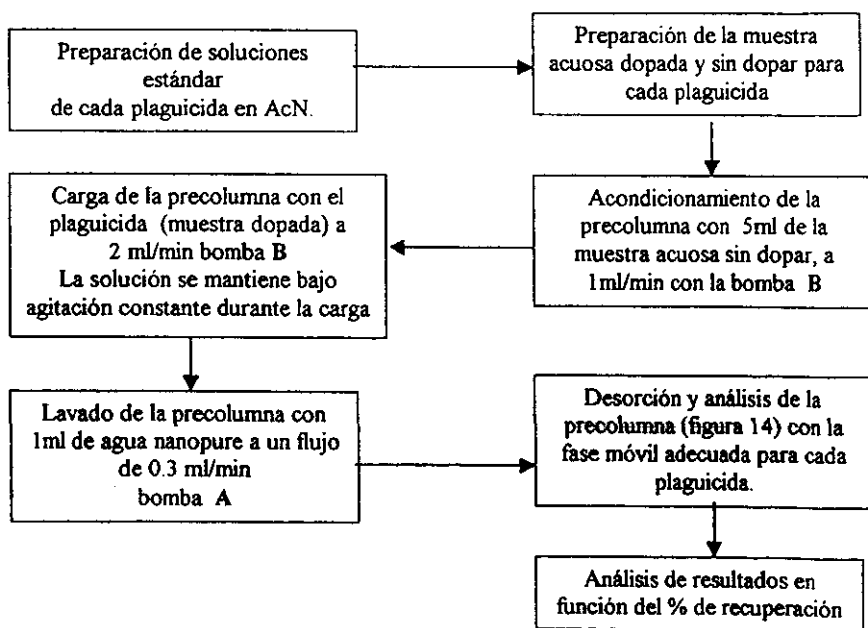
Vel. de condicionado 1 ml/min	Vel. de carga 2 ml/min	Vel. de lavado 0.3 ml/min
Con la fase de carga sin analito	Con el analito	Agua grado reactivo (nanopure)

2) Una vez definida la composición de la disolución de carga para cada plaguicida, los siguientes experimentos se abocaron a determinar el volumen de carga. Se prepararon muestras acuosas dopadas con plaguicida a una concentración tal que al cargar un volumen V de disolución, la cantidad teórica de compuesto retenido en la precolumna fuera de 66 ng para el metilparatión, metiocarb y DDT y de 88 ng para el 2,4-D. La tabla 10 reporta las concentraciones de los plaguicidas en las disoluciones preparadas para volúmenes de carga de 10, 25 y 50 ml. Al igual que los experimentos de la sección anterior, una vez cargadas las precolumnas y lavadas con agua grado reactivo se acoplaron en línea con la columna CLAR y se analizaron para determinar el porcentaje de recobro del soluto en estudio.

**Tabla 10. Concentraciones empleadas para cada plaguicida en función del volumen de carga en la precolumna.**

Plaguicida	Volumen de carga y concentración	Volumen de carga y concentración	Volumen de carga y concentración
<b>Metilparatión, Metiocarb y DDT (66 ng)</b>	10 ml 6.6 ppb	25 ml 2.64 ppb	50 ml 1.32 ppb
<b>2,4-D (88 ng)</b>	10 ml 8.8 ppb	25 ml 3.52 ppb	50ml 1.76 ppb

El procedimiento de preconcentración, lavado y desorción de las precolumnas se muestra en la figura 15.



**Figura 15. Diagrama de procedimiento para la preconcentración, lavado y desorción de plaguicidas en precolumnas de fase reversa PLRP-S.**

## 2. SEGUNDA PARTE.

### 1. Toma de muestra del agua de la Presa Necaxa.

Inicialmente se preparó el material para la toma de muestra del agua de la presa Necaxa de la siguiente manera:<sup>110</sup>

- A. Los frascos de borosilicato se lavaron primero con agua nanopure y fueron secados a temperatura ambiente.
- B. Los frascos se trataron con 20 ml de solución saturada de permanganato de potasio y después de escurridos se dejaron en contacto por espacio de 10 minutos con solución 5M de ácido sulfurico, se lavaron abundantemente con agua nanopure hasta que el agua de enjuague presentara pH neutro.

La toma de muestra fue realizada en la orilla y centro de la presa de la siguiente manera:<sup>110</sup>

Se sumergieron 2 frascos tratados previamente en la orilla y 2 en el centro de la presa, ambas muestras se juntaron y mezclaron en un frasco más grande (10 L). De esta muestra total se tomaron 4 submuestras de 1L, llenando cada frasco al ras sin dejar espacio libre, tapándolo y refrigerándolo lo antes posible a 4°C. El análisis químico fue realizado 36 hrs después de la toma de muestra. El estudio de estabilidad con esta agua se comenzó a realizar 72 hrs después.

### 2. Análisis químico del agua de la Presa Necaxa.

El agua utilizada como muestra real procede de la Sierra Norte de Puebla, y por su lugar de origen puede contener plaguicidas tales como metilparatión o DDT. Esta agua,

que se encuentra en una presa, es utilizada para la generación de electricidad, además de ser una fuente de cría de peces los cuales son consumidos por locatarios de la región.

Las determinaciones químicas y fisicoquímicas realizadas son algunas de las más comunes para la determinación de la calidad del agua, a su vez esta última tiene un impacto directo en la estabilidad de los plaguicidas en estudio.

### 2.1 Determinación de pH.<sup>110</sup>

Se utilizó un potenciómetro equipado con electrodo combinado de vidrio calomel el cual se calibró con buffers de pH 4 y de pH 7. La muestra de agua refrigerada se acondicionó a temperatura ambiente y se filtró por membranas de nylon 66 de 47 mm de diámetro, con poro de 0.45  $\mu\text{m}$ , en un sistema de filtración de vidrio Millipore. La determinación de pH se realizó por triplicado en las muestras filtradas cada vez que se iniciaba un estudio de estabilidad.

### 2.2. Determinación de alcalinidad.<sup>110</sup>

En la determinación de alcalinidad se toman en cuenta 3 tipos:

- Alcalinidad por álcalis libres ( $A_{OH}$ ).
- Alcalinidad por carbonatos ( $A_C$ ).
- Alcalinidad por bicarbonatos ( $A_B$ ).

Con una pipeta volumétrica se transfirieron 100 ml de agua previamente filtrada a un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se le agregaron 3 gotas de indicador de fenolftaleína (0.1g de indicador en 5ml de EtOH y 10 ml de agua). No se observó coloración violeta lo que implica que no existe alcalinidad  $A_{OH}$  y  $A_C$ . Adicionalmente se agregaron 3 gotas de indicador anaranjado de metilo (0.01g de indicador en 10 ml de agua) y se tituló con HCl

0.1548N, previamente estandarizado con carbonato de sodio, hasta el vire de amarillo a rojo anaranjado.

El cálculo de la alcalinidad bicarbonatada es el siguiente:

$$\text{ppm}(A_B)HCO_3^- = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times \text{pmeq}CaCO_3 \times 10^3}{V_{\text{muestra}}}$$

donde: V es el volumen gastado de titulante (ml), N HCl es la normalidad del titulante, pmeq es el peso miliequivalente del carbonato de calcio (mg/meq), V muestra es el volumen de agua analizada.

### 2.3. Determinación de cloruros.<sup>110</sup> (Método de Mohr)

Con pipeta volumétrica se transfirieron 100 ml de agua previamente filtrada a un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se le agregaron 2 gotas de ácido nítrico puro y carbonato de calcio hasta pH de 7, además se agregaron 3 gotas de solución de cromato de potasio al 10%. Se tituló con nitrato de plata 0.01N hasta la aparición de un color rojizo que persistió por espacio de 5 minutos. La expresión de resultados para una muestra de 100 ml es la siguiente:

$$\text{ppm de cloruros} = V_{AgNO_3} \times N_{AgNO_3} \times 10 \times \text{pmeq } Cl^-$$

### 2.4. Determinación de sulfatos<sup>110</sup>

Se transfirieron 250 ml de agua previamente filtrada a un matraz Erlenmeyer de 500 ml, se añadieron 15 ml de HCl al 10% y se calentó a ebullición por espacio de 5 minutos, adicionalmente se le agregaron gota a gota 50 ml de cloruro de bario al 10%, la ebullición se prolongó por 10 minutos más con agitación vigorosa, se dejó en reposo y se adicionó mas solución de cloruro de bario hasta no observar más precipitación. El líquido fue filtrado en un embudo Büchner con papel filtro Whatman No. 41 previamente pesado. El precipitado se lavó inicialmente con agua nanopure, a las aguas de lavado se les agregó



nitrate de plata observándose precipitación de cloruro de plata, el lavado continuó hasta que no se observó más precipitado del cloruro. Se lavó adicionalmente con etanol y se colocó en una estufa a 120°C hasta peso constante. El peso del precipitado se obtuvo restando el peso del papel filtro del peso final. La expresión de resultados es la siguiente para un volumen de 250 ml

$$\text{ppm SO}_4^{-2} = \text{Peso del pp (mg)} \times 4 \times \text{FG}$$

$$\text{FG} = \text{factor gravimétrico del sulfato de bario} = 0.42016$$

### 2.5. Determinación de dureza.<sup>110</sup>

Se preparó solución de EDTA disódico 0.00108M, la cual fue estandarizada con carbonato de calcio utilizando indicador NET (0.1g de indicador y 10g de cloruro de sodio grado reactivo Q.P. la mezcla se pulverizó en un mortero). El procedimiento para dureza total (Ca y Mg) fue el siguiente.

Con pipeta volumétrica se transfirieron 25 ml de agua a un matraz Erlenmeyer de 125 ml y se le adicionaron 5 ml de solución tampón de amonio-amoniaco pH=10 ( 100 ml de solución tampón 1M pH=10, que contienen 0.727 g de cloruro de amonio y 6.4 ml de amoniaco al 60%  $\delta=0.9$  g/ml). El pH de la muestra se midió con el potenciómetro resultando ser aproximadamente de 10. Se agregó una pequeña cantidad de indicador NET hasta observar un color rojo; la muestra se calentó y posteriormente se tituló con la solución estandarizada de EDTA disódico hasta el vire del indicador a azul intenso persistente. El cálculo de dureza total fue el siguiente:

$$D_T = \frac{\text{ml de EDTA} \times M \text{ EDTA} \times \text{mmol CaCO}_3 \times 10^3}{\text{ml de muestra}}$$

donde:  $D_T$  es la dureza total expresada como mg de  $\text{CaCO}_3$  por litro de muestra.  
mmol de  $\text{CaCO}_3$  se expresa (mg/mmol).

Por otra parte para la determinación de dureza cálcica, un volumen de 25 ml de muestra medidos con pipeta volumétrica se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 125 ml, la muestra se alcalinizó con 1 gota de solución de hidróxido de sodio 4 M, se adicionó indicador de murexida hasta obtener un color rosa pálido y se tituló con EDTA 0.0108M hasta el vire del indicador a un color lila. El cálculo de dureza cálcica fue el siguiente:

$$D_{Ca} = \frac{\text{ml de EDTA} \times M \text{ EDTA} \times \text{mmol CaCO}_3 \times 10^3}{\text{ml de muestra}}$$

donde:  $D_{Ca}$  es la dureza cálcica expresada como mg de  $\text{CaCO}_3$  por litro de muestra.  
mmol de  $\text{CaCO}_3$  se expresa (mg/mmol)

La dureza magnésica  $D_{Mg}$  también es expresada como mg de  $\text{CaCO}_3$  por litro de muestra, el cálculo fue:

$$D_{Mg} = D_T - D_{Ca}$$

## 2.6. Determinación de sólidos disueltos.<sup>110</sup>

Un volumen de 25 ml de muestra medidos con pipeta volumétrica se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 125 ml previamente pesado. El líquido se evaporó cuidadosamente por ebullición hasta reducirlo a un volumen mínimo, luego el matraz con el residuo se colocó en la estufa hasta desecación total y se pesó varias veces hasta peso constante. La cantidad de sólidos disueltos en ppm se calculó por:

$$\text{ppm sólidos disueltos} = (\text{peso final en g} - \text{peso inicial del matraz en g}) \times 40 \times 10^3$$

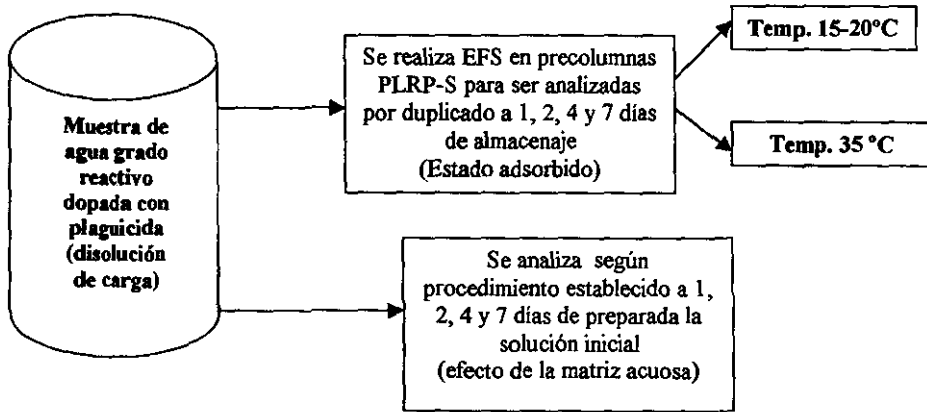
### TERCERA PARTE.

#### 1. Estudio de estabilidad de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT en agua grado reactivo (nanopure).

El estudio de estabilidad fue realizado inicialmente utilizando agua grado reactivo para preparar las muestras dopadas. De acuerdo con las condiciones experimentales determinadas el volumen de carga en las precolumnas fue de 25 ml a una concentración de 2.64 ppb para metilparatión, metiocarb y DDT y de 3.52 ppb para el 2,4-D. El procedimiento es similar al mostrado en el diagrama de flujo de la figura 15. Las diferencias son las siguientes:

- El estudio de estabilidad se realizó en función del tiempo y temperatura en el estado adsorbido; es decir, se prepararon las soluciones de carga (tabla 8) dopadas con plaguicida y se realizó la preconcentración de éstas por duplicado para ser analizadas a 1, 2, 4 y 7 días después, manteniendo las precolumnas a temperatura ambiente del laboratorio (15-20°C) o bien a temperatura de 35°C mediante un sistema de calentamiento de columnas. Paralelamente para contrastar los resultados en el estado adsorbido, se estudió la estabilidad de los plaguicidas en disolución. Para ello, una porción de la solución ya preparada para cada plaguicida se mantuvo en un matraz cerrado (únicamente a temperatura ambiente) y se analizaron muestras duplicadas de ésta, según el procedimiento establecido, a los mismos tiempos fijados para las precolumnas.
- La variable de interés es la estabilidad del plaguicida, por lo cual el valor inicial tomado como 100% es el tiempo 0. Es decir una muestra de la solución recién preparada de cada plaguicida fue analizada rápidamente y la concentración recuperada del compuesto en esta muestra (100% de estabilidad) sirvió de referencia

para los análisis posteriores, tanto del plaguicida adsorbido como en disolución. En la figura 16 se esquematiza el estudio llevado a cabo en esta sección.



**Figura 16. Diseño del estudio de estabilidad de plaguicidas.**

2. **Estudio de estabilidad de metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT en agua de la Presa Necaxa con y sin utilización de agente conservador.**
  - El estudio es realizado de manera análoga al anterior. El agua de la presa, previamente filtrada y guardada en refrigeración se dejó estabilizar a la temperatura ambiente (15-20°C) y con ella se prepararon las disoluciones de carga (tabla 8) dopadas. Una parte de éstas se cargó en precolumnas y otra parte se guardó en frascos cerrados, manteniendo ambos a temperatura ambiente. Los plaguicidas fueron analizados a tiempos de 1, 3 y 7 días por duplicado, en el estado adsorbido y en la matriz acuosa. Para observar el efecto de un agente conservador típico, el estudio anterior fue

repetido en forma idéntica pero agregando sulfito de sodio (a concentración de 40 mg/l) al agua de presa antes de doparla. En la figura 17 se resume el estudio llevado a cabo. Cabe señalar que también se realizó un estudio de estabilidad por espacio de 5 semanas únicamente en el estado adsorbido. Las precolumnas fueron almacenadas a temperatura ambiente (15-20° C) y en el caso del metiocarb también se almacenaron en el refrigerador a temperatura de 4°C.

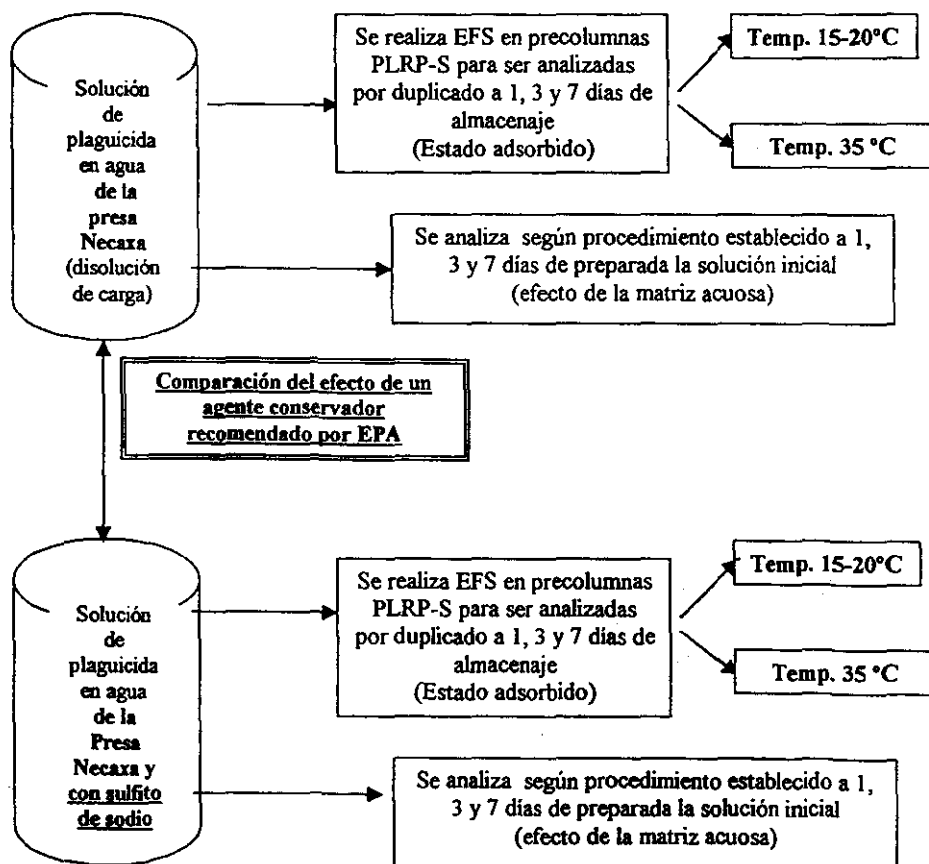


Figura 17. Estudio de estabilidad en agua de la Presa Necaxa.

## VII. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.

### 1. Condiciones del análisis cromatográfico.

Como resultado de los experimentos realizados, la tabla 11 muestra las condiciones cromatográficas que se establecieron para los estudios de estabilidad de cada plaguicida.

**Tabla 11. Condiciones cromatográficas de análisis**

Plaguicida	Tiempo de retención (min)	Fase móvil	Máximos de longitud de onda ( $\lambda$ )	Velocidad de flujo (ml/min)
Metilparatión	9.6	AcN-H <sub>2</sub> O 50:50 v/v	245, <u>272</u>	1
Metiocarb	9.8	AcN-H <sub>2</sub> O 45:55 v/v	<u>230</u> , 275	1
2,4-D	9.6	AcN-H <sub>2</sub> O (pH=1.3) 38:62 v/v	<u>230</u> , 280	1
DDT	10.2	AcN-H <sub>2</sub> O 75:25 v/v	<u>230</u>	1

\* El valor subrayado corresponde a la longitud de onda de detección utilizada en este trabajo.

El tiempo de retención se ajustó cerca de los 10 minutos para disminuir los riesgos de interferencias por algunos compuestos presentes en las muestras reales que puedan absorber a la longitud de onda de trabajo. En efecto, debido probablemente a la presencia de ácidos fúlvicos y húmicos en las aguas naturales, es común observar un gran pico de matriz que eluye al inicio del cromatograma y desciende muy lentamente, dificultando la detección y cuantificación de los compuestos de interés.<sup>66, 92</sup>

El hecho de trabajar con una fase móvil de pH 1.3 para el 2,4-D se fundamenta en trabajos anteriores<sup>106</sup> y es esencialmente debido a las propiedades ácido-base de este

analito ( $pka=2.64$ ). Para que el 2,4-D pueda ser suficientemente retenido en la columna analítica de fase reversa C-18 se requiere trabajar a pH inferior a su valor de pka.

## 2. Determinación del volumen de carga en la precolumna PLRP-S para cada plaguicida.

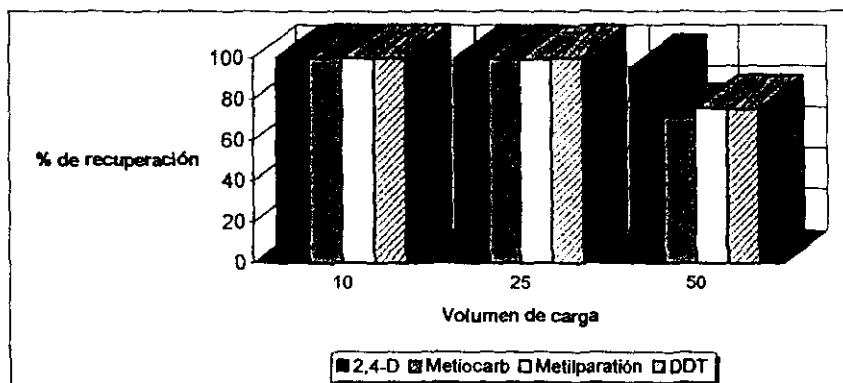
La tabla 12 muestra el porcentaje de recuperación de cada plaguicida en función del volumen de solución cargado en la precolumna. El porcentaje de recuperación se calculó por comparación del área del pico obtenido para la muestra dopada y tratada según el procedimiento establecido con el área del pico obtenido por inyección directa de un estándar. Como se explicó en la parte experimental, todos estos experimentos fueron diseñados para que, en caso de no haber pérdidas de analito durante el procedimiento, la cantidad de compuesto cargado en la precolumna, fuera igual a la cantidad de compuesto del estándar inyectado (66 ng para metilparatión, metiocarb y DDT y 88 ng para 2,4-D).

**Tabla 12. Porcentajes de recuperación en muestras de agua grado reactivo dopadas con plaguicida**

Volumen de carga (ml)	Plaguicida			
	2,4 D	Metiocarb	Metilparatión	DDT
10	100.1	100.5	100.7	100.8
	100.0	100.4	100.2	100.4
25	99.9	99.7	99.5	100.1
	99.9	99.9	99.9	100.0
50	94.8	70.9	75.6	75.1
	93.8	71.2	76.9	75.0

\*En todos los experimentos la cantidad de plaguicida teóricamente cargada en la precolumna fue de 66 ng para metilparatión, metiocarb y DDT y 88 ng para 2,4-D. La composición exacta de la solución se especifica en la tabla 8 de la sección experimental.

En la figura 18 se observa claramente que al preconcentrar un volumen de 50 ml de la correspondiente solución de carga dopada, la recuperación de los plaguicidas metilparatión, metiocarb y DDT disminuye hasta el 70-75%. Se debe descartar una sobrecarga del adsorbente con el plaguicida debido a que en el volumen cargado, ya sea 10, 25 ó 50 ml se tiene siempre una masa total de 66 ng de plaguicida. Por lo tanto, las pérdidas de analito se deben atribuir al proceso que se lleva a cabo durante la extracción y preconcentración, que es el análisis frontal.



**Figura 18.** Porcentajes de recuperación de los 4 plaguicidas en estudio, como función del volumen de carga.

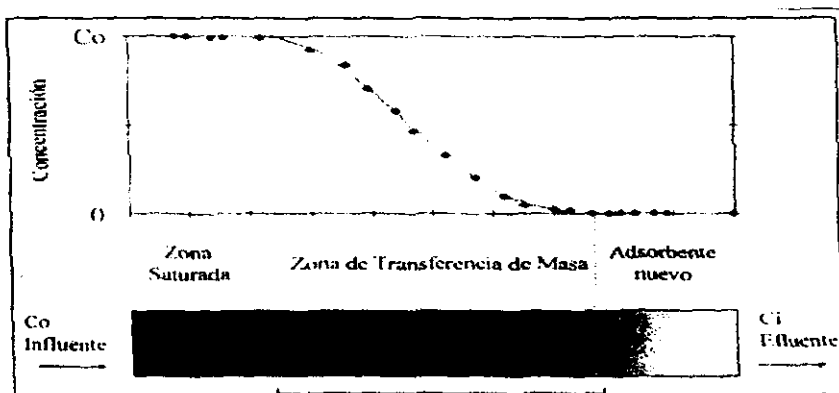
Al ir pasando la fase acuosa por la precolumna, el soluto satura progresivamente al adsorbente que se encuentra en ella generando un gradiente de concentración a lo largo de ésta, tanto en el lecho estacionario como en la fase móvil. Dependiendo de los procesos cinéticos el gradiente toma la forma de un frente más o menos extendido, como el que se muestra en la figura 19. La curva de concentración en función de la distancia presenta 3 zonas claramente definidas:



- La zona saturada donde el adsorbente y la solución de alimentación están en equilibrio, por lo que no se producen cambios de concentración en ninguna de las fases.
- La zona de transición que es donde actualmente se realiza el proceso de adsorción.
- La zona de adsorbente no utilizado.

A medida que el proceso transcurre (es decir, a medida que aumenta el volumen de solución alimentado), la zona saturada ocupa una porción más grande en la precolumna y la zona de transición avanza a lo largo de ésta hasta que su extremo anterior llega a la salida. En este momento el soluto empieza a fugarse de la precolumna.

Al volumen de influente alimentado a la precolumna hasta este punto se le llama **volumen de fuga**. Lo anterior significa que el volumen de muestra cargado en la precolumna durante el proceso de EFS deberá ser menor que el volumen de fuga, si se quiere tener una recuperación cuantitativa del analito.



**Figura 19** Análisis frontal. Curva de concentración del analito en función de la distancia a lo largo de la precolumna.

Por lo tanto, se deduce de los resultados obtenidos que, en la precolumna empleada y con la composición de las respectivas soluciones de carga, el volumen de fuga del metilparatión, metiocarb y DDT es superior a 25 ml pero inferior a 50 ml. En el caso del 2,4-D, el porcentaje de recuperación es sólo ligeramente inferior a 100. Aunque no se tienen suficientes datos para afirmarlo con certeza se podría pensar que el volumen de fuga es muy cercano a 50 ml. Por lo tanto, de acuerdo con los anteriores resultados se decidió trabajar con un volumen de 25 ml para todos los plaguicidas a las correspondientes concentraciones de 2.64 y 3.52 ppb.

### 3. Porcentajes de recuperación con agua grado reactivo variando el tiempo y temperatura.

La tabla 13 y la figura 20 muestran los resultados del estudio de estabilidad para el 2,4-D. Las muestras acuosas fueron preparadas con agua grado reactivo y dopadas a 3.52 ppb del plaguicida. Los resultados muestran la estabilidad de éste medida como % con respecto a la cantidad de compuesto recuperado al tiempo 0, al analizar la muestra recién preparada.

**Tabla 13. Porcentaje de recuperación del 2,4-D a diferentes tiempos (muestras preparadas con agua grado reactivo).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35°C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.2	100.0	100.0
	100.1	100.0	100.0
2	100.0	99.9	99.4
	99.9	99.9	99.4
4	99.9	99.7	97.1
	99.9	99.8	97.4
7	93.7	92.5	93.8
	93.6	91.8	93.7

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil Acetonitrilo-HClO<sub>4</sub> (pH 1.3) 38:62 v/v, Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.6 min. Muestra de carga: Metanol:agua acidulada (pH 1) 4:96 v/v dopada con el analito a 3.52 ppb

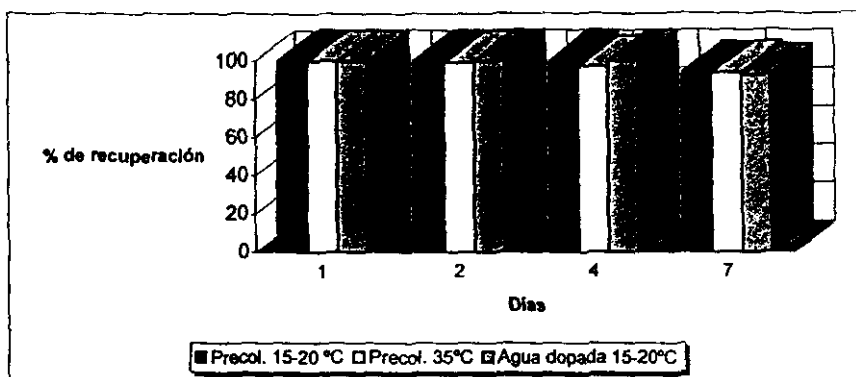


Figura 20. Porcentajes de recuperación del 2,4-D en función del tiempo (muestras preparadas con agua grado reactivo).

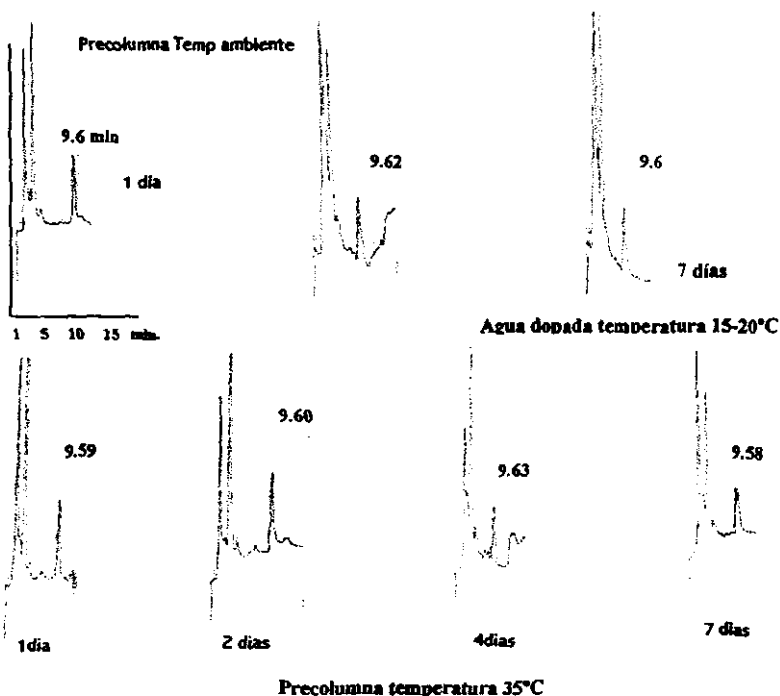


Figura 21. Cromatogramas obtenidos en el estudio de estabilidad del 2,4-D (muestras preparadas con agua grado reactivo).

De los resultados anteriores se puede observar que el 2,4-D es muy estable en la precolumna, incluso a temperatura de 35°C hasta los 7 días. Cabe mencionar que el pH de 1 empleado en la solución de carga no tiene ningún efecto sobre los resultados de estabilidad en precolumnas, ya que éstas se enjuagaron con un poco de agua pura después de ser cargadas. Los porcentajes de recuperación en la muestra acuosa dopada son cercanos al 100% aún después de 7 días, a pesar de la fuerte acidez de la disolución. Esto indica una muy buena resistencia del herbicida a la hidrólisis ácida y es congruente con los datos reportados de estabilidad en la literatura<sup>1, 101</sup> acerca de su gran persistencia en las aguas superficiales (ligeramente ácidas, pH 5-6).

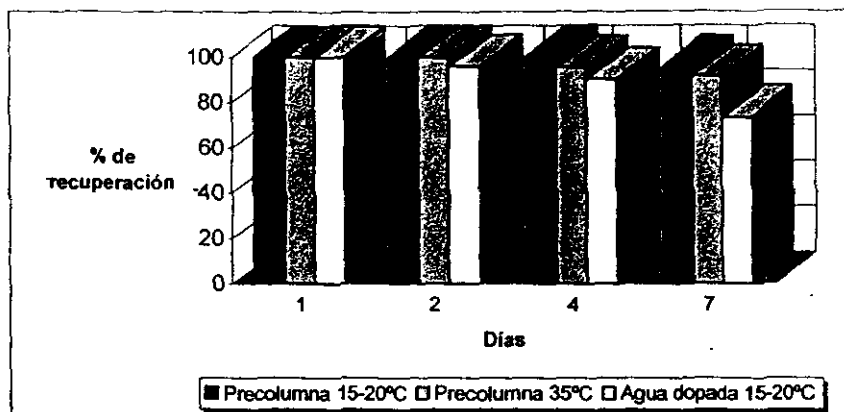
Los resultados del estudio de estabilidad para el metiocarb se presentan en la tabla 14 y figura 22

**Tabla 14. Porcentaje de recuperación del metiocarb a diferentes tiempos (muestras preparadas con agua grado reactivo).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.1	100.2	100.0
	100.2	100.1	100.0
2	100.0	95.8	99.8
	100.0	95.3	99.6
4	99.9	89.8	95.5
	99.9	90.0	94.7
7	95.8	73.1	91.4
	95.4	73.1	91.4

Condiciones: Columna (150 x 4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 45:55 v/v, Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.7 min. Muestra de carga: Metanol:agua 4:96 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb

Cabe hacer notar que la disolución acuosa dopada con el plaguicida no contenía ningún ácido o base, por lo que la evidente hidrólisis del metiocarb se produce aún en medios neutros.



**Figura 22. Porcentajes de recuperación del metiocarb en función del tiempo (muestras preparadas con agua grado reactivo).**

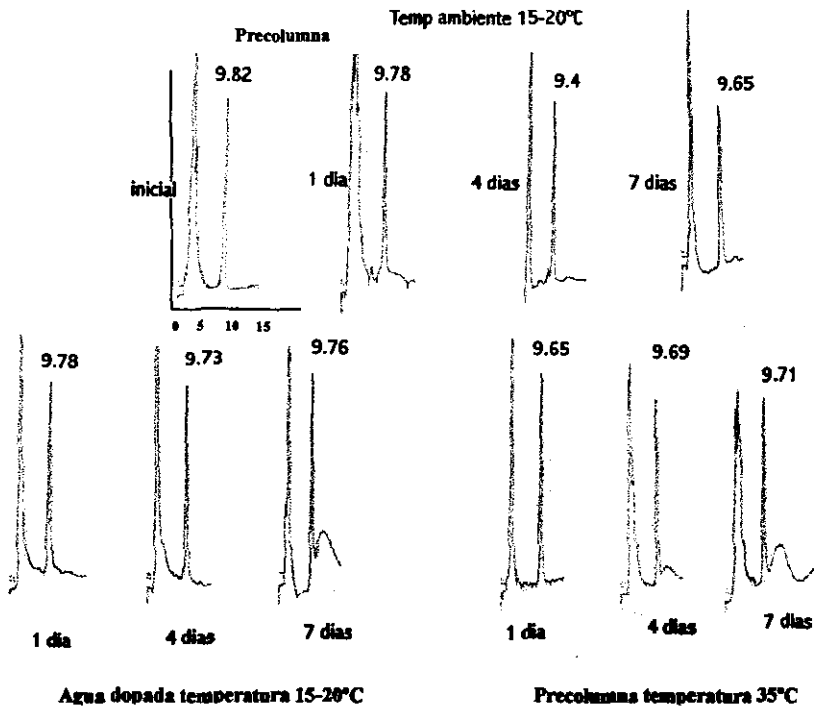
El metiocarb en disolución acuosa a temperatura ambiente sufre degradación significativamente mayor que en el estado adsorbido, aún si en este último caso la temperatura es más elevada.

De hecho, dado que los carbamatos tienen una mayor tendencia a sufrir reacciones de hidrólisis que de oxidación, los resultados obtenidos permiten inferir que la velocidad de hidrólisis de este plaguicida es mayor cuando se encuentra en solución que cuando está inmovilizado en un adsorbente.

Por otra parte, la pequeña diferencia de estabilidad del metiocarb en las precolumnas a temperatura ambiente y a 35°C, muestra que, en el estado adsorbido, un aumento de temperatura no cataliza significativamente la reacción de hidrólisis.

Finalmente en los cromatogramas de la figura 23 se puede observar para el análisis del agua dopada a 7 días y para el de las precolumnas a 35°C a 4 y 7 días la aparición de una señal (pico ancho) con tiempo de retención cercano al del metiocarb. Por los

resultados obtenidos, se puede decir que este pico no está directamente relacionada con la tasa de degradación del plaguicida por lo que no se puede atribuir a un producto de degradación de éste.



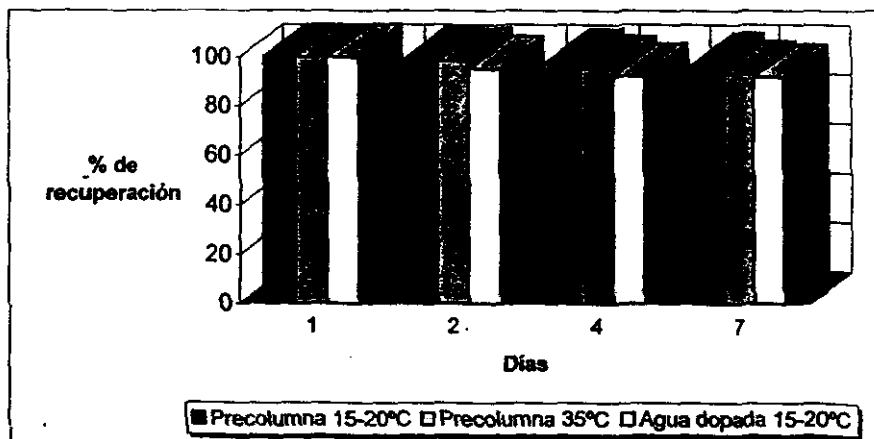
**Figura 23. Cromatogramas obtenidos en el estudio de estabilidad del metiocarb (muestras preparadas en agua grado reactivo).**

La tabla 15 y figura 24 muestran los resultados obtenidos del estudio de estabilidad del metilparatión

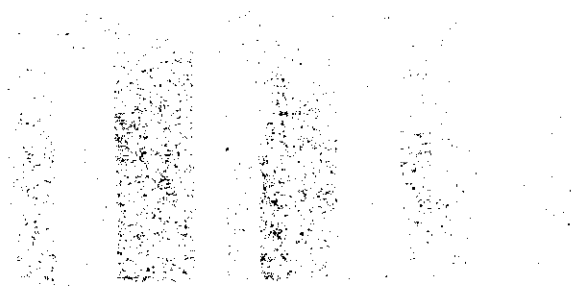
**Tabla 15. Porcentaje de recuperación del metilparatión a diferentes tiempos (muestras preparadas con agua grado reactivo).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.0	100.0	100.0
	100.0	100.0	100.0
2	99.4	95.2	98.3
	99.4	95.2	98.2
4	98.2	92.2	95.1
	98.3	92.5	95.2
7	96.8	91.8	93.3
	96.7	91.8	93.7

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil Acetonitrilo:agua 50:50 v/v, Detección U.V. a 272 nm, t<sub>r</sub>=9.6 min. Muestra de carga: Metanol:agua 8:92 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb

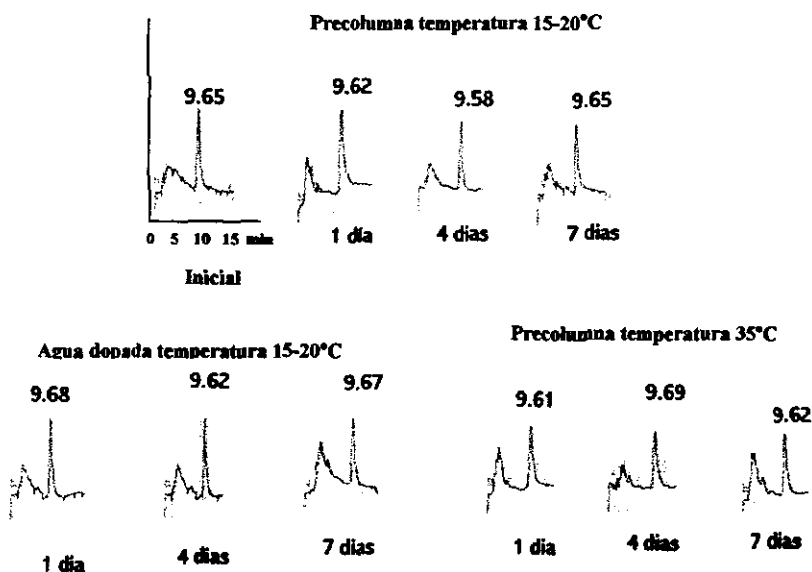


**Figura 24. Porcentajes de recuperación del Metilparatión en función del tiempo (muestras preparadas con agua grado reactivo).**





Al igual que el 2,4-D, el metilparatión es bastante estable, tanto en precolumna como en disolución. Asimismo, un aumento de temperatura en el estado adsorbido no cambia significativamente su estabilidad.<sup>22</sup> En los dos medios estudiados y a los dos niveles de temperatura probados la destrucción del metilparatión después de 7 días es inferior al 10%. Los cromatogramas obtenidos se muestran en la figura 25.



**Figura 25. Cromatogramas del estudio de estabilidad del metilparatión (muestras preparadas en agua grado reactivo).**

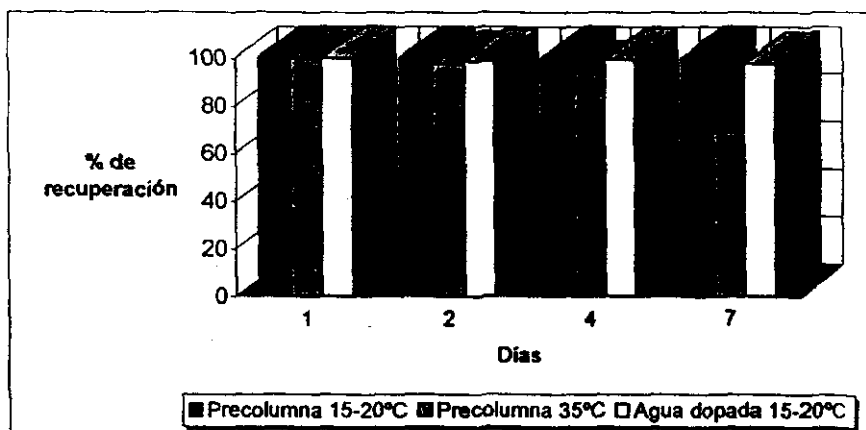
Los resultados del estudio de estabilidad del DDT se presentan en la tabla 16 y figura 26.

**Tabla 16. Porcentaje de recuperación del DDT a diferentes tiempos (muestras preparadas con agua grado reactivo).**

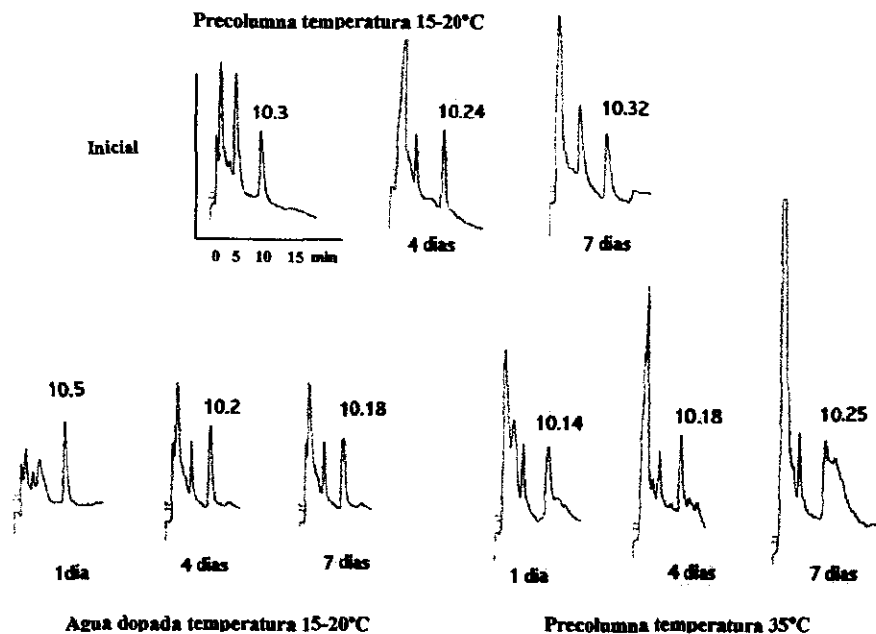
Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.2	100.2	99.9
	100.7	100.3	99.8
2	100.2	98.7	97.7
	100.6	99.2	97.7
4	99.8	99.4	93.4
	100.0	99.1	93.5
7	99.3	97.9	69*
	99.8	97.6	69*

Condiciones: Columna (150 x 4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5 $\mu$ m; Fase móvil Acetonitrilo:agua 75:25 v/v, Detección U.V. a 230 nm,  $t_r$ =10.2 min. Muestra de carga: Acetonitrilo:agua 25:75 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb.

\* Estos valores son aproximados debido a la deformación del pico que impidió una integración adecuada.



**Figura 26. Porcentajes de recuperación del DDT en función del tiempo (muestras preparadas con agua grado reactivo).**



**Figura 27. Cromatogramas obtenidos del estudio de estabilidad del DDT (muestras preparadas en agua grado reactivo).**

El DDT es muy estable, tanto en el agua dopada como en el estado adsorbido, por espacio de una semana a 15-20°C. En cambio cuando se aumenta la temperatura, el DDT en precolumna sufre una degradación cercana al 32% en el mismo lapso de tiempo. El esquema presentado en la figura 9<sup>28</sup> indica que la degradación de este plaguicida procede, en sus primeras etapas, por dechlorinación progresiva del grupo  $-CCl_3$  hasta  $-CH_3$ . De acuerdo con lo observado, un aumento moderado de temperatura cataliza esta descomposición. Sin embargo, el proceso de degradación parece proceder a dos diferentes velocidades ya que hasta el cuarto día la tasa de degradación es pequeña (-6.5%) y posteriormente se acelera produciéndose una degradación adicional del 24% en los siguientes 3 días. La inestabilidad del DDT a altas temperaturas ha sido reportada, aunque no en el estado adsorbido sino en disolución acuosa.<sup>1</sup>

Con los resultados anteriores, se tiene ya un antecedente del comportamiento de estos plaguicidas en una matriz acuosa pura y en el estado adsorbido libre de interferencias con otros solutos, razón por la cual, se procedió a realizar el estudio de estabilidad en una muestra de agua real. En particular se utilizaron muestras de agua procedentes de una presa ubicada en la Sierra Norte de Puebla (Necaxa), la cual se tiene la sospecha que puede contener algunos de los plaguicidas en estudio (metilparatión y DDT). Sin embargo por inyección directa no se encontró ningún plaguicida ni tampoco concentrando 25 ml en precolumna bajo las condiciones particulares de cada uno. El agua de la presa presentó las siguientes propiedades químicas reportadas en la tabla 17. Con respecto a la determinación del pH, se encontró en el intervalo de 7.12-7.16.

**Tabla 17. Estudio químico del agua de la presa Necaxa.**

Determinación	Concentración (ppm)
Cloruros	1.73 ±0.02
Dureza total	56.58 ±0.03
Dureza magnésica	4.78±0.01
Dureza cálcica	52.31±0.02
Sólidos disueltos	168.34±0.15
Sulfatos	18.23±0.06
Alcalinidad (como bicarbonatos)	30.86±0.08

El agua fue conservada en envases de vidrio de borosilicato color ámbar con tapón de rosca de plástico a una temperatura de 4°C inmediatamente después de haber sido muestreada, este tipo de preservación de la muestra es ampliamente recomendado.<sup>14</sup> Los valores determinados en el análisis químico del agua, están dentro de los intervalos que

este tipo de agua presenta.<sup>99</sup> Es importante mencionar que la concentración de cloruros, aunque no es alta y está dentro de los intervalos reportados, pudiera ser debida a que la presa recibe influentes de agua municipal procedentes de los pueblos aledaños en la zona. Por este motivo, en algunos experimentos se utilizó un agente conservador recomendado por EPA para aguas cloradas, el sulfito de sodio, ya que la cloración del agua es un factor determinante en la degradación de pesticidas en este medio.<sup>66</sup>

#### 4. Porcentajes de recuperación con agua de la presa Necaxa.

Debido a que en el estudio previo, con muestras preparadas con agua grado reactivo, la degradación apreciable de cualquier plaguicida se presentó de manera general después de más de 2 días de estar en el estado adsorbido o en el agua dopada, los tiempos de análisis para el presente estudio fueron cambiados a 1, 3 y 7 días. Las tablas 18 a 21 y las figuras 28-33 presentan los resultados obtenidos para los 4 plaguicidas.

**Tabla 18. Porcentaje de recuperación para el metilparatió (muestras preparadas con agua de presa).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.0	100.0	99.9
	99.9	99.8	99.4
3	99.7	95.3	92.7
	99.6	95.4	92.8
7	93.5	91.3	90.3
	93.1	91.0	90.6

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 50:50 v/v, Detección U.V. a 272 nm, t<sub>r</sub>=9.6 min. Muestra de carga: Metanol:agua 8:92 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb

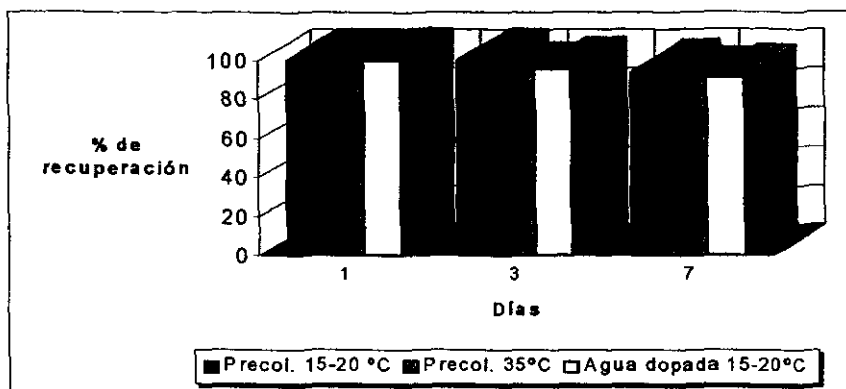


Figura 28. Porcentaje de recuperación para el metilparatión (muestras preparadas con agua de presa).

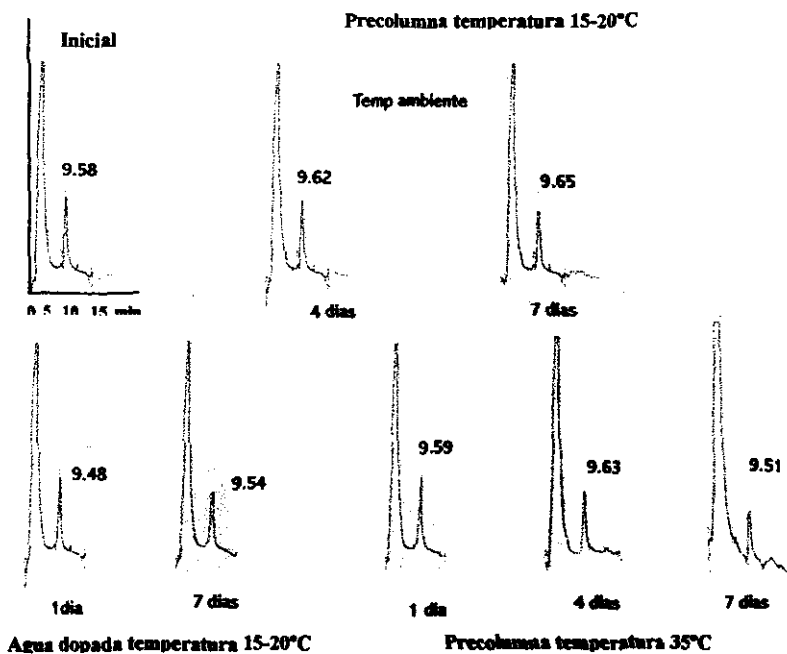


Figura 29. Cromatogramas obtenidos en el estudio de estabilidad del metilparatión (muestras preparadas con agua de presa).

El metilparatión presenta el mismo comportamiento que en muestras preparadas con agua grado reactivo, aunque se observa un ligero aumento (apenas del 3% a 7 días) de la degradación en el estado adsorbido a los 2 niveles de temperatura ensayados.

Es posible que la similitud de comportamiento del plaguicida en disolución con los tipos de agua ensayados sea debida a los siguientes factores:

1. Filtración del agua antes de doparla. Aunque, por el origen del agua de la presa, es de esperarse la presencia de microorganismos como bacterias coliformes y cocos gram positivos,<sup>105</sup> las dimensiones de éstos oscilan entre 0.3 y 3  $\mu\text{m}$ . Por tanto, una buena parte de ellas son eliminadas durante el proceso de filtración con membranas de diámetro de poro de 0.45  $\mu\text{m}$ .
2. Presencia de disolvente orgánico en la muestra acuosa. El metanol añadido a las muestras inhibe la acción de los microorganismos residuales que hubieran logrado atravesar las membranas de filtración en el caso del agua de presa. De hecho, la adición de un poco de este disolvente a las muestras de aguas naturales ha sido recomendada para su preservación durante el transporte y almacenamiento.

Así, no es de esperarse la contribución de microorganismos en el agua de la presa sobre la degradación de los plaguicidas.

Por otra parte, cabe recordar que la hidrólisis de organofosforados es más rápida cuando los sustituyentes de la molécula son de cadena alquímica larga o aromáticos; en el caso del metilparatión, la resistencia a la hidrólisis se debe a que los grupos alquílicos de la molécula son metilos.<sup>7</sup>

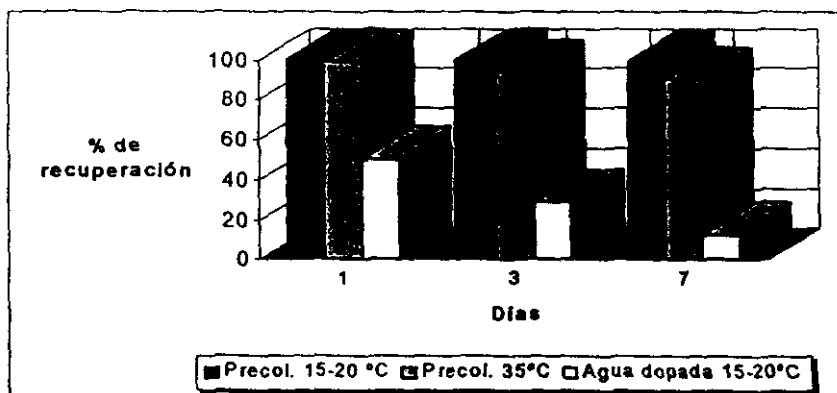
En el caso del metiocarb, la hidrólisis en disolución es más notoria debido al grupo carbamato que es más fácilmente hidrolizable que el enlace fosfoéster del metilparatión.

La tabla 19 y la figura 30, muestran que la degradación del metiocarb en el agua de la presa es muy rápida.

**Tabla 19. Porcentaje de recuperación para el metiocarb (muestras preparadas con agua de presa).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	100.0	50.4	98.9
	99.7	52.5	99.0
3	99.9	29.3	93.7
	99.7	30.0	93.6
7	98.6	12.9	90.3
	98.9	12.9	90.4

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetoniitrilo:agua 45:55 v/v, Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.7 min. Muestra de carga: Metanol:agua 4:96 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb

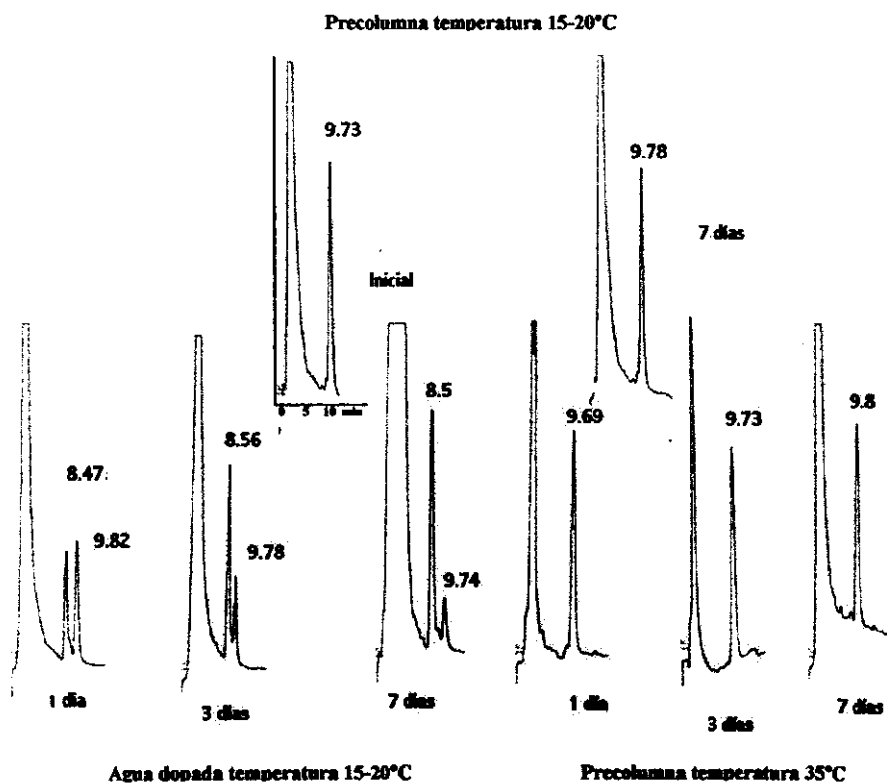


**Figura 30. Porcentajes de recuperación para el metiocarb (muestras preparadas con agua de presa).**

Además, como se aprecia en la figura 31 el producto de degradación presenta también absorción en 230 nm y tiene un tiempo de retención 1.4 minutos menor que el metiocarb,



por lo que debe presentar una mayor polaridad ya que es menos retenido en la columna de fase reversa. Por lo tanto, es posible que el pico observado corresponda al metabolito alcohol. Es curioso notar que la degradación del metiocarb en disolución parece proceder por vías diferentes según la composición del medio. En los experimentos realizados con agua grado reactivo, no se observó en los cromatogramas un pico definido atribuible al producto de degradación, aun cuando a los 7 días la destrucción del plaguicida fue de -27%. En el agua de la presa, donde la degradación procede muy rápidamente con -50% de destrucción al primer día, el pico del metabolito está claramente definido.



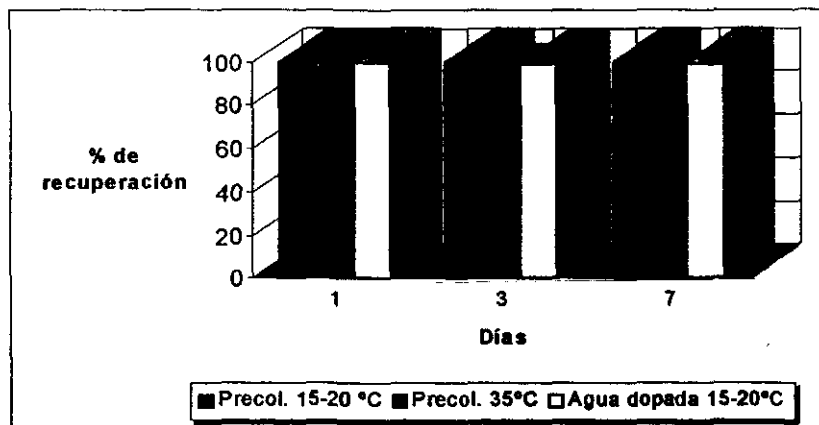
**Figura 31. Cromatogramas obtenidos en el estudio de estabilidad del metiocarb (muestras preparadas con agua de presa).**

Por lo que respecta al DDT, el plaguicida sigue siendo muy estable en el estado adsorbido y en el agua dopada a temperatura ambiente, en cambio a temperatura de 35°C la degradación es apreciable, hasta cerca del 30% a los 7 días.

**Tabla 20. Porcentaje de recuperación para el DDT (muestras preparadas con agua de presa)**

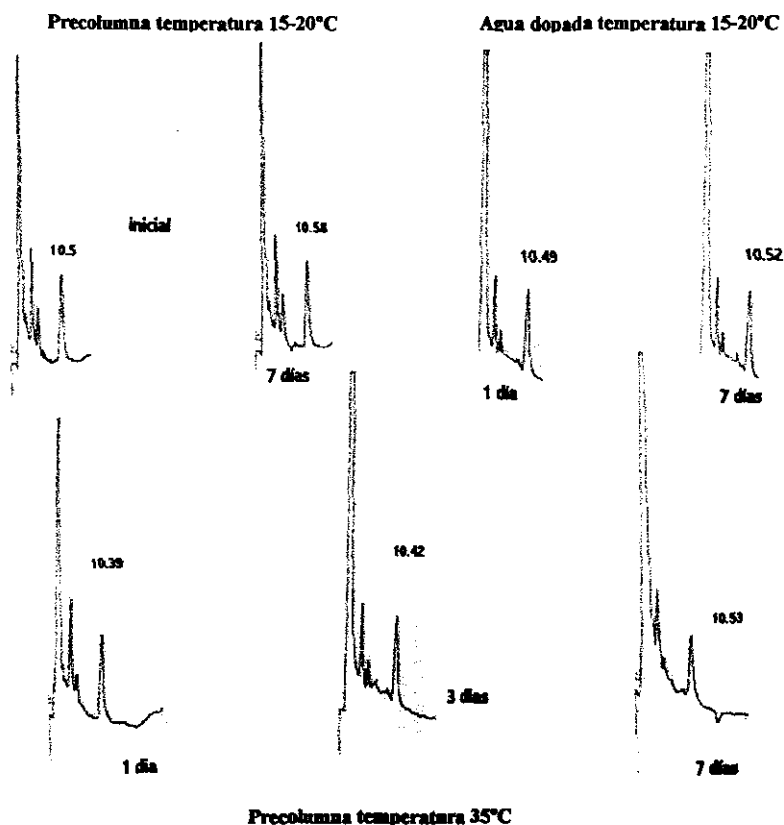
Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35°C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	99.9	99.8	99.8
	100.0	99.7	99.6
3	99.8	99.1	92.8
	99.6	99.0	92.2
7	99.3	96.5	72.9
	99.1	96.7	72.5

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil Acetonitrilo:agua 75:25 v/v, Detección U.V. a 230 nm,  $t_r=10.5$  min. Muestra de carga: Acetonitrilo:agua 25:75 v/v dopada con el analito.



**Figura 32. Porcentajes de recuperación para el DDT (muestras preparadas con agua de presa).**

Al igual que en el caso de muestras preparadas con agua nanopure, en estos ensayos se sigue observando que la degradación del DDT en precolumnas a 35°C procede en dos etapas cinéticas: la etapa inicial, hasta el tercer día, en la cual la tasa de degradación es pequeña (-7.5%) y la etapa subsecuente donde la velocidad de degradación es más rápida (-20% entre el tercero y séptimo día). Los cromatogramas obtenidos se muestran en la figura 33.



**Figura 33. Cromatogramas obtenidos en el estudio de estabilidad para el DDT (muestras preparadas en agua de presa).**

Por otro lado la degradación del 2,4-D fue muy rápida en el agua de la presa, llegando al 37% en tan solo 3 horas (tabla 21). Este fenómeno de degradación tan rápida es novedoso debido a que el herbicida es generalmente muy persistente en las aguas superficiales. Sin embargo, se tienen antecedentes de degradación del 2,4-D por la presencia en solución de cationes divalentes como el  $\text{Cu}^{2+}$  con enzimas dioxigenasas y por degradación a través de una reacción de dechlorinación parecida a la que sufre el DDT.<sup>28,111</sup> La hidrólisis del 2,4-D queda descartada como mecanismo de degradación debido a que se necesitan condiciones ácidas o básicas muy fuertes a una temperatura superior a los 70°C por espacio de más de 2 horas.<sup>17</sup>

**Tabla 21. Porcentaje de recuperación para el 2,4-D en el agua de la presa**

Agua dopada a temperatura ambiente 15-20°C	
Tiempo (horas)	% Recuperación
0.5	79.0
	78.3
1.0	74.1
	74.2
1.5	72.6
	72.6
2.0	68.3
	68.2
2.5	65.3
	65.4
3.0	63.5
	63.2

Condiciones: Columna (150 x 4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm. Fase móvil: acetonitrilo:agua 38:62 v/v. Detección UV a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.8 min. Muestra de carga: Acetonitrilo:agua 25:75 v/v dopada con el analito a 3.52 ppb

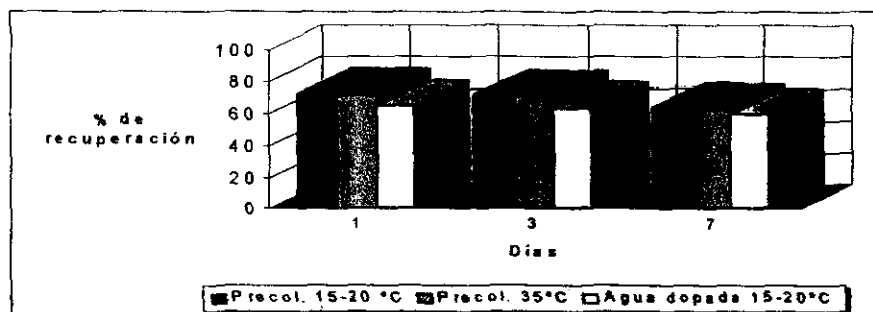
Sin embargo, a pesar de la degradación inmediata, se procedió a realizar la EFS aproximadamente 30 minutos después de preparada la solución en el agua de la presa. Como puede observarse, la velocidad de degradación en la muestra acuosa, que es inicialmente muy rápida (-22% del 2,4-D desaparece en 30 minutos), parece disminuir

con el tiempo, pues a los 7 días sólo se ha producido una destrucción adicional del 18% del herbicida. En lo que se refiere al 2,4-D en el estado adsorbido, tanto a temperatura ambiente como a 35°C, la degradación continúa progresando con el tiempo de modo que a los 7 días la recuperación del herbicida en las precolumnas no es muy diferente a lo que se obtiene en disolución. Este fenómeno de degradación en el estado adsorbido es muy sorprendente, considerando que las precolumnas son lavadas con un poco de agua pura después de ser cargadas con la muestra; de hecho, parece indicar que el agente responsable de la destrucción del 2,4-D permanece adsorbido en la precolumna y es capaz, en este estado, de seguir atacando al herbicida

**Tabla 22. Porcentaje de recuperación para el 2,4-D (muestras preparadas con agua de presa).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	72.1	65.3	71.9
	72.2	65.3	72.0
3	71.3	64.1	71.1
	71.7	64.0	71.3
7	63.8	60.3	62.3
	63.9	60.7	64.3

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 38:62 v/v pH 1.3  
 Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.8 min. Muestra de carga: Metanol:agua 4:96 v/v pH 1 dopada con el analito a 3.52 ppb



**Figura 34. Porcentaje del 2,4-D en el agua de la presa.**

Finalmente, con la recopilación de los datos de estabilidad y al observar que en el estado adsorbido los plaguicidas metilparatión, metiocarb y DDT presentan gran estabilidad por espacio de 7 días a temperatura de 15-20°C, se procedió a incrementar el tiempo de almacenaje en precolumna hasta 5 semanas. La tabla 23 muestra que en estas condiciones (precolumna a temperatura ambiente), el metilparatión y DDT permanecen bastante estables y sólo el metiocarb sufre degradación apreciable, cercana al 30%. Para este último plaguicida se repitió el experimento de estabilidad a 5 semanas pero almacenada la precolumna a temperatura de 4°C. Los resultados reportados en la tabla 23 indican que en estas nuevas condiciones el metiocarb es totalmente estable.

**Tabla 23. Porcentaje de recuperación de 3 plaguicidas en precolumnas almacenadas durante 5 semanas a temperatura ambiente y a 4°C solo para el metiocarb.**

Plaguicida	DDT	Metilparatión	Meticarb	
			Temperatura 15-20°C	Temperatura 4°C
% Recuperación	98.1	90.3	71.8	99.3
	98.4	90.7	72.3	99.4

Con los anteriores resultados se puede concluir que las precolumnas son una opción muy interesante para el almacenamiento de los plaguicidas presentes en muestras acuosas. El DDT y el metilparatión se pueden conservar muy bien por espacio de 5 semanas a temperatura de 15 a 20°C. El metiocarb es estable hasta por 7 días a esta temperatura, pero su almacenamiento puede prolongarse hasta 5 semanas si la precolumna se mantiene en refrigeración (-4°C). En cuanto al 2,4-D, los resultados no fueron satisfactorios en el caso particular de las muestras preparadas con el agua de la presa Necaxa. Sin embargo, por el estudio previo llevado a cabo con muestras de agua grado reactivo, hay indicaciones de que también podría conservarse en precolumnas hasta por 7 días, incluso a 35°C, con otros tipos de agua.

### 5. Porcentajes de recuperación con agua de la presa Necaxa utilizando como agente conservador sulfito de sodio.

Para completar este trabajo, se realizó también un estudio de estabilidad empleando una muestra real preservada según métodos estandarizados (EPA). Para ello, al agua de la presa Necaxa se le adicionó un conservador (sulfito de sodio) a una concentración de 50 ppm antes de doparla con los plaguicidas en estudio. Los resultados obtenidos presentados en las tablas 24 a 27 y en esquemas generales en las figuras 35-37, no difieren drásticamente de los observados cuando no se utiliza el conservador.

**Tabla 24. Porcentaje de recuperación para el 2,4-D (muestras preparadas en agua de presa con sulfito de sodio).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	82.1	79.3	79.2
	82.5	79.3	79.0
3	81.3	75.1	76.1
	81.7	74.5	77.3
7	73.7	72.6	75.3
	73.3	72.5	75.3

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 38:62 v/v pH 1.3  
Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.8 min. Muestra de carga: Metanol:agua 4:96 v/v pH 1 dopada con el analito a 3.52 ppb.

**Tabla 25. Porcentaje de recuperación para el metilparatión (muestras preparadas en agua de presa con sulfito de sodio).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	99.6	99.6	99.9
	99.7	99.2	99.8
3	99.6	96.1	93.7
	99.5	96.4	93.8
7	94.5	91.3	91.3
	95.0	91.3	91.6

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 45:55 v/v, Detección U.V. a 272 nm, t<sub>r</sub>=9.6 min. Muestra de carga: Metanol:agua 8:92 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb

**Tabla 26. Porcentaje de recuperación para el metiocarb (muestras preparadas en agua de presa con sulfito de sodio).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	99.9	68.4	98.9
	99.8	67.4	99.0
3	99.9	39.3	95.7
	99.7	31.0	95.5
7	99.7	23.8	92.3
	98.6	22.9	92.4

Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 45:55 v/v, Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=9.8 min. Muestra de carga: Metanol:agua 4:96 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb.

**Tabla 27. Porcentaje de recuperación para el DDT (muestras preparadas en agua de presa con sulfito de sodio).**

Tiempo (días)	Temperatura ambiente 15-20°C		Temperatura 35° C
	Precolumna	Agua	Precolumna
1	99.9	99.7	99.9
	99.9	99.6	99.9
3	99.6	99.4	94.8
	99.6	99.2	94.1
7	97.5	97.5	92.9
	97.3	97.7	92.9

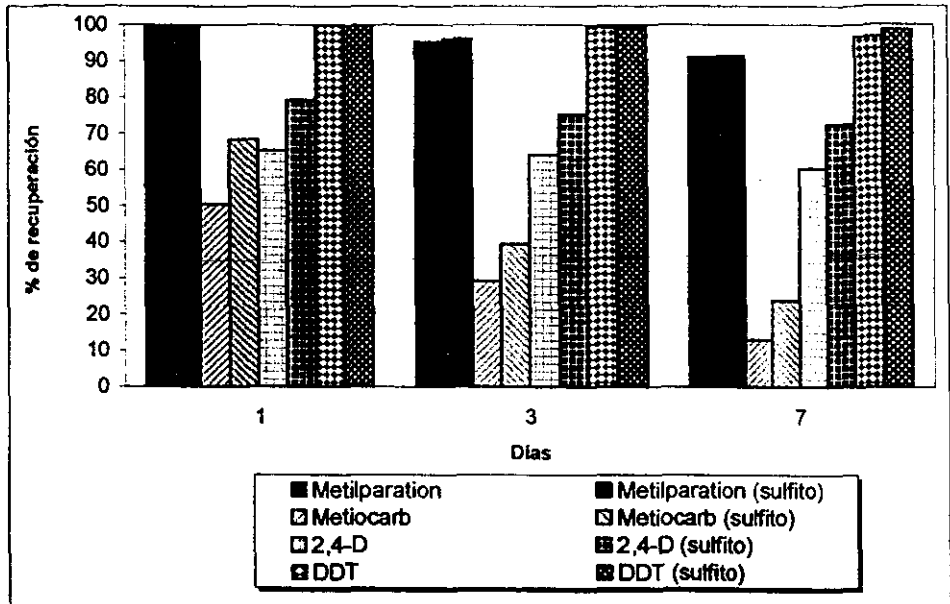
Condiciones: Columna (150 x4.6 mm D.I.) empacada con Hypersil C-18 5µm; Fase móvil acetonitrilo:agua 75:25 v/v, Detección U.V. a 230 nm, t<sub>r</sub>=10.3 min. Muestra de carga: Acetonitrilo:agua 25:75 v/v dopada con el analito a 2.64 ppb.

A continuación se presentan comentarios sobre los resultados obtenidos en este estudio para cada plaguicida.

**Metilparatión.** No se observa absolutamente ningún efecto por la presencia del sulfito de sodio en la muestra; la estabilidad del pesticida tanto en disolución acuosa como en el estado adsorbido, a los dos niveles de temperatura, es prácticamente idéntica a la observada en ausencia del conservador.



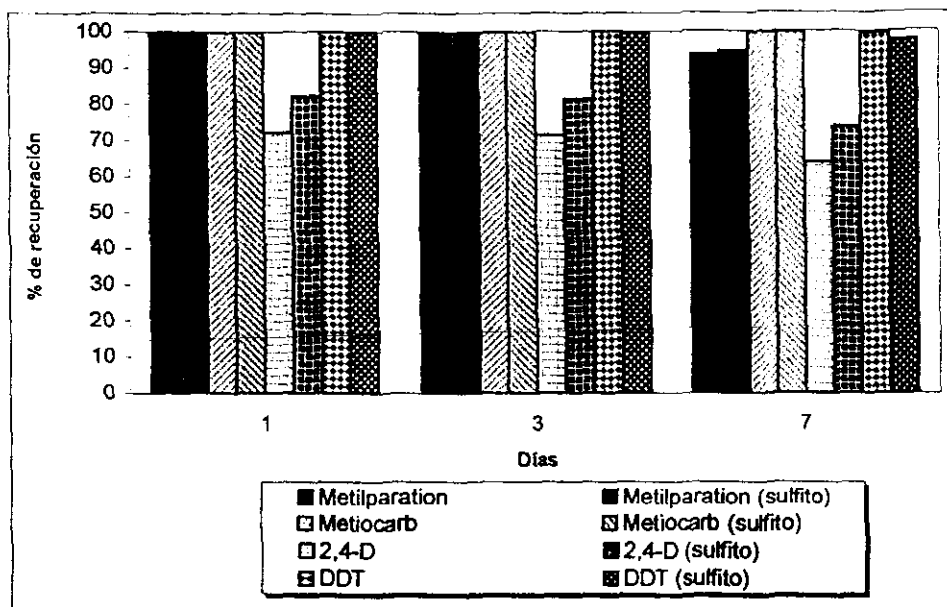
**Metiocarb.** No hay diferencia en cuanto a la estabilidad en el estado adsorbido. El plaguicida en disolución es ligeramente más estable en presencia del sulfito de sodio, sin embargo su tasa de degradación es todavía muy importante (aproximadamente 78% de pérdida en 7 días).



**Figura 35.** Porcentajes de recuperación de los plaguicidas en el agua dopada de la presa Necaxa con y sin agente conservador a temperatura de 15-20°C.

**DDT.** Los resultados de estabilidad en precolumna y en disolución a temperatura ambiente son muy similares con y sin sulfito de sodio en la muestra. La gran diferencia es en cuanto a los experimentos a 35°C en precolumna; la estabilidad del DDT a 7 días pasa de 72% a 92% al adicionar el sulfito de sodio en la muestra acuosa. Este resultado es inesperado pues se sabe que el sulfito de sodio (sal iónica) no se adsorbe en la fase polimérica PLRP-S y, como la precolumna se lava con agua pura después de cargada,

también es eliminado del volumen intestinal. Los experimentos realizados no permiten proponer una explicación satisfactoria sobre el modo de acción de este agente.



**Figura 36. Porcentajes de recuperación de los plaguicidas en precolumna (muestras preparadas con agua de presa con y sin agente conservador a temperatura de 15-20°C.).**

**2,4-D.** La adición de sulfito de sodio a la muestra acuosa incrementa el porciento de recuperación del herbicida tanto en disolución como en precolumna a los diferentes tiempos analizados. Cabe hacer notar que este efecto debe atribuirse a una menor destrucción del 2,4-D en la disolución inicial, es decir, en la muestra recién preparada y dopada. En efecto, el % de degradación adicional, p. ej. entre el primero y septimo día, oscila entre el 5 y 10% al igual que en los experimentos sin sulfito de sodio (comparar tablas 22 y 24). Considerando que el sulfito de sodio es un ión reductor, es posible que el

mecanismo de degradación del 2,4-D en el agua de la presa Necaxa sea debido a una oxidación, la cual es parcialmente inhibida por el agente conservador.

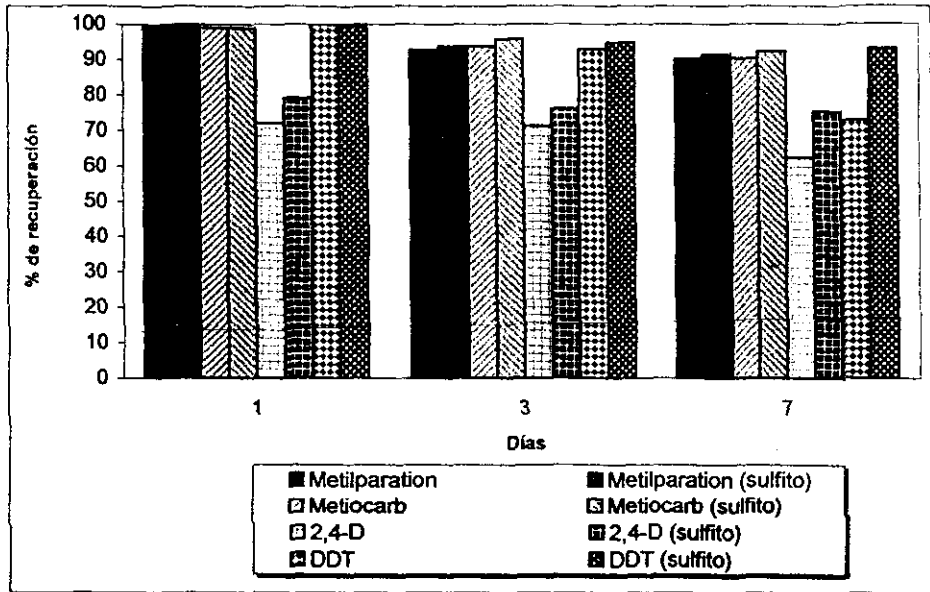


Figura 37. Porcentajes de recuperación de los plaguicidas en precolumna (muestras preparadas con agua de presa con y sin agente conservador a temperatura de 35°C).

## VIII. CONCLUSIONES.

- Con los resultados obtenidos se demuestra la gran efectividad de las precolumnas PLRP-S para la extracción y preconcentración de trazas de contaminantes orgánicos en agua. Con una cuidadosa optimización de las condiciones experimentales es posible obtener porcento de recuperación cercanos al 100% para los 4 plaguicidas estudiados: metilparatión, metiocarb, 2,4-D y DDT. Adicionalmente, las precolumnas presentan la ventaja de poder acoplarse en línea con la columna analítica en un sistema CLAR, incrementando la precisión y exactitud de los análisis y haciéndolos más rápidos y sencillos.
- En este trabajo se determinaron concentraciones de 2.64 y 3.52 ppb, de los pesticidas en la muestra acuosa, sin embargo los cromatogramas obtenidos muestran que es posible manejar concentraciones menores para adaptarse, si así es el caso, a los límites permisibles y establecidos para la calidad del agua.
- Los 4 plaguicidas pueden preservarse por 7 días en las precolumnas mantenidos a temperaturas de entre 15 y 20°C, sin que se produzca prácticamente ninguna degradación (< 10%).
- Adicionalmente se comprobó que el metilparatión y el DDT se conservan estables en el estado adsorbido hasta por 5 semanas a temperatura ambiente (15-20°C). El metiocarb también puede preservarse por el mismo tiempo si las precolumnas se mantienen en refrigeración (4°C).
- Por otra parte, a temperatura constante de 35°C el metilparatión, el metiocarb y el 2,4-D se mantienen estables en las precolumnas por lo menos durante 7 días. Solo el

DDT es inestable a esta temperatura en el estado adsorbido, degradándose alrededor del 30% del compuesto en el lapso de 7 días.

- Contrastando el porcentaje de recuperación a una semana en precolumnas y en el agua dopada, se demuestra que plaguicidas con estructura fácilmente hidrolizable como lo son los carbamatos, aún con el uso de un agente conservador sufren una rápida degradación a temperatura ambiente 15°C-20°C de hasta un 78% en la matriz acuosa en comparación con la mínima degradación en precolumnas inferior al 3%.
- Cada precolumna utilizada fue sometida aproximadamente a 150 procesos de EFS seguidos por el correspondiente análisis CLAR en línea, por lo que se puede constatar la gran estabilidad de la fase polimérica y su facilidad de regeneración. Sin embargo, es necesario el lavado continuo de los filtros de la precolumna para evitar un aumento considerable de la presión al momento de desorber los analitos.
- Con base en los resultados de este trabajo se puede concluir que el uso de precolumnas como medio de transporte de muestras acuosas que contengan plaguicidas del tipo organofosforado (metilparatión), carbamato (metiocarb) y organoclorados (2,4-D y DDT) es adecuado y muy recomendable por lo siguiente:
  - ✓ La estabilidad en precolumna de los pesticidas más resistentes es por lo menos similar a la que tienen en la disolución acuosa.
  - ✓ La estabilidad en precolumnas de los pesticidas más delicados es muy superior a la que tienen en disolución acuosa, incluso si esta última se le adiciona un conservador.
  - ✓ Es más fácil y menos costoso el transporte de pequeñas precolumnas que el de grandes volúmenes de agua.

- ✓ Por lo mismo, es posible transportar más muestras (más precolumnas) en una sola expedición. Esto abre la posibilidad de diseñar programas de muestreo más amplios y ambiciosos (p. ej. en regiones de difícil acceso).
- ✓ Aunque el costo de la fase polimérica es relativamente elevado (24 U.S. dls/gramo), sólo se requieren 40 mg para empacar una precolumna. Además, estas últimas se regeneran fácilmente y pueden usarse repetidamente un gran número de veces (aproximadamente 150), sin perder su capacidad de adsorción.
- Finalmente es importante resaltar que esta alternativa de transportación de muestras acuosas puede dar pauta a un mejor monitoreo ecológico de las aguas naturales, superficiales y subterráneas en nuestro país, ya que de ellas depende el equilibrio en los ecosistemas y consecuentemente la salud humana.

## IX. SUGERENCIAS.

1. Continuar el estudio de estabilidad de otro tipo de plaguicidas en precolumnas de las mismas características que las utilizadas en este trabajo, ya que el número de contaminantes orgánicos es muy grande y sus características químicas pueden ser muy distintas a los compuestos analizados.
2. Variar la concentración del plaguicida en la disolución de carga para determinar si este factor tiene algún efecto sobre la estabilidad del analito en el estado adsorbido.
3. Realizar estudios de estabilidad con muestras acuosas que contienen varios plaguicidas para determinar la influencia y posibles efectos sinérgicos sobre el porcentaje de recuperación en el estado adsorbido.
4. Determinar hasta que punto la presencia de microorganismos contribuye de manera importante a la degradación de los plaguicidas en el estado adsorbido.
5. Realizar un estudio más amplio del efecto de matriz sobre la estabilidad de los plaguicidas adsorbidos utilizando una gran variedad de muestras reales para la preparación de las disoluciones de carga. Caracterizar previamente dichas muestras incluyendo parámetros no determinados en este trabajo como DQO, DBO, % de C orgánico etc.

## X. BIBLIOGRAFIA.

1. Barrera C., Pesticidas Agrícolas, 3<sup>ra</sup> ed., Omega, Barcelona, España. (1986).
2. FAO. Especificaciones de la FAO para productos destinados a la protección de las plantas. OMS. (1995).
3. Miller W., This is Codex Alimentarius, Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. (1992).
4. Klimer R., Plaguicidas: Toxicología, sintomatología y terapia, Oikos-Tau, S.A. Barcelona, España (1998).
5. Cremlin R., Plaguicidas modernos y su acción biológica, Noriega Editores, Barcelona, España. (1995).
6. Rojas M., y Vázquez, R., Manual de herbicidas y fitoreguladores, aplicaciones y uso de plaguicidas agrícolas, 3<sup>ra</sup> ed., Noriega Editores, México D.F. (1993)
7. Moritusa E., Organophosphorus pesticides organic and biological chemistry, CRC. Press, U.S.A. (1978).
8. Kenneth H., Biochemistry and uses of pesticides, 2<sup>nd</sup> McMillan, London, England. (1990).
9. Los plaguicidas, el ambiente y la salud. Lilia Albert. Coordinadora. Centro de Ecodesarrollo, México D.F. (1990).
10. Plaguicidas en América Latina. Participación ciudadana en políticas para reducir el uso de plaguicidas. Editores Luis Gomero y Erika Rosenthal. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina. (RAP-AL) y Pesticide Action network North América. Lima, Perú, (1997).
11. Arredondo J., *Salud Pública de México*, **35**, (1993).
12. Overview and update of the Sound Management of Chemicals Initiative under CEC council Resolution 95-5, Agosto 1-2 Secretariado del la CCA. (1996).



13. *Directiva del Consejo 96/61/CE*, del 24 de Septiembre de 1996 relativa a la prevención y al control integrado de la contaminación. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, **257**, (1996).
14. Csuros M., *Environmental, sampling and analysis for technicians*, CRC Press, U.S.A. (1994).
15. Murphy S., *Toxic effects of pesticides*, 3<sup>rd</sup> ed., Casarett and Doull's Toxicology, New York, USA, 519-581. (1986).
16. Tomlin C., *The Pesticide Manual*, 11<sup>th</sup> British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK, (1997).
17. Moye H., *Analysis of pesticide residues*, John Wiley and Sons, U.S.A. (1981).
18. Zweig G., *Analytical methods for pesticides and plant growth regulators*, Vol. XI. Academic Press, U.S.A. (1980).
19. Zweig G., *Pesticides plant growth regulators, and food additives*, Vol V. Academic Press, U.S.A. (1970).
20. Zweig G., *Analytical methods for pesticides plant growth regulators and food additives*, Vol. III. Academic Press, U.S.A. (1967).
21. Bertrand N. and Barceló D., *Anal. Chim. Acta*, **254**, (1991) 235-244
22. Smolen J. and Stone, A., *Environ. Sci. Techno*, **31**, (1997) 1664-1673.
23. Coats R., *Chemtec*, **March**, (1993) 25-29.
24. Lacorte S., Ehresmann N. and Barceló D., *Environ. Sci. Technol*, **29**, (1995) 2834-2841.
25. Kolpin D., Thurman R. and Goolsby, D., *Environ. Sci. Techno*, **30**, (1996) 335-340.
26. Nolte J., Grab B., Heimlich F. and Klokow D., *Fresenius J. Anal. Chem*, **357**, (1997) 763-767.
27. Schuster R. and Gratzield-Hünsgen A., *Hewlett-Packard Applications*, (1990) **12-5091-0302**.

28. Sayles G., You G., Maoxi, W. and Kupferle M., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 3448-3454.
29. Semchuck K., *Neurology*, **42**, (1992) 1328-1335
30. Miller S., *Environ. Sci. Technol*, **26**, (1992) 1900-1901
31. López L. and López M., *Arch. Environ. Health*, **48**, (1993) 359-363.
32. Winkeler D., *Merck Spectrum*, **2**, (1992) 4-8.
33. Molina C., Honing M. and Barceló D., *Anal. Chem*, **66**, (1994) 4444-4449.
34. Barceló D., (Review), *Chromatographia*, **25**, (1988) 928-937.
35. Torres C., Estudio de la dispersión de matriz en fase sólida para la determinación de plaguicidas. Doctorado en Medio Ambiente, Universidad de Valencia, España (1997).
36. Durand G. Análisis y degradación de plaguicidas modernos en el medio acuático. Doctorado en Química Analítica, Universidad de Barcelona, España. (1998).
37. Slejko F., Adsorption technology: A step-by-step approach to process evaluation and application, Mercel Dekker, U.S.A. (1985).
38. McGuire S., Activated carbon adsorption of organics from the aqueous phase, Arbor Science Publication Inc. U.S.A. (1980).
39. Noll, K., Gournaris V. and Wain-Sun H., Adsorption technology for air and water pollution control, Lewis Publishers, U.S.A. (1992).
40. Masel R., Principles Of Adsorption And Reaction On Solid Surfaces, John Wiley and Sons. U.S.A. (1996).
41. U.S. Environmental Protection Agency, Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water, **Methods 505 and 508**, rev 2.0 (organochlorides), (1991).
42. U.S. Environmental Protection Agency, Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water, **Method 531.1** (N-methylcarbamates), (1991).

43. U.S. Environmental Protection Agency, Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water, **Method 513.1 and 513.2 (2,4-D)** (1996).
44. U.S. Environmental Protection Agency, Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water, **Method 507 (methylparation)** (1996).
45. Lacorte S., Molina C. and Barceló, D., *Anal. Chim. Acta*, **281**, (1993) 71-84.
46. Lacorte S., Lartigues S. and Barceló D., *Environ. Sci. Technol*, **29**, (1995) 431-438.
47. Lacorte S. and Barceló D., *Anal. Chim. Acta*, **296**, (1994) 223-234.
48. Bucheli, T., Grüebler F., Müller S. and Schwarzenbach R., *Anal. Chem*, **69**, (1997) 1569-1573
49. Luthy R. Aiken G., Brusseau M., Cunningham S. and Westall J., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 3341-3347.
50. Di Corcia A. and Samperi R., *Anal. Chem*, **65**, (1993) 907-912
51. Volmer D. and Hui J., *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, **35**, (1998) 1-7
52. Esteban-Martín A., Fernández P. and Cámara, C., *Fresenius J. Anal. Chem*, **357**, (1997) 927-933
53. Ferrer I., Hennion M. and Barceló D., *Anal. Chem*, **69**, (1997) 4508-4514
54. Dzgoev A., Mecklenburg M., Larsson P. and Danielsson B., *Anal. Chem*, **68**, (1996) 3364-3369.
55. Baker D., Bushway R., Adams S. and Macomber C., *Environ. Sci. Technol*, **27**, (1993) 562-564.
56. Reupert R., Plüger E. And Braunsen, G., *Hewlett-Packard Application*, (1991) **11-4932-1350**.
57. Green D. and Le Pape D., *Anal. Chem*, **59**, (1987) 699-703.
58. Pereira W. and Hostetler F., *Environ. Sci. Technol*, **27**, (1993) 1542-1552.

59. Barceló D., Durand G., Bouvot V. and Nielen M., *Environ. Sci. Technol*, **27**, (1993) 271-277.
60. Namiesnik J., Górecki T., Biziuk M. and Torres L., *Anal. Chim. Acta*, **237**, (1990) 1-60.
61. Senseman S., Lavy T. and Daniel T., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 283-288.
62. Mouvet C. and Jücker C., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 2434-2437.
63. Crescenzi C., Di Corcia A., Guerreiro E. and Samperi R., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 479-488.
64. Bergqvist P., Strandberg B., Ekelund R. and Granmo A., *Environ. Sci. Technol*, **32**, (1998) 38887-3892.
65. Choudhury T., Gerhardt K. and Mawhinney T., *Environ. Sci. Technol*, **30**, (1996) 3259-3265.
66. Di corcia A. and Marchetti, M., *Environ. Sci. Technol*, **26**, (1992) 66-74.
67. Woodrow J. and Seiber J., *Environ. Sci. Technol*, **31**, (1997) 523-529.
68. Thomas M. and Sturrock P., *J. Chromatogr*, **357**, (1986) 318-324.
69. Apffel J., Brinkmann U. and Frei R., *J. Chromatogr*, **311**, (1984) 153-164.
70. Osselton M. and Snelling R., *J. Chromatogr*, **368**, (1986) 265-267.
71. Voyksner R., Bursey J. and Pellizari E., *J. Chromatogr*, **312**, (1984) 221-235.
72. Goewie C., Kwakman P., Frei R. and Brinkman U., *J. Chromatogr*, **284**, (1984) 73-86.
73. Lawrence J. and Turton, D., *J. Chromatogr*, **159**, (1978) 207-226.
74. Subra, P., Hennion M. and Rosset R., *J. Chromatogr*, **456**, (1988) 121-141.
75. Goewie C. and Hogendoorn A., *J. Chromatogr*, **404**, (1987) 352-358.
76. Barceló D., (Review), *J. Chromatogr*, **643**, (1993) 117-143.

77. Chriron S. and Barceló D., *J. Chromatogr.*, **665**, (1994) 283-293.
78. Lartiges B. and Garrigues P., *Environ. Sci. Technol.*, **29**, (1995) 1246-1254
79. Sennert S., Volmer D., Levsen K. and Wünsch G., *Fresenius. J. Anal. Chem.*, **35**, (1995) 642-650.
80. Miles C. and Pfeuffer *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **32**, (1997) 337-345.
81. Lagarda J., *Acces Pesticides*, (1997) October.
82. Kamiya M. and Nakamura K., *Pestic. Sci.*, **41**, (1994) 305-309.
83. Ceseña J., Torres F. y Espinoza L., *Salud Pública de México*, **36**, (1994).
84. Schuster R. and Gratzield-Hünsge A., *Hewlett-Packard Application*, (1994) **12-5932-1550**.
85. Schuster R., *Hewlett-Packard Application*, (1997) **12-6032-1450**.
86. Tsipi D. and Hiskia A., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **57**, (1996) 250-257.
87. Brouwer D., Haan M., Leenheers L. and Vreede F., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, (1997) 976-984.
88. Tsuda T., Kojima M. Harada H., Nakajima A. and Aoki, S., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **60**, (1998) 151-158.
89. Cserháti T. and Forgács E., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **358**, (1997) 558-560.
90. Bester K. and Hünhennefuss H., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **358**, (1997) 630-634.
91. Abbian J., Durand G. and Barceló D., *J. Agric. Food Chem.*, **41**, (1993) 1264-1280.
92. Slobodnik J., Brouwer E., Lingeman H. and Brinkman U., *Anal. Chim. Acta*, **268**, (1992) 55-65.
93. Lacorte S. and Barceló D., *Anal. Chem.*, **68**, (1996) 2464-2470.
94. Pirisi F., Cabras P., Garau L., Melis M. and Secchi E., *J. Agric. Food Chem.*, **44**, (1996) 2417-2422.

95. Abad A., Moreno J. and Montoya A., *J. Agric. Food Chem.*, **46**, (1998) 2417-2426.
96. Abad M., Pariente F., Hernandez L., Abruna D. and Lorenzo E., *Anal. Chem.*, **70**, (1998) 2848-2855.
97. Ronald L. and Pietzyk D., *J. Chromatogr.*, **21**, (1983) 282-287.
98. Merlin D. and Pietzyk, D., *Anal. Chem.*, **45**, (1973) 1348-1353.
99. Snoeyink V. Y Jenkins, D., *Química del agua*, Ed. Limusa, México, D.F. (1987).
100. Rogers K. and Gerlach C., *Environ Sci Technol*, **30**, (1996) 145-156
101. Arntzen J., *Encyclopedia of Agricultural Science*, Academic Press Inc., New York, (1994).
102. Newman A., *Environ Sci. Technol*, **29**, (1995) 323-335.
103. Rouhi M., *Chem. Eng News*, **74**, (1996).
104. Van Emon J. and Lopez-Avila V., *Anal. Chem.* **64**, (1992) 79-87.
105. Shim H., Suk-Bong H. and Raushel, F., *J. Biol. Chem.* **273**, 17445-17750 (1998).
106. Vera-Avila L., Padilla P., Hernández G. and Meraz-Lira J., *J. Chromatogr.* **731**, (1996) 115-122
107. Dong W., Pickering M., Mattina M. and Pylypiw M., *LC-GC*, **10**, (1992) 442-447.
108. Prosen H. and Zupasncic-Kralij L., *Acta Chim. Slov.*, **45**, (1998) 1-17
109. Renner R., *Environ Sci. Technol*, **32**, (1998) 360-363.
110. Rodier J., *Análisis de las aguas*, Ediciones Omega, Barcelona, España, (1990).
111. Sullivan J., Tschida J. and Aamodt S., *Varian LC Application Note*, **Method 1**, (1998).
112. Huen J-M., *Varian LC Application Note*, **Method 9**, (1998).
113. Lewis R., *Varian LC Application Note*, **Method 21**, (1998).

- 
114. Hatz M., George E. and Thoma J., *Varian LC Application Note, Method 25*, (1998).
115. Whiting K., Que L., Saari R., Hausinger P., Frederick A. and McCracken J. *JOCS*, **119**, (1997) 3413-3414.
116. Lal R. and Chiou C., *Microbiol. Rev.* **46**, (1982), 95-127.
117. U.S. Environmental Protection Agency, Microbial decomposition of chlorinated aromatic compounds, EPA/600/2-86/090 (1986), 138-145.