



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Degradación del ditiocarbamato de sodio usado
como plaguicida en el proceso de elaboración de
azúcar en México mediante cromatografía de
líquidos de alta resolución (CLAR)**

TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTAN:

DANAÉ ITZE ARVIZU BERNAL

JUAN CARLOS RAMOS MEDINA

MÉXICO, D.F. 2010





Universidad Nacional
Autónoma de México



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

Presidente	M en C. Lucía Cornejo Barrera
Vocal	Q. F.B. Luis Orlando Abraján Villaseñor
Secretario	Dra. Marisela Bernal González
Primer suplente	M en C. Rolando Salvador García Gómez
Segundo Suplente	Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Lugar donde se realizó la investigación

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM

Asesor del tema:

Dra. Marisela Bernal González

Supervisor Técnico:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Sustentantes:

Danaé Itze Arvizu Bernal

Juan Carlos Ramos Medina

RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarnos la oportunidad de formarnos profesionalmente y hacer de nosotros personas con valores.

A la Facultad de Química por las enseñanzas dentro de sus aulas y sus laboratorios, por formarnos y aportarnos los conocimientos para aplicarlos en el bien de la sociedad y hacer que este país sea mejor.

A todos y cada uno de los profesores de la Facultad, porque si no fuera por ellos, por el trabajo y esfuerzo de cada uno, la formación de muchos profesionistas en el área de la química no sería una realidad.

A los LIQyQA, por abrirnos sus puertas para la realización de esta trabajo y concluir nuestros estudios profesionales.

A la Dra. Marisela Bernal González por su apoyo y asesoramiento técnico en el manejo de los equipos y para la realización de esta tesis.

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez por su apoyo incondicional, por sus correcciones y comentarios para mejorar la calidad de este trabajo.

A todo el personal de los LIQyQA por su colaboración durante la realización de esta investigación, en especial a Benjamín Ramírez Castillo y a la Señora Otilia Cruz por ser súper buenísima onda.

Al PAPIME de la DGAPA de la UNAM por su apoyo parcial en la adquisición de reactivos para esta investigación mediante el Proyecto Clave PE101709 “Apoyo a la enseñanza experimental de las asignaturas terminales de las carreras que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM.

DEDICATORIAS

A mi mamá Ricarda Ramos Medina, por ser el motor que me ha impulsado a lo largo de esta vida, por su gran apoyo y por ser un gran ejemplo de superación y sacrificio para lograr todo lo que he tenido en esta vida, porque este logro también es de ella; a mi abuelita Guadalupe Medina Rojas que aunque ya no está con nosotros siempre me acompaña.

A Dios por darme la oportunidad de cumplir esta meta y porque hay otras más por realizar.

A la vida por permitirme disfrutar cada momento y cada instante con todos y cada uno de mis amigos.

A todos mis amigos de la Facultad de Química; con mucho cariño a Cristian Jaso Sánchez, Cristian Federico García, José Alberto Juárez, Fernando Navarrete, Mariana Montserrat Ortega Gutiérrez, Juan Antonio Lama Aguirre, César Augusto Portillo, Nikté Il Coral Zaragoza, Karla Carolina García, Paloma Álvarez Mondragón, Osvaldo García, Diana Rafael, Karina Hermoso Berruecos, Jazmín Hidalgo Torres, Montserrat Fragosó Ortiz.

Pero, especialmente, a Pablo David Díaz Pérez, por ser más que un amigo, compañero, camarada, es un hermano para mí, gracias por brindarme tu amistad y apoyo desde que íbamos a la preparatoria por pasar los mejores momentos riendo de todo, sólo puedo decir gracias, porque Dios me concedió la gran oportunidad de conocer a un amigo como tú.

A mi amiga Diana Arcos Ramos, por ser de las personas más especiales para mí, gracias por brindarme tu amistad, por reír conmigo en las clases, por ser una gran compañera de equipo, por tenerme tanta confianza y sobre todo por ser una persona tan maravillosa, porque siempre seremos amigos, te quiero mucho Dianiz.

A mi amiga Iliana Yáñez Tirado, porque pasé con ella los mejores momentos en la Facultad, por ser una gran compañera de equipo, una gran amiga y una gran persona porque siempre reímos juntos gracias chicuelita por ser genial y súper buenísima onda.

A Andrea Esquivel Chávez porque con sus maldades reímos juntos, gracias por brindarme tu amistad y tu compañerismo porque simplemente eres genial.

A Angélica Rodríguez Pozos, por ser una gran compañera y una gran persona, gracias por todo amiga.

A Dalia Mejía Ortiz porque en tu compañía todo es felicidad y alegría porque eres una persona maravillosa, gracias por reír conmigo, por brindarme tu amistad en todo momento, siempre estarás en mi corazón amiga.

A Ingrid Torres Rodríguez, porque nunca es tarde para conocer a los buenos amigos, gracias por ser como eres te quiero mucho.

A la profesora Adela Castillejos Salazar por mostrarme lo maravilloso que fue estudiar en la Facultad de Química, por ser una gran docente y la mejor maestra de Química General que tuve.

A la profesora Teresa Unda Carbott por ser la mejor maestra de laboratorio de Química General, porque con ella aprendí lo maravillosa que es la química.

A la ENP Número 1 “Gabino Barreda” porque ahí empezó esta fabulosa aventura.

Y, finalmente, al profesor Felipe León Olivares por despertar en mí el interés por la química y por su dedicación a la enseñanza de esta gran ciencia.

A todos ustedes gracias por ser una parte importante de mi vida, por hacer de mí una gran persona, por hacer que cada día sea distinto y por impulsar que este mundo sea mejor.

“Dedicado a la memoria de mi amiga Susana Rico Ordóñez que aunque se adelantó en el camino siempre estarás en mi corazón”

Juan Carlos Ramos Medina

Dedico este trabajo...

A mis grandiosos padres rockeros, Marco y Lety

A mi tierna hermanita, Monse Citlalli

A mis guías en esta vida, María de la Paz Contreras†, Carmen Arvizu y Luis Bernal

A mis queridos tíos, primos, sobrinos

A mis grandes amigos incondicionales

Por darme la fortaleza y enseñanza de trascender

Los amo

Danaé Itze Arvizu Bernal 🐾

	Página
Índice	
Glosario	1
Resumen	5
Capítulo 1. Problemática	6
1.1 Introducción	6
1.2 Justificación del trabajo	7
1.3 Hipótesis	7
1.4 Objetivos	7
1.4.1 Objetivo general	7
1.4.2 Objetivos particulares	8
Capítulo 2. Fundamento teórico y antecedentes	9
2.1 Panorama de la industria azucarera en México	9
2.2 Proceso de elaboración del azúcar (San Carlos, 2009a)	13
2.2.1 Proceso de planta	13
2.2.2 Inhibición de las reacciones de oscurecimiento enzimático del jugo	14
2.2.3 Clarificación del jugo	14
2.2.4 Filtración de la cachaza	15
2.2.5 Evaporación del jugo clarificado	15
2.2.6 Cristalización y centrifugación	15
2.2.7 Secado y envasado	16
2.3 Microbiota de la caña de azúcar y jugo de caña	17
2.3.1 Microorganismos presentes en el jugo de caña	17
2.3.2 Microorganismos que afectan la eficiencia de obtención del azúcar	18
2.4 Plaguicidas	19
2.4.1 Clasificación de los plaguicidas (Morell y Candela, 1998)	19
2.4.2 Carbamatos	22

2.4.2.1 Ditiocarbamatos	23
2.4.2.2 Ditiocarbamato de sodio (<i>Metam-sodio</i> , nombre comercial)	25
2.5 Normativa	34
2.5.1 FAO/OMS	34
2.5.2 Unión Europea (UE)	35
2.5.3 CICOPLAFEST	35
Capítulo 3. Fundamentos analíticos	36
3.1 Cromatografía (Gómez y Serrano, 2010)	36
3.1.1 Tipos de separaciones cromatográficas	36
3.1.1.1 Cromatografía de gases (CG)	36
3.1.1.2 Cromatografía de líquidos (CL)	37
3.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	38
3.2.1 Tipos de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	39
3.2.1.1 Cromatografía de fase normal	39
3.2.1.2 Cromatografía de fase inversa	39
3.2.2 Instrumentación asociada a la CLAR	40
3.2.2.1 Bomba	40
3.2.2.2 Inyectores	41
3.2.2.3 Columna	41
3.2.2.4 Detectores	42
3.2.2.5 Identificación y cuantificación	42
3.3 Tipos de extracción	42
3.3.1 Extracción en fase sólida (EFS)	42
3.3.2 Extracción líquido-líquido (ELL)	44

Capítulo 4. Metodología	45
4.1 Equipos y reactivos	45
4.1.1 Equipo	45
4.1.2 Reactivos y disolventes	46
4.2 Análisis de ditiocarbamato de sodio por CLAR	46
4.2.1 Identificación y cuantificación del plaguicida	47
4.2.2 Precisión	47
4.2.3 Diseño experimental para determinar la velocidad de degradación	48
4.2.4 Análisis estadístico de la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio	49
4.3 Tratamiento de la muestra	49
4.3.1 Obtención	49
4.3.2 Extracción del ditiocarbamato en jugo de caña	50
4.3.2.1 Extracción líquido-líquido (ELL)	50
4.3.2.2 Extracción en fase sólida (EFS)	50
4.3.3 Curva de calibración en jugo de caña	51
4.3.4 Porcentaje de recobro	51
4.3.5 Límite máximo de detección del ditiocarbamato en el equipo en diferentes matrices	51
4.3.6 Límite máximo de detección en ELL	52
4.3.7 Precisión	52
4.3.8 Cinética de degradación del plaguicida en el jugo de caña	52
Capítulo 5. Resultados y discusión	53
5.1. Identificación y cuantificación de ditiocarbamato de sodio por CLAR	53
5.1.1 Identificación y cuantificación del plaguicida	54
5.1.2 Precisión	55
5.1.3 Determinación de la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio por CLAR	55

5.1.3.1 Velocidad de degradación del plaguicida en metanol	56
5.1.3.2 Velocidad de degradación del plaguicida en agua	56
5.1.4 Análisis estadístico de la influencia de los factores en la degradación	57
5.2 Curva de calibración en jugo de caña	58
5.3 Extracción del ditiocarbamato en jugo de caña	59
5.3.1 Extracción en fase sólida (EFS)	59
5.3.2 Extracción líquido-líquido (ELL)	60
5.4 Porcentaje de recobro	60
5.5 Límite máximo de detección del ditiocarbamato en el equipo en diferentes matrices	61
5.6 Límite máximo de detección en ELL	62
5.7 Cinética de degradación del plaguicida en el jugo de caña	62
5.8 Discusión final	64
Capítulo 6. Conclusiones y recomendaciones	
6.1 Conclusiones	66
6.2 Recomendaciones	68
Bibliografía	69
Anexos	
Anexo A. Curvas calibración en metanol y agua a pH de 4, 7 y sin modificar pH	73
Anexo B. Curvas de cinética de degradación del ditiocarbamato de sodio del diseño experimental	77
Anexo C. Gráficos de superficie de respuesta de los factores del diseño experimental	82
Anexo D. Curva de calibración del ditiocarbamato de sodio en jugo de caña	88
Anexo E. Tratamiento de residuos	90
Anexo F. Información toxicológica	92
Tablas	
Tabla 1. Estados productores e ingenios azucareros en México (SIAP, 2010)	9
Tabla 2. Producción agrícola de caña de azúcar 2009, en la modalidad Riego + Temporal (SIAP, 2010)	11

Tabla 3.	Información de cierre en producción correspondiente a la zafra 2009 en México (SIAP, 2010)	12
Tabla 4.	Clasificación de los plaguicidas por su peligrosidad (SEDESOL-INE, 2000)	21
Tabla 5.	Clasificación de los ditiocarbamatos , propiedades físicas y químicas (Hayes, 1991; Nollet, 2006)	24
Tabla 6.	Ficha técnica de <i>Metam-sodio</i> (Barpen, 2010)	26
Tabla 7.	Información toxicológica de <i>Metam-sodio</i> (Barpen, 2010)	28
Tabla 8.	Información ecológica de <i>Metam-sodio</i> (Barpen, 2010)	29
Tabla 9.	Información regulatoria de <i>Metam-sodio</i> (Barpen, 2010)	30
Tabla 10.	Condiciones cromatográficas para determinar ditiocarbamatos mediante CLAR	33
Tabla 11.	Límite máximo residual (LMR) de plaguicidas en caña de azúcar y maíz (MINSA, 2009)	34
Tabla 12.	Límite máximo residual (LMR) de ditiocarbamatos en caña de azúcar (Unión Europea, 2009)	35
Tabla 13.	Equipo utilizado en la experimentación	45
Tabla 14.	Reactivos y disolventes empleados	46
Tabla 15.	Diseño experimental	48
Tabla 16.	Comparación de las condiciones cromatográficas en bibliografía y experimental	53
Tabla 17.	Coeficientes de las curvas de calibración del ditiocarbamato en metanol y agua	54
Tabla 18.	Valores de media, desviación estándar y coeficiente de variación del punto medio (25 mg L^{-1}) de cada curva de calibración	55
Tabla 19.	Degradación del ditiocarbamato de sodio de cada combinación del diseño experimental	56
Tabla 20.	Contribución porcentual de los 5 factores en la degradación del plaguicida	58
Tabla 21.	Coeficientes de precisión de la curva de calibración en jugo de caña	59
Tabla 22.	Porcentaje de recobro mediante ELL y EFS del ditiocarbamato en jugo de caña	61
Tabla 23.	Límite máximo de detección del plaguicida en diferentes matrices	62
Tabla 24.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en el jugo de caña	63
Tabla 25.	Toxicidad de los posibles productos de degradación del ditiocarbamato de sodio	93

Figuras

Fig. 1.	Proceso de elaboración de azúcar (San Carlos, 2009b)	18
Fig. 2.	Estructura de los carbamatos (Soriano <i>et al.</i> , 2001)	23
Fig. 3.	Estructura de los ditiocarbamatos (Soriano <i>et al.</i> , 2001)	23
Fig. 4.	Ficha técnica de <i>Metam-sodio</i> (CICOPLAFEST, 2004)	35
Fig. 5.	Clasificación de los métodos cromatográficos (Martínez-González, 2010)	37
Fig. 6.	Cromatografía en columna (SARA, 2010)	38
Fig. 7.	Cromatografía plana (SARA, 2010)	38
Fig. 8.	Instrumentación del CLAR (Skoog <i>et al.</i> , 1997)	43
Fig. 9.	Extracción en fase sólida (EFS) (Pawliszyn, 2002)	44
Fig. 10.	Extracción líquido-líquido (SARA, 2010)	44
Fig. 11.	Condiciones cromatográficas para determinar ditiocarbamato de sodio por CLAR (modificada de UCO, 2010)	47
Fig. 12.	Diseño experimental para determinar la velocidad de degradación del plaguicida en una matriz de agua y metanol	49
Fig. 13.	Cromatograma del ditiocarbamato de sodio. Columna: 100mm x 4.6mm Nucleosil RP-18 (5 μ m); fase móvil: Agua/Acetonitrilo (70:30); flujo: 1.1 mL min ⁻¹ ; volumen de inyección: 20 μ L; detector: UV; λ = 200 nm	54
Fig. 14.	Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones ácidas (LAINCO, 2010)	56
Fig. 15.	Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones alcalinas (LAINCO, 2010)	57
Fig. 16.	Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones neutras (LAINCO, 2010)	57
Fig. 17.	Porcentaje de recobro (%R) Vs Volumen de elución a 0.3, 0.5 y 1.0 g NaCl	60
Fig. 18.	Cromatograma del límite máximo de detección del plaguicida en la ELL	62
Fig. 19.	Cinética de degradación del ditiocarbamato de sodio en jugo de caña	63
Fig. 20.	Determinación del tiempo necesario para la degradación del plaguicida usado en el ingenio azucarero cooperante	64

Fig. A.1.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua sin modificar pH	74
Fig. A.2.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol sin modificar pH	74
Fig. A.3.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua a pH 4	75
Fig. A.4.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol a pH 4	75
Fig. A.5.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua a pH 7	76
Fig. A.6.	Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol a pH 7	76
Fig. B.1.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, oscuridad y pH 4	78
Fig. B.2.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, oscuridad y pH 7	78
Fig. B.3.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, luz y pH 4	79
Fig. B.4.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, luz y pH 7	79
Fig. B.5.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, oscuridad y pH 4	80
Fig. B.6.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, oscuridad y pH 7	80
Fig. B.7.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, luz y pH 4	81
Fig. B.8.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, luz y pH 7	81
Fig. C.1.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua(-1); metanol (1)], fotólisis [luz (-1); oscuridad(1)]	83
Fig. C.2.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua(-1); metanol (1)], temperatura (4; 25°C)	83
Fig. C.3.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua(-1); metanol (1)], pH (4; 7)	84
Fig. C.4.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua(-1); metanol (1)], tiempo (1; 5 días)	84
Fig. C.5.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1); oscuridad (1)], temperatura (4; 25°C)	85
Fig. C.6.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1);	85

oscuridad(1)], pH (4; 7)

Fig. C.7.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1); oscuridad(1)], tiempo (1; 5 días)	86
Fig. C.8.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la temperatura (4; 25°C), pH (4; 7)	86
Fig. C.9.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la temperatura (4; 25°C), tiempo (1; 5 días)	87
Fig. C.10.	Degradación del ditiocarbamato de sodio en función del pH (4; 7), tiempo (1; 5 días)	87
Fig. D.1.	Curva de calibración del ditiocarbamato de sodio en jugo de caña	89
Fig. E.1.	Disposición de los residuos generados durante la investigación	91

Glosario

Siglas y abreviaciones empleadas

λ	Longitud de onda
ρ	Densidad
μL	Microlitro
μm	Micrómetro
$^{\circ}\text{Bx}$	Grados Brix
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
%D	Porcentaje de degradación
%R	Porcentaje de recobro
% m/m	Porcentaje masa/masa ¹
\$/Ton	Precio por tonelada
ANDEVA	Análisis de varianza
b	Ordenada al origen
C	Carbono
C_o	Concentración inicial
C_1	Concentración
$\text{C}_2\text{H}_4\text{NaS}_2$	Ditiocarbamato de sodio
CCl_4	Tetracloruro de carbono
CH_3CN	Acetonitrilo
CH_3OH	Metanol
CS_2	Disulfuro de carbono
CE	Clasificación y etiquetado
CE_{50}	Concentración efectiva
CICOPLAFEST	Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de los Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas
CL_{50}	Concentración letal media ² , expresada en mg kg^{-1}

¹ El **peso**, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo **erróneamente** como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg

² La **CL₅₀**, es la concentración letal media que se define como la concentración del agente xenobiótico que se encuentra en el aire o agua (generalmente expresado en términos de mg kg^{-1} o mg L^{-1}), causante de la muerte del 50% de los animales expuestos a estos. Cuando se reporta un CL_{50} es indispensable reportar el tiempo de exposición (Valle y Lucas, 2000).

CL ₁₀	Concentración letal,
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
cm	Centímetros
COINSA	Concentrados Industriales de los Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas
cSt	Centistokes
CV	Coeficiente de variación
Da	Dalton
d.i.	Diámetro interno
DL ₅₀	Dosis letal media ³ , expresada en mg kg ⁻¹
EDTA	Ácido etilen-diamin-tetra-acético
EFS	Extracción en fase sólida
ELL	Extracción en fase líquido-líquido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Por sus siglas en inglés (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
g	Gramo
GC	Cromatografía de gases. Por sus siglas en inglés (<i>Gas Chromatography</i>)
GLC	Cromatografía gas-líquido. Por sus siglas en inglés (<i>Gas-Liquid-Chromatography</i>)
GSC	Cromatografía gas- sólido. Por sus siglas en inglés (<i>Gas-Solid-Chromatography</i>)
h	Hora
ha	Hectárea
H ₂ O	Agua
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución. Por sus siglas en inglés (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
°HPLC	Abreviatura de grado cromatográfico
IA, I.A.	Ingrediente activo
IC ₅₀	Concentración inhibitoria
INE	Instituto Nacional de Ecología

³ El DL₅₀ es la cantidad en mg de producto tóxico por kg de masa corporal, que al ser ingeridos por una población, causa la muerte del 50% de los miembros de esa población (Valle y Lucas, 2000).

IR	Índice de refracción
IR	Infrarrojo
ITCM, MIT	Isotiocianato de metilo
<i>K</i>	Velocidad de degradación
kg	Kilogramo
km	Kilómetro
$K_{o/c}$	Coeficiente de partición octanol-carbono
$K_{o/w}$	Coeficiente de partición octanol-agua
L	Litros
LDLo	Dosis letal mínima oral
LMD	Límite máximo de detección
LMR	Límite máximo residual
LOEC	Concentración más baja a la cual se observa efecto
LT_M	Límite de toxicidad media
M	Molar
<i>m</i>	Pendiente de una recta
mg	Miligramo
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Milimolar
MM	Masa molecular, expresada en $g\ mol^{-1}$
MPa	Megapascales, como unidad de medida de presión
N	Nitrógeno
N_1	Peligroso para el ambiente
NaCl	Cloruro de sodio
n.d.	No determinado
NH_4OH	Hidróxido de amonio
nm	Nanómetros
ODS	Octadecilsilano
OMS	Organización Mundial de la Salud
PF	Punto de fusión
pH	Potencial de iones hidrógeno
PIB	Producto Interno Bruto
PMR	Precios medios rurales
ppm	Partes por millón $mg\ kg^{-1}$
psi	Presión manométrica en unidades inglesas, libra fuerza por pulgada cuadrada por sus siglas en inglés (pounds per square inch)

R	Radical
R ₁	Hidrógeno, metilo o un grupo más complejo
R ₂	Metilo
R ₃	Fenilo o un anillo aromático heterocíclico
R ²	Coefficiente de correlación
R22	Nocivo por ingestión
R31	En contacto con ácidos libera gases tóxicos
R34	Provoca quemaduras
R43	Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel
R50/53	Muy tóxico para los organismos, a largo plazo afecta negativamente el medio acuático
RMN	Resonancia magnética nuclear
RSCSNR ₁ R ₂	Fórmula general de los ditiocarbamatos
R ₃ OCNR ₁ R ₂	Fórmula general de los carbamatos
RP	Fase reversa (por sus siglas en inglés <i>reverse phase</i>)
rpm	Revoluciones por minuto
S	Desviación estándar
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SEDESOL	Secretaría de Desarrollo Social
SH	Sulfuro de hidrógeno
SO ₂	Dióxido de azufre
SPE	Siglas en inglés para extracción en fase sólida (<i>Solid phase extraction</i>)
Sup	Superficie
t _{1/2}	Tiempo de vida media
t	Tiempo cero
tr, t _R	Tiempo de retención
THF	Tetrahidrofurano
Ton	Tonelada
UV	Ultravioleta
UV-V	Ultravioleta visible
x	Concentración de ditiocarbamato de sodio en la regresión lineal
X	Media
X ₁	Corrosivo
Xn	Nocivo
y	Área bajo la curva

Resumen

El rendimiento de la sacarosa obtenida de la caña se ve reducido notablemente, al encontrarse microorganismos presentes en el jugo de caña, como "*Leuconostoc mesenteroides*" que, usando la enzima invertasa; hidrolizan la sacarosa del jugo de caña formando inicialmente glucosa y fructosa y, formando además, unas gomas llamadas dextranas. Ésta es una razón por la cual es imprescindible el uso de un bactericida de amplio espectro como el ditiocarbamato de sodio para obtener el control completo sobre "*Leuconostoc mesenteroides*" y así evitar pérdidas. Por ello, es importante ver la influencia de los factores como matriz, fotólisis, temperatura y pH en la degradación del ditiocarbamato de sodio para obtener un producto inocuo. Por otro lado, la legislación establece cuáles son los límites máximos permitidos para cada plaguicida en cada producto alimenticio y será importante verificar si los productos intermedios y finales de la producción de azúcar los cumplen para el caso del ditiocarbamato de sodio. El trabajo está enfocado a la determinación de la influencia de los factores que, de manera directa, se considera que son responsables de la degradación del ditiocarbamato de sodio, como son matriz (agua, metanol), fotólisis (luz, oscuridad), temperatura (4 y 25°C), pH (4 y 7) y tiempo (0-4 días). La identificación y cuantificación del plaguicida es a través de una técnica analítica que consiste en el uso de la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) empleando un detector UV-VIS, basándose en las condiciones cromatográficas propuestas en la literatura, las cuales fueron adaptadas a la instrumentación disponible del laboratorio. El estudio de la degradación del ditiocarbamato de sodio se realizó mediante un diseño experimental multifactorial de $2^4 \times 5^1$. De la investigación realizada se concluye que el factor que influye directamente en la degradación del plaguicida es el tiempo, con una contribución porcentual del 38.1%, seguida del factor matriz con una contribución porcentual del 30.4% y, finalmente, el pH con una contribución del 7.3%. Los demás factores, tales como la fotólisis y la temperatura también tienen un efecto sobre la degradación del ditiocarbamato de sodio aunque su contribución es menor. Para realizar la cuantificación se elaboraron las curvas de calibración de las diferentes matrices (agua, metanol y jugo de caña) obteniendo coeficientes de correlación entre 0.9170 y 0.990 y, para la matriz de jugo, se obtuvo uno de 0.974. La muestra real que se manejó en el estudio es una muestra adicionada de jugo de caña más el compuesto de interés, a la cual se le aplicaron dos tipos de extracciones: líquido-líquido y en fase sólida, obteniendo porcentajes de recobro del 59.62 y 11.99%, respectivamente. Además, se cuantificó el límite máximo de detección de 40 mg L^{-1} , mediante la extracción líquido-líquido. En cuanto a los límites máximos de detección del ditiocarbamato de sodio en el equipo se cuantificó un valor de 0.62 mg kg^{-1} en agua, de 1.58 mg kg^{-1} en metanol y se detectó un máximo de 10.19 mg kg^{-1} en el jugo de caña de azúcar. En cuanto a la degradación del ditiocarbamato de sodio en el jugo de caña se obtuvo que la velocidad de degradación (K) es de 0.022 min^{-1} y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 31.51 minutos a 25°C.

Capítulo 1. Problemática

1.1 Introducción

La industria azucarera mexicana es una de las principales agroindustrias del país, ocupando el sexto lugar en producción mundial (3.8%). Para este importante sector de la economía, el crecimiento de la producción ha cobrado protagonismo en los últimos años, debido a que esta actividad representa el 11.6% del valor del sector primario y el 2.5% del PIB manufacturero. El valor generado en la producción de azúcar es por más de 3 mil millones de dólares anuales. Genera más de 450 mil empleos directos y beneficios directos a más de 2.2 millones de personas y es una actividad de alto impacto en 227 municipios donde habitan 12 millones de personas (SAGARPA, 2007-2012). Es por esto que se realizan proyectos de investigación, desarrollo, mejoramiento continuo y optimización de los rendimientos en la producción. La obtención de altos niveles de sacarosa depende de múltiples factores, algunos relacionados con la planta en el campo como son: el clima, suelo, disponibilidad de agua, presencia de microorganismos y plagas y, además, de otros factores relacionados con los sistemas de recuperación de la sacarosa en fábrica. De acuerdo con la eficiencia de estos se obtendrá un mejor rendimiento en la producción de azúcar.

Las pérdidas de azúcar se cuantifican mediante balances: la sacarosa que ingresa a la fábrica contenida en la caña de azúcar, la sacarosa presente en los jugos obtenidos en la molienda y la sacarosa en el bagazo; el azúcar no detectada mediante el balance se registra como “pérdidas indeterminadas”, las cuales se atribuyen a factores como la actividad microbiológica y las características fisicoquímicas que favorecen la inversión de la sacarosa; es por eso que controlar y disminuir las pérdidas de sacarosa es de gran importancia y ha sido tema de muchas investigaciones.

Uno de los puntos críticos del proceso de la caña es la extracción del jugo, pues representa pérdidas de azúcar de un 13% por inversión química; un 25% por efecto enzimático y un 62% por inversión microbiológica, debido a que se presentan condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos, como es el caso de *Leuconostoc mesenteroides* que, a partir de la sacarosa, produce cantidades apreciables de gomas (dextranas) y subproductos metabólicos. Por ende, se presentan pérdidas y para lograr el control microbiológico en un ingenio productor de azúcar, es necesario saber qué microorganismos están presentes en el jugo de caña y cómo se pueden controlar (Serrano, 2006). Debido a esto, se lleva a cabo un control bacteriano, el cual es una práctica común y se realiza mediante la adición de agentes bactericidas en cantidades definidas. El ditiocarbamato de sodio es ampliamente utilizado en la industria de los alimentos, pero principalmente en la extracción de jugo de caña de azúcar. Su acción radica en la inhibición de *Leuconostoc mesenteroides*, principal responsable de la

formación de gomas dextranas. El mecanismo de acción de este bactericida se debe a su carácter quelante de metales indispensables en procesos celulares, tales como remover el ion férrico del citocromo, deteniendo así la cadena transportadora de energía (COINSA, 2009; Cremlyn, 1991).

1.2 Justificación del trabajo

Al encontrarse microorganismos presentes en el jugo de caña como "*Leuconostoc mesenteroides*", el rendimiento de la sacarosa obtenida de la caña se ve reducido notablemente. Este microorganismo utiliza una enzima llamada invertasa que hidroliza la sacarosa del jugo de caña en glucosa y fructosa y, posteriormente, forma gomas llamadas dextranas. Por lo tanto, es imprescindible el uso de un bactericida y fungicida de amplio espectro como el ditiocarbamato de sodio, para obtener el control completo sobre "*Leuconostoc mesenteroides*" y así evitar pérdidas de sacarosa. Por ello, es importante ver el efecto de los factores de tiempo, pH, luz, oscuridad y temperatura del proceso de jugo de caña en la degradación del ditiocarbamato de sodio para la obtención de un producto inocuo. Por otro lado, la legislación establece cuáles son los límites máximos permitidos para cada plaguicida en cada producto alimenticio y será importante verificar si los productos intermedios y finales de la producción de azúcar los cumplen para el caso del ditiocarbamato de sodio. Por ello, es importante montar una metodología para la extracción del plaguicida a partir del jugo de caña a nivel laboratorio. Por esta razón, se plantea a continuación la hipótesis del presente trabajo.

1.3 Hipótesis

El valor de pH, el tiempo, la temperatura, las reacciones de fotólisis y el tipo de matriz influyen en la degradación del ditiocarbamato de sodio.

1.4 Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar la degradación del ditiocarbamato de sodio usado como plaguicida en el proceso de elaboración de azúcar en México mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

1.4.2. Objetivos particulares

- Determinar las condiciones analíticas adecuadas para la cuantificación de ditiocarbamato de sodio por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)
- Determinar la degradación del ditiocarbamato bajo diferentes condiciones de proceso (temperatura, tiempo, pH, luz y oscuridad), mediante un diseño de experimentos factorial
- Implementar una metodología para la extracción del plaguicida a partir de jugo de caña a nivel de laboratorio para su posterior análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)
- Comparar los límites máximos permitidos establecidos para este compuesto en jugo de caña y/o azúcar en diferentes países.

Capítulo 2. Fundamento teórico y antecedentes

2.1 Panorama de la industria azucarera en México

En México, la producción de caña de azúcar se registra en 15 estados del país y 57 ingenios azucareros; siendo los estados con mayor número de ingenios azucareros Veracruz, Jalisco y San Luis Potosí con 22, 6 y 4, respectivamente. En la Tabla 1 se presentan los nombres de los ingenios azucareros de todos los estados productores de caña de azúcar del país (SIAP, 2010).

Tabla 1. Estados productores e ingenios azucareros en México (SIAP, 2010)

Estado	Ingenio azucarero	Número de Ingenios
Campeche	La Joya	1
Colima	Quesería	1
Chiapas	Huixtla	2
Jalisco	Pujiltilic (Cía. La Fe)	6
	Bellavista	
	José María Martínez (Tala)	
	José María Morelos	
	Melchor Ocampo	
	San Francisco Ameca	
	Tamazula	3
Michoacán	Lázaro Cárdenas	
	Pedernales	
	Santa Clara	2
Morelos	Casasano (La Abeja)	
	Emiliano Zapata	2
Nayarit	El Molino	
	Puga	3
Oaxaca	Adolfo López Mateos	
	El Refugio	
	Pablo Machado (La Margarita)	2
Puebla	Atencingo	
	Calipam	
Quintana roo	San Rafael de Pucté	1
San Luis Potosí	Alianza Popular	4
	Plan de Ayala	
	Plan de San Luis	
	San Miguel del Naranjo	

Tabla 1. Estados productores e ingenios azucareros en México (SIAP, 2010)(Cont.)

Estado	Ingenio Azucarero	Número de Ingenios
Sinaloa	El Dorado	3
	La Primavera	
	Los Mochis	
Tabasco	Azsuremex-Tenosique	3
	Presidente Benito Juárez	
	Santa Rosalía	
Tamaulipas	Aarón Sáenz Garza	2
	El Mante	
Veracruz	Central Motzorongo	22
	Central Progreso	
	Constancia	
	Cuatotolapam	
	El Carmen	
	El Higo	
	El Modelo	
	El Potrero	
	Independencia	
	La Concepción	
	La Gloria	
	La Providencia	
	Mahuixtlán	
	Nueva San Francisco (Naranjal)	
	San Cristóbal	
	San Gabriel	
	San José de Abajo	
San Miguelito		
San Nicolás		
San Pedro		
Tres Valles		
Zapoapita-Pánuco		
Total de ingenios		57

La agroindustria de la caña de azúcar tiene un efecto socioeconómico en 12 millones de personas que habitan los 227 municipios de la caña de azúcar. Y la producción de caña de azúcar en México genera 440 mil empleos directos y 2.5 millones de empleos indirectos (SAGARPA, 2007-2012).

En la producción agrícola de la caña de azúcar del 2009, se tiene que el valor de producción total invertido es de \$ 18, 912, 734 millones de pesos mexicanos, teniendo mayor inversión en los estados con mayor superficie sembrada y cosechada como son los estados de Veracruz, Jalisco y San Luís Potosí, como se muestra en la Tabla 2. El precio pagado al productor oscila entre \$380 y \$420 pesos mexicanos por tonelada (SIAP, 2010).

Tabla 2. Producción agrícola de caña de azúcar 2009 en la modalidad Riego + Temporal (SIAP, 2010)

Ubicación	Sup. Sembrada (ha)	Sup. Cosechada (ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Campeche	10,382.00	9,200.38	396.00	147,024.11
Chiapas	29,067.90	29,058.85	400.88	998,177.89
Colima	9,633.00	9,346.00	369.68	309,207.58
Jalisco	71,976.76	69,917.77	372.13	2,136,584.92
Michoacán	18,229.00	17,259.00	401.14	531,015.10
Morelos	17,102.20	15,261.70	411.69	753,536.00
Nayarit	33,359.19	33,358.19	433.11	1,137,147.03
Oaxaca	56,785.00	56,750.00	413.42	1,533,094.44
Puebla	16,177.51	16,177.51	422.46	754,071.72
Quintana Roo	22,229.00	22,229.00	357.30	354,478.59
San Luis Potosí	68,473.00	60,165.00	410.39	1,564,430.24
Sinaloa	26,864.00	25,329.00	338.22	639,907.68
Tabasco	32,511.66	28,474.48	381.21	534,576.06
Tamaulipas	59,131.00	53,391.00	384.78	1,482,886.59
Veracruz	247,503.60	246,656.60	374.95	6,036,596.29

Sup.: Superficie; **ha:** Hectáreas; **PMR:** Precios medios rurales; **\$/Ton:** Precio por tonelada

La producción anual de azúcar en México en el 2009 fue de 4, 962,495 toneladas con un rendimiento total nacional de 64.12 toneladas/hectárea. Teniendo a Veracruz, Jalisco y San Luis Potosí como los tres primeros estados más productivos con 1, 857,269; 655,252 y 427,090 toneladas de azúcar producidas respectivamente, mientras que en la cuestión de rendimiento en campo se tiene a los estados de Morelos y Michoacán como líderes debido a la textura del suelo franco limoso y franco arenoso, además de que la caña de azúcar es una

planta tropical que se desarrolla mejor en lugares calientes y soleados. La producción a nivel nacional en la zafra del 2009 se presenta en la Tabla 3 (SIAP, 2010).

En cuanto a la producción mundial en campo, México ocupa el décimo tercer lugar en rendimiento (toneladas de caña de azúcar por hectárea), con un intervalo de 60 a 70, seguido de EEUU con 70 a 80, Guatemala de 80 a 90 y Perú de 110 a 120 Ton/ha. A nivel mundial en el contexto del azúcar, nuestro país ocupa el séptimo lugar en consumo de azúcar (44 kilogramos anualmente/habitante), es decir 5.0 millones de toneladas de azúcar anuales y se estima que en el 2010, el consumo llegue a 6.4 millones de toneladas, colocándose en el sexto lugar a nivel mundial en la producción de azúcar (UNC, 2010).

Tabla 3. Información de cierres en producción correspondiente a la zafra 2009 en México (SIAP, 2010)

Estado	Número de días de zafra	Azúcar producida (Ton)	Rendimiento en Campo (Ton/ha)
Campeche	150	42,601	40.35
Colima	170	97,052	67.1
Chiapas	161	279,391	83.33
Jalisco	154	655,252	85.1
Michoacán	110	111,162	76.61
Morelos	160	178,181	103.66
Nayarit	140	200,925	61.45
Oaxaca	144	251,929	51.24
Puebla	151	201,574	104.38
Quintana Roo	136	110,535	44.63
San Luis Potosí	145	427,09	51.03
Sinaloa	112	164,786	82.43
Tabasco	111	157,145	48.32
Tamaulipas	188	227,603	66.86
Veracruz	141	1,857,269	59.94
Total Nacional	143	4,962,495	64.12

Ton: Toneladas; **ha:** Hectáreas

Para poder llevar a cabo los objetivos propuestos en este trabajo, es necesario conocer el proceso de la elaboración del azúcar que se obtiene de la caña de azúcar incluyendo cada una de las operaciones unitarias involucradas en el proceso, con la finalidad de saber cuáles son los factores que influyen en la degradación del ditiocarbamato de sodio, una vez que haya sido agregado al jugo. Así, se podrá comprobar experimentalmente su posible degradación a nivel laboratorio. A continuación se presenta el proceso de elaboración del azúcar.

2.2 Proceso de elaboración del azúcar (San Carlos, 2009a)

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una gramínea anual en la que se manejan dos tipos de plantaciones: caña planta, que es el ciclo que comprende desde la siembra hasta el primer corte y caña soca, que empieza después del primer corte y termina con el último (pueden ser cinco o más) antes de hacer una nueva siembra, lo que se conoce como renovación. El proceso de elaboración del azúcar está dividido en dos etapas, las cuales son en campo y en planta. A continuación se presenta el proceso de elaboración del azúcar en planta.

2.2.1 Proceso de planta

La caña cosechada en el campo es transportada hacia la fábrica por medio de camiones, con el objeto de conocer la masa de caña transportada. Se procede primero a pesar en las básculas. Una vez pesados, se distribuyen los camiones hacia los trapiches o tándem de molinos. Cada tándem de molinos posee dos vibradoras de caña. Una vez que son viradas las cargas de caña en las respectivas vibradoras de cada tándem de molinos, lo primero que se realiza es un lavado con agua para retirar algo de la tierra y la suciedad que trae del campo. Luego, la caña pasa por una primera picadora, que tiene por objeto desmenuzar la caña. Posteriormente, pasa por una segunda picadora para completar el desmenuzamiento de la caña. Mientras más desmenuzada esté la caña se logrará un mejor trabajo de extracción en los molinos y se mejorará el rendimiento. Durante este proceso, sólo se realiza una fragmentación de la caña, sin extraerle el jugo, pues no hay acción de compresión.

La caña desmenuzada es transportada a través de un conductor hacia los molinos, para proceder por compresión, a extraer el jugo contenido en la caña. El jugo que se extrae de cada molino cae hacia un tanque, llamado "tanque de jugo mezclado", es el momento de adición del ditiocarbamato de sodio para inhibir el crecimiento de "*Leuconostoc mesenteroides*", ya que se le adiciona agua para disolver la mayor parte del azúcar que queda ocluída en el bagazo. A esta agua se le conoce como agua de imbibición y generalmente es agua condensada en los evaporadores que concentran el jugo de caña y que traen algo de azúcar disuelta. El jugo mezclado del tándem "A", es bombeado hacia una balanza para registrar la masa del jugo de dicho tándem de molinos. El jugo mezclado del tándem "B" es bombeado hacia otra balanza para conocer la cantidad de jugo proveniente de dicho tándem de molinos. Posteriormente, se unen estas corrientes de jugo mezclado en un tanque receptor. Este jugo mezclado es un jugo "sucio" pues contiene tierra, arena, residuos de caña y otras impurezas por lo que debe ser clarificado para poder ser utilizado en el proceso.

A partir de esta operación puede cambiar el proceso dependiendo de si se desea obtener mascabado, azúcar estándar o azúcar refinada. A continuación, como ejemplo de uno de los tres procesos, se dará el de la producción de azúcar estándar, que es la más ampliamente consumida en México.

2.2.2 Inhibición de las reacciones de oscurecimiento enzimático del jugo

La inhibición se realiza en las llamadas columnas de sulfitación, que son equipos que trabajan a contracorriente, ingresando el jugo mezclado por la parte superior y alimentando anhídrido sulfuroso por la parte inferior. Al entrar en contacto el anhídrido sulfuroso con el jugo se produce la inhibición del oscurecimiento enzimático del jugo ya que el azufre impide que el oxígeno afecte al jugo. Además, ayuda a reducir el contenido de patógenos, bacterias y microorganismos que pudiesen estar presentes en el jugo ya que baja el pH del líquido. Simultáneamente, la sulfitación reduce las sales férricas (color pardo) presentes, a sales ferrosas (color rojo claro), realizándose, por tanto, una acción de blanqueo del jugo. Durante esta etapa del proceso se produce un incremento en la acidez del jugo tratado. Debido a que, en medio acuoso ácido, se produce una reacción de inversión de la sacarosa, es imprescindible proceder inmediatamente a neutralizar el jugo hasta obtener un pH entre 6.8 y 7.0 para la producción de azúcar estándar. Esto se realiza agregando una lechada de cal al jugo y así, ya neutralizado, se le denomina "jugo alcalizado".

2.2.3 Clarificación del jugo

Una vez que se ha "sulfitado" y "alcalizado" el jugo, se procede a separar la tierra, arena y demás impurezas sólidas presentes en el jugo. Esto se realiza mediante la operación unitaria de sedimentación, la precipitación de las impurezas sólidas es más eficiente si es realizada en caliente. Por ello, se calienta el jugo alcalizado hasta una temperatura no mayor a 110°C, pues por encima de esta temperatura se producen reacciones de Maillard y oscurecimiento del jugo. Luego del calentamiento, se agrega un agente floculante para agrupar las impurezas sólidas presentes que, al ser más pesadas que el jugo, tienden a sedimentar en los equipos llamados clarificadores, obteniéndose por la parte superior un jugo limpio y brillante, llamado "jugo clarificado" y, por el fondo del equipo, un lodo que contiene todas las impurezas sólidas (tierra, arena, residuos de cal y residuos de floculante). A este lodo se le denomina "cachaza".

2.2.4 Filtración de la cachaza

La cachaza, por haber estado en contacto con el jugo, es un lodo que contiene todavía una cantidad importante de azúcar (sacarosa), que debe ser recuperado. Esto se realiza en filtros rotatorios al vacío obteniéndose:

- a) una torta sólida de cachaza que, por tener presencia de elementos nutrientes, es utilizada para enriquecer las aguas de riego de los cultivos de caña, y
- b) un jugo sucio llamado "jugo filtrado", que es alimentado al clarificador de jugo filtrado para separarle las impurezas sólidas presentes y obtener un jugo que pueda ser recirculado al proceso. Las impurezas sólidas separadas del jugo filtrado clarificado son enviadas al tanque de cachaza y dispuestas en los campos cañeros como mejoradores de suelos.

Durante el proceso de filtración se alimenta agua condensada a presión, para realizar un lavado de la torta de cachaza y facilitar la extracción de la sacarosa presente. Esta disolución azucarada se une al jugo mezclado inicial.

2.2.5 Evaporación del jugo clarificado

El jugo clarificado pasa luego a la sección evaporación para eliminar la mayor parte del agua presente en el jugo. El jugo clarificado posee aproximadamente de un 82 a 87% de agua. Por efecto del trabajo de los evaporadores de múltiple efecto, se logra reducir el contenido de agua al 33 a 40% (60-67°Brix), denominándose "meladura" o "miel fina" al jugo concentrado que sale de los evaporadores.

2.2.6 Cristalización y centrifugación

La presencia de sólidos insolubles en la meladura representa un problema no deseado, razón por la cual la meladura es alimentada a un equipo de clarificación por flotación para minimizar este riesgo y obtener una meladura más clara que se constituya en un material que aporte significativamente a la consecución de un azúcar de buena calidad. Para lograr la formación de los cristales de sacarosa se requiere eliminar el agua presente en la meladura. Esto se realiza durante la evaporación del agua en las templas, nombre que se les da a las soluciones saturadas de sacarosa provenientes de los sistemas de evaporación y clarificación, en equipos llamados "tachos", nombre con el que se conoce a los evaporadores de simple efecto que trabajan al vacío. En un sistema de tres templas se producen tres tipos de "masas cocidas" (masacote, por el francés *masse cuite*) o templas: "A", "B" y "C". Las templas "A"

son las de azúcar comercial y las otras se usan como “semilla” para mejorar la cristalización de la templa “A” de la que se obtiene finalmente el azúcar comercial.

Para lograr la separación de los cristales presentes en las templeas se emplean centrífugas, equipos que permiten separar la miel de los cristales presentes en las templeas. Los cristales separados son llamados "azúcar A, B o C" y la miel final separada es la "miel C" o melaza. El azúcar C se adiciona de agua acompañada de agitación hasta formar una masa de 93°Brix. Este material recibe el nombre de magma de tercera y es utilizado como semilla para la preparación de templeas de segunda o B.

Para obtener las templeas B, se alimenta una cierta cantidad de magma de azúcar de tercera a un tacho, luego se alimenta miel A y se somete a evaporación, hasta que la masa elaborada contenga aproximadamente 94-96°Brix. Al llegar a esta concentración se descarga la templa o masa cocida hacia los cristalizadores para terminar de agotar las mieles. Para lograr la separación de los cristales de las mieles se emplean las centrífugas de segunda, los cristales separados son llamados "azúcar B" y la miel separada "miel B". El azúcar B es mezclado con una pequeña cantidad de agua para elaborar una papilla llamada "magma", la cual es bombeada al piso de tachos para ser empleada en la elaboración de las templeas A. Si hay exceso de magma se procede a disolver el azúcar de segunda, para obtener un "diluido de segunda", el que es bombeado a los tachos.

Para elaborar las templeas A se alimenta al tacho cierta cantidad de magma, luego se agrega meladura y se concentra la masa hasta obtener 92-93°Brix, al llegar a esta concentración se descarga la templa o masa cocida hacia los cristalizadores para darle agitación a las templeas e impedir que se endurezcan demasiado. Para lograr la separación de los cristales presentes en la templa se emplean centrífugas de primera. Los cristales separados son denominados "azúcar A", que es el azúcar comercial y la miel separada es llamada "miel A".

2.2.7 Secado y envasado

Una vez descargados los cristales de las centrífugas se procede al secado del azúcar "A", empleando un secador rotatorio al vacío. La humedad máxima permitida en el azúcar debe ser 0.075%. El azúcar seca es conducido hacia las tolvas de almacenamiento para su posterior envasado en sacos. Una vez envasado el producto, se debe controlar la masa de los sacos para comprobar que se cumpla con la norma de 50 kg de masa neta de azúcar por saco. Luego se transportan los sacos hacia la bodega para su posterior distribución. El producto es embalado en las presentaciones de 250 g, 500 g, 1 kg, 2 kg y 5 kg envasados en fundas plásticas (polipropileno) y a granel en 50 kg envasados en sacos de papel tipo *kraft* de triple

capa. De manera general, se presenta el diagrama de bloques del proceso de elaboración del azúcar en la Figura 1.

2.3 Microbiota de la caña de azúcar y jugo de caña

2.3.1 Microorganismos presentes en el jugo de caña

La extracción del jugo representa pérdidas de azúcar en un 62%, debido a la inversión del azúcar por los microorganismos que proliferan por las condiciones favorables, tanto por la presencia de nutrientes y factores ambientales, como por la falta de asepsia generalizada en los molinos de caña. Los microorganismos presentes en el jugo de caña son (Serrano, 2006):

- ❖ Bacterias: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus stercorophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Corynebacterium sp*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus Fragilis* y *Clostridium sp*.
- ❖ Levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces pombe*, *Candida tropicalis*, *Candida, micoderma*, *Candida intermedia*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia membranofaciens*, *P. farinosa*, *Kluyvoromyces fragilis* y *Hansenula anomala*
- ❖ Mohos: *Penicillium citrovorus*, *Penicillium funiculosum*, *Aspergillus variatum*, *Asopergillus niger*, *Trichoderma viride* y *Monilia sitiophila*.

Este gran número de especies demuestra la diversidad de la microflora presente en los jugos de caña; sin embargo, hay algunas especies que se desarrollan en el jugo con más frecuencia que otras y que, por lo tanto, adquieren una gran importancia económica al consumir la sacarosa y formar polisacáridos (Serrano, 2006).

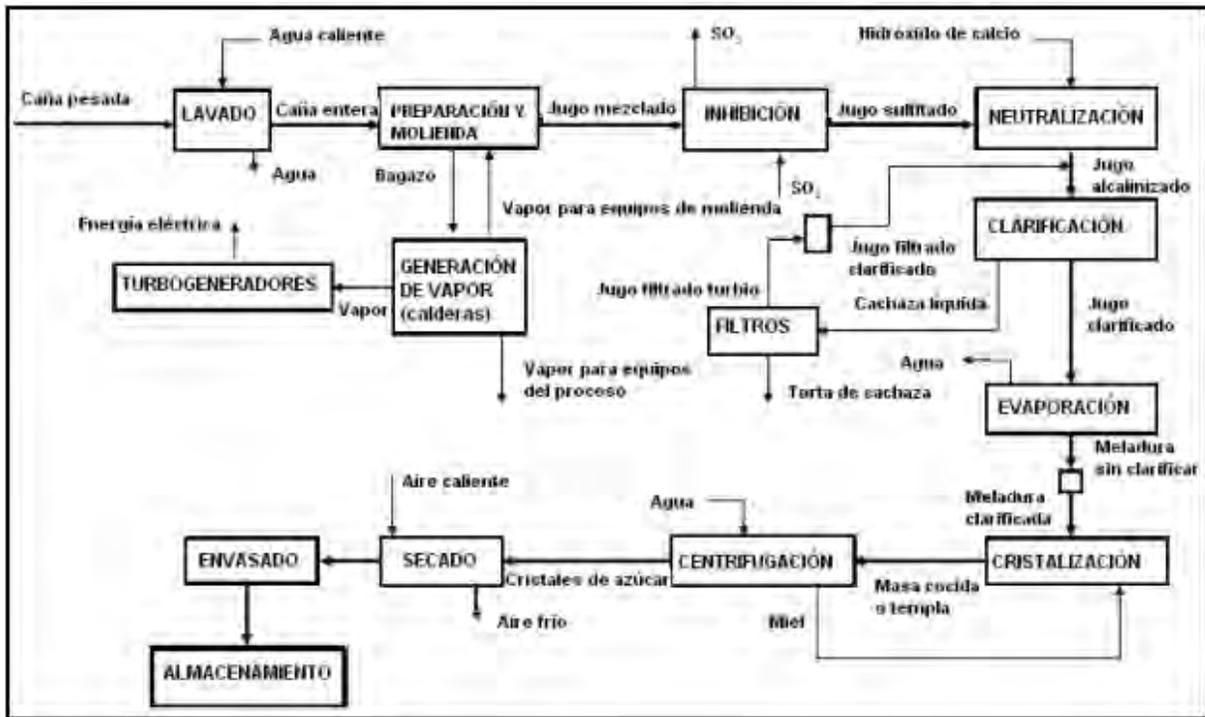


Fig. 1. Proceso de elaboración de azúcar (San Carlos, 2009b)

2.3.2 Microorganismos que afectan la eficiencia de obtención del azúcar

Dependiendo de la composición microbiana determinada por las condiciones de diseño y operación de las plantas, así como de ciertas propiedades de la materia prima, los productos metabólicos de los microorganismos disminuyen el pH, producen componentes coloreados y permanecen en el proceso afectando la calidad de los subproductos posteriores. Tienen todos ellos un efecto “melazogénico”, es decir, que arrastran sacarosa con ellos en las melazas disminuyendo la sacarosa recuperada (Serrano, 2006).

Las bacterias pertenecientes al género *Leuconostoc* (principalmente *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc dextranicum*) y miembros de las bacterias coliformes tales como *Enterobacter amnigenus*, *Rahnella* sp. o *Enterobacter aerogenes*, producen grandes cantidades del polisacárido extracelular conocido como dextrana, cuando se desarrollan con la sacarosa. Esto disminuye el rendimiento en la extracción del azúcar en los ingenios azucareros.

Estos microorganismos utilizan enzimas como la invertasa para hidrolizar la sacarosa en glucosa y fructosa para poderlos utilizar bioquímicamente, siendo *Leuconostoc* el de mayor incidencia en los ingenios azucareros. La dextrana es el nombre genérico de una poliglucosa. Los polisacáridos que son polímeros de glucosa, químicamente son polímeros homólogos de D-glucopiranososa (glucanas), con elevada masa molecular, de 15000 a 20000000 Da. La dextrana varía de acuerdo con la cepa presente. Se forma extracelularmente por la acción de la enzima dextrán-sacarasa, una glucosiltransferasa que cataliza la transferencia de residuos glucosídicos obtenidos de la hidrólisis de la sacarosa a dextrana, liberando D-fructosa (Serrano, 2006).

Estas bacterias del ácido láctico primero fueron objeto de atención por parte de los microbiólogos industriales debido al perjuicio que producían; ocasionalmente, se desarrollaban en las refinerías de azúcar y las grandes cantidades del polisacárido gomoso producido obturaban literalmente las instalaciones. Es así que el deterioro microbiológico causa entonces la mayor parte de las pérdidas de la sacarosa por su inversión, disminuyendo la producción de azúcar y aumentando la producción de melazas; por lo cual es necesario utilizar un plaguicida para evitar que disminuya el rendimiento en la extracción de azúcar (Stanier, 1986).

2.4 Plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos y otros productos agrícolas (CICOPLAFEST, 2004).

2.4.1 Clasificación de los plaguicidas (Morell y Candela, 1998)

Debido a la gran variedad de familias químicas, formulaciones comerciales, mecanismo de acción y uso al que se destinan, los plaguicidas pueden clasificarse de maneras diferentes tales como:

Organismos que controlan

- a) Insecticida. Control de insectos
- b) Acaricida. Control de ácaros
- c) Fungicida. Control de hongos y levaduras
- d) Bactericida. Control de bacterias

- e) Antibiótico. Control de bacterias
- f) Herbicida. Control de hierba y maleza
- g) Rodenticida. Control de roedores
- h) Molusquicida. Control de moluscos

Composición química

- a) Compuestos inorgánicos. Estos son compuestos que carecen de carbono
- b) Compuestos orgánicos. Son aquellos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, fabricados a partir de compuestos químicos básicos; algunos son extraídos de plantas, por lo que se conocen como botánicos. Los compuestos orgánicos sintéticos utilizados como plaguicidas pertenecen a distintos grupos o familias químicas. Cada uno de estos grupos tiene algunas características comunes y en cualquiera de ellos puede haber insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas u otros tipos de plaguicidas
- c) Plaguicidas biológicos. Se llama así a los virus, microorganismos o sus metabolitos, formulados como insumos, que pueden controlar a una plaga en particular.

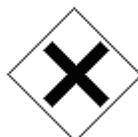
Familia química

- | | | | |
|-------------------------|-------------------------|---|-------------------------------|
| a) Organoclorados | b) Organofosforados | c) CARBAMATOS | d) Piretroides |
| e) Botánicos | f) Biológicos | g) De cobre | h) Tiocarbamatos |
| i) Ftalimidas | j) Carboxamidas | k) Carboximidas | l) Guanidinas y naftoquinonas |
| m) Organoestánicos | n) Orgánicos con azufre | o) Clorofenoxi | p) Dinitrofenoles |
| q) Derivados de la urea | r) Triazinas | s) Derivados de los ácidos tricloroacéticos | t) Bipiridílicos |

Peligrosidad según la Organización Mundial de la Salud (OMS)

Dada la gran importancia que presentan los plaguicidas a nivel mundial, la OMS ha elaborado la clasificación que se presenta en la Tabla 4 (SEDESOL-INE, 2000), clasificando a los plaguicidas por su peligrosidad.

Tabla 4. Clasificación de los plaguicidas por su peligrosidad (SEDESOL-INE, 2000)

Categoría de la OMS	Símbolo pictográfico	DL ₅₀ aguda (rata) de productos formulados (mg kg ⁻¹)			
		Vía oral		Vía dérmica	
		Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
Ia. Extremadamente peligroso "Muy tóxico" Rojo		5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib. Altamente peligroso "Tóxico" Rojo		5-50	20-200	10-100	40-400
II. Moderadamente peligroso "Dañino" Amarillo		50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III. Ligeramente peligroso "Cuidado" Azul	—	500-2000	2000-3000	Más de 1000	Más de 4000
IV. Plaguicidas que parecen no representar peligro en condiciones normales de uso Verde	—	Más de 2000	Más de 3000	Más de 1000	Más de 4000

OMS: Organización Mundial de la Salud; **DL₅₀:** Dosis letal media

Concentración

- a) Plaguicida técnico: La concentración máxima del ingrediente activo obtenido como resultado final de su fabricación, del cual se parte para preparar un plaguicida formulado
- b) Plaguicida formulado: mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes conocidos como "inertes", cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz; constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas.

Persistencia

- a) Ligeramente persistentes: menos de cuatro semanas
- b) Poco persistentes: de cuatro a veintiséis semanas
- c) Moderadamente persistentes: de veintisiete a cincuenta y dos semanas
- d) Altamente persistentes: más de un año y menos de veinte
- e) Permanentes: más de veinte años.

Uso al que se destinan

- a) Agrícola. Uso en diversas extensiones, en sistemas de producción agrícola y en productos y subproductos de origen vegetal
- b) Forestal. Uso en bosques y maderas
- c) Urbano. Uso exclusivo en áreas urbanas, industriales, áreas no cultivadas, drenes, canales de riego, lagos, presas, lagunas y vías de comunicación
- d) Jardinería. Uso en jardines y plantas de ornato
- e) Pecuario. Uso en animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será destinado al consumo humano o a usos industriales. Incluye el uso en animales domésticos
- f) Doméstico. Uso en el interior del hogar
- g) Industrial. Se utiliza como materia prima en el proceso industrial para la formulación de plaguicidas o productos de uso directo.

2.4.2 Carbamatos

Estos plaguicidas se introdujeron alrededor de 1950. Son muy usados en el control de plagas debido a su efectividad y amplio espectro de actividad biológica (insecticidas, fungicidas y herbicidas). Su estructura es un N-ácido estérico sustituido ($R_3OCONR_1R_2$). Los tiocarbamatos ($R_3SONR_1R_2$) también se incluyen en este grupo y se comercializan los carbamatos tipo enol y oxima. El grupo R_1 puede ser un hidrógeno, un metilo o un grupo más complejo, R_2 es

usualmente un metilo y el grupo R₃ incluye un grupo fenilo o un anillo aromático heterocíclico como se presenta en la Figura 2. La alta polaridad, solubilidad en agua y descomposición térmica son características típicas de los plaguicidas carbámicos. Sin embargo, estos atributos no pueden generalizarse a todo el grupo de plaguicidas carbámicos porque sus propiedades varían de unos a otros (por ejemplo, la N-metil oxima y el sulfóxido son muy polares, mientras que el N-metil aril carbamato es mucho menos polar (Soriano *et al.*, 2001):

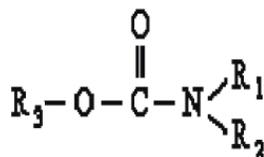


Fig. 2. Estructura de los carbamatos (Soriano *et al.*, 2001)

La toxicidad de los insecticidas carbámicos es igual que la de los compuestos organoclorados inhibe la enzima acetilcolinesterasa, pero con los carbamatos la inhibición es reversible y, por tanto, es menos tóxico para los mamíferos. Algunos carbamatos son altamente tóxicos, por ejemplo, aldicarb y carbofurán, que tienen una DL₅₀ para ratas con la ingestión de 1 a 8-14 mg kg⁻¹, respectivamente. El carbaril es conocido por su gran uso como un insecticida y por su baja toxicidad a los mamíferos (DL₅₀ para ratas por ingestión = 850 mg kg⁻¹) (De-Bertrand y Barceló, 1991).

2.4.2.1 Ditiocarbamatos

Los ditiocarbamatos son compuestos derivados del ácido carbámico donde se reemplaza el O por S teniendo una fórmula general de RSCSNR₁R₂ se muestra en la Figura 3. La mayoría de los ditiocarbamatos son usados como fungicidas; muy pocos son usados como herbicidas. Al menos uno, *metam-sodio*, tiene un importante uso como un nematocida. La clasificación de los ditiocarbamatos está basada en la característica de la sustitución de uno o ambos hidrógenos en cada nitrógeno, como se presenta en la Tabla 5.

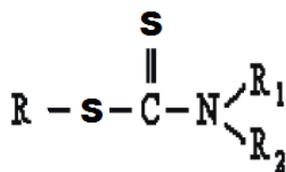


Fig. 3. Estructura de los ditiocarbamatos (Soriano *et al.*, 2001)

Tabla 5. Clasificación de los ditiocarbamatos, propiedades físicas y químicas (Hayes, 1991; Nollet, 2006)

NOMBRE	FÓRMULA	R	NOMBRE COMÚN	NOMBRE COMERCIAL	MM (g mol ⁻¹)	Punto de fusión	SOLUBILIDAD	ρ (g mL ⁻¹)	PRESIÓN DE VAPOR	
Metilditiocarbamato										
Metam-sodio		Na ⁺	<i>Metam-sodio</i> (Metil ditiocarbamato de sodio)	Anafum 4-S	129.17	110°C.	Su solubilidad en agua igual a 722 g L ⁻¹ a 20 °C; ligeramente soluble: acetona, xileno y keroseno; insoluble: mayoría de los disolventes orgánicos	1.21 a 25°C	No volátil	
Dimetilditiocarbamato										
DDC		Na ⁺	Ferbam (hierro III) dimetilditiocarbamato	Ferbam Granuflo/Currier	416.51	180°C	Su solubilidad en agua es de 130 mg mL ⁻¹ a 25°C Soluble en triclorometano, piridina y acetonitrilo	Aproximadamente 0.6 kg L ⁻¹	46 MPa	
Ferbam		Fe ³⁺	Thiram				18 mg L ⁻¹ en agua a 20°C			
Thiram		SC(S)N(CH ₃) ₂	(disulfuro de tetrametilthiuram)	Arasan®, Fernasan®, Nomersan®, Pomarsol®, Puralin®, Rezifilm®		240.44	155-156°C	Ligeramente soluble en etanol y dietileter, soluble en acetona y cloroformo	1.29 a 20°C	2.3 MPa
Ziram		Zn ²⁺	Ziram (dimetilditiocarbamato de zinc)	Corozate®, Fuclasin®, Karbam White®, Mathasan		305.82	250°C	0.03 mg L ⁻¹ a 20°C; ligeramente soluble en etanol y dietil éter; moderadamente soluble en acetona. Soluble en solución alcalina, cloroformo y disulfuro de carbono	1.66 a 23°C	<1MPa
Dietilditiocarbamato										
Sulfallate		-CHCCICH ₂	MANEB (1,2-etanodiol- bi(carbamoditioato)	Dithane M-22®, Manzate	265.29	92-204°C	Moderadamente soluble en agua e insoluble en muchos solventes orgánicos	n.d.	<10 MPa	
			Nabam etilenbisditiocarbamato de sodio	Danoquil, Termil	n.d.	80°C	Totalmente soluble en agua	1.17-1.20 a 25°C	Insignificante	
Etilenbisditiocarbamato										
Anobam		(NH ₄) ₂	ZINEB (etilenbiditiocarbamato de zinc)	Dithane®, Lodacol®, Prizat®	275.75	n.d.	10 mg L ⁻¹ en agua a temperatura ambiente	n.d.	<0,01 MPa	
Maneb		Mn								
Nabam		(Na) ₂								
Zineb		Zn								

R: Radical; MM: Masa molar; PF: Punto de fusión; ρ: Densidad; MPa: mega Pascales; n.d.: No determinado

Una importante ventaja de esta clasificación es que separa compuestos capaces de ser metabolizados a etilentiourea (etilenbisditiocarbamato) de compuestos incapaces de formar este compuesto. El grupo alquílico unido al nitrógeno debe ser un radical corto, ya que la actividad disminuye al aumentar el número de átomos de carbono de dicho radical (Hayes, 1991).

Los ditiocarbamatos se oxidan en presencia de azufre, llegándose a degradar la molécula con oxidantes fuertes, formando ácidos sulfónicos. En el suelo pueden sufrir las reacciones hidrolíticas y de oxidación en muchos casos por acción bioquímica de microorganismos (Cremllyn, 1991).

2.4.2.2 Ditiocarbamato de sodio (*Metam-sodio*, nombre comercial)

El ditiocarbamato de sodio es ampliamente utilizado en la industria de los alimentos pero, principalmente, en la extracción de jugo de caña de azúcar. Su acción radica en la inhibición de *Leuconostoc mesenteroides*, principal responsable de la formación de gomas de dextrana. La ficha técnica, la información toxicológica, la ecológica y la regulatoria del ditiocarbamato de sodio se presenta en las Tablas 6, 7, 8 y 9, respectivamente (COINSA, 2009; Serrano, 2006).

a) Actividad biocida (COINSA, 2009; Newbury, 2009)

El mecanismo de acción de este ditiocarbamato es para eliminar microorganismos. Se fundamenta en su carácter quelante de ciertos metales que son vitales para el funcionamiento de enzimas. Ejemplo de esto se tiene con el magnesio en la clorofila, hierro en los citocromos, cobre en las porfirinas y albúminas, calcio, magnesio y zinc en enzimas hidrolíticas y cobalto en la vitamina B12. En el caso especial del dimetilditiocarbamato de sodio y el bietilenbisditiocarbamato de sodio se tiene una inhibición competitiva en el desarrollo celular, removiendo el ión férrico del citocromo, deteniendo así la cadena transportadora de energía causando la muerte del microorganismo (Cremllyn, 1991). Entre los principales usos de estos ditiocarbamatos como agentes microbicidas se encuentran:

- Control de algas, bacterias y hongos en sistemas de enfriamiento de aguas
- Control de bacterias sulfato-reductoras en agua, para inyección en recuperación secundaria del petróleo
- Control de bacterias en fluidos de perforación de pozos petroleros
- **Control de *Leuconostoc mesenteroides* en jugo de caña en ingenios azucareros**
- Control de hongos y bacterias productoras de bioensuciamiento en equipos húmedos y molinos de la industria papelera.

b) Uso de Metam-sodio

En la industria azucarera y vinícola se utiliza para controlar y combatir a microorganismos, como *Leuconostoc mesenteroides* que utilizan a la sacarosa como sustrato, encontrando el medio ideal para su proliferación en el jugo de caña formando exopolisacáridos.

Tabla 6. Ficha técnica de Metam-sodio (Barpen, 2010)

Información general			
Composición <i>Metam-sodio</i> (ingrediente activo)			
Nombre común	Nombre químico	Familia química	Fórmula
<i>Metam-sodio</i>	Metilditiocarbamato de sodio	Ditiocarbamato	C ₂ H ₄ NaS ₂
Componentes peligrosos	Símbolos	Frases de riesgo	Clasificación (CE)
<i>Metam-sodio</i>	C,N	R22,R31,R34, R43,R50/53	X ₁ . Corrosivo Xn. Nocivo N. Peligroso para el ambiente
Propiedades físicas y químicas específicas del Metam-sodio			
Estado (a 20°C):	líquido		
Color	Amarillo-verde		
Olor	Azufrado		
pH Solución al 42% (a 20°C):	7.5 – 10.5		
Densidad:	1.250 g mL ⁻¹		
Punto de fusión:	- 5 a 0°C		
Punto de ebullición:	97 a 102°C		
Temperatura de descomposición:	No disponible		

Tabla 6. Ficha técnica de *Metam-sodio* (Barpen, 2010) (Cont.)

Punto de inflamación:	>66°C
Temperatura de autoignición:	No determinada
Propiedades explosivas:	No explosivo
Inflamabilidad	No inflamable
Límite de inflamabilidad: Alto Bajo	No disponible
Presión de vapor :	0.0575 Pa a 20°C
Solubilidad: Agua	722 g L ⁻¹ aproximadamente
Coefficiente de partición n-octanol/agua conocido	K _{o/w} : 2.90 (pH 7)
Viscosidad a 20°C: Viscosidad a 40°C:	3.54 cSt 2.03 cSt
Estabilidad y reactividad	
Estabilidad:	El producto es estable si es almacenado y manipulado según las recomendaciones dadas
Condiciones a evitar:	Humedad, temperaturas extremas
Materiales a evitar	Agua, ácidos fuertes acuosos. Es corrosivo del cobre, latón y zinc, y puede ablandar y/o decolorar el hierro
Productos de descomposición peligrosos:	Material combustible. El <i>Metam-sodio</i> se descompone cuando se diluye con agua en metil-isotiocianato (gas lacrimógeno y moderadamente venenoso) y en sulfuro de hidrógeno (gas altamente venenoso). En contacto con ácidos fuertes se descompone en sulfuro de carbono y monometilamina (gases altamente inflamables)

CE: Clasificación y etiquetado; **X₁:** Corrosivo; **X_n:** Nocivo; **N₁:** Peligroso para el ambiente; **K_{o/w}:** Coeficiente de partición octanol-agua; **°C:** Grados Celsius; **cSt:** Centistokes; **R22:** Nocivo por ingestión; **R31:** En contacto con ácidos libera gases tóxicos; **R34:** Provoca quemaduras; **R43:** Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel; **R50/53:** Muy tóxico para los organismos, a largo plazo afecta negativamente el medio acuático

Tabla 7. Información toxicológica de *Metam-sodio* (Barpen, 2010)

Información toxicológica			
Toxicidad aguda (IA):	DL₅₀ Oral mg kg⁻¹	DL₅₀ Cutánea mg kg⁻¹	CL₅₀ Inhalación (4 h) mg L⁻¹ aire
Ratas	820	800	470
Conejos	815	<2020	800
Irritación: conejos	Ojos: moderada irritación Piel: severa irritación y corrosivo		
Sensibilización: cobayo	Sensibilizante		
Efectos sobre los órganos de destino:	Refuerzo interior, nasal, riñón, hígado, vejiga		
Carcinogenicidad (IA):	No muestra efectos cancerígenos en experimentos con animales		
Mutagenocidad (IA):	No muestra efectos mutagénicos en experimentos con animales		
Teratogenicidad (IA):	No muestra efectos mutagénicos en experimentos con animales		
Experiencia humana:	Provoca quemaduras graves, dolor de cabeza, náusea, problemas respiratorios, irritación de los ojos		
Toxicidad aguda (isotiocianato de metilo (ITCM); producto de descomposición)			
	DL₅₀ Oral mg kg⁻¹	DL₅₀ Cutánea mg kg⁻¹	CL₅₀ Inhalación (4 h) mg L⁻¹ aire
Ratas	55 -220	2870	1.9
Ratones	90-104	1870	<0.075
Conejos	n.d.	33-202	n.d
Irritación: conejos	Ojos: corrosivo Piel: severa irritación		
Sensibilización: cobayo	Sensibilizante		
Toxicidad aguda [Sulfuro de hidrógeno (SH); producto de descomposición]:			
Valores de toxicidad en humanos:			
Dosis letal hombre: 600 mg L ⁻¹ /30 min.; 800 mg L ⁻¹ , inmediatamente /letalmente			
Efectos tóxicos severos: 200 mg L ⁻¹			
Síntomas de enfermedad : 50 mg L ⁻¹			
Valores de toxicidad en animales			
CL₅₀ (ratas)	444 mg L ⁻¹ ; 4 h de exposición		
CL₅₀ (ratones)	673 mg L ⁻¹ ; 1 h de exposición		
CL₅₀ (ratas y ratones)	1000 mg L ⁻¹ ; 15-30 min de exposición		
CL₅₀ (ratones hembras)	985 mg L ⁻¹ ; 15-30 min de exposición		

DL₅₀: Dosis letal media; CL₅₀: Concentración letal media; IA: Ingrediente Activo; ITCM: Isotiocianato de metilo; SH: Sulfuro de hidrógeno; n.d.: No determinado; h: Horas.

Tabla 8. Información ecológica de *Metam-sodio* (Barpen, 2010)

Información ecológica			
Datos ambientales del ingrediente activo (IA):			
Degradabilidad:	Se degrada rápidamente en el ambiente por contacto con la humedad del suelo. Medio ambiente acuático. De acuerdo con los resultados de los ensayos de biodegradabilidad este producto es considerado como fácilmente biodegradable		
Potencial de bioacumulación	Mínima		
Movilidad:	$K_{oc} = < 50$		
Tiempo de descomposición	Suelos arcillosos: 1 h Suelos levemente arenosos: 5 h El producto de descomposición ITCM es volátil y se disipa del suelo en dos o tres semanas		
Ecotoxicidad: Tóxico para peces			
Carpa	Límite de toxicidad media $LT_m > 10 \text{ mg L}^{-1}$		
Pulga acuática	Límite de toxicidad media $LT_m > 0.5 \text{ mg L}^{-1}$		
Dafnia	$CE_{50} (48H) = 1 \text{ a } 10 \text{ mg L}^{-1}$		
Algas	$CE_{50} (72H) = 0.56 \text{ mg L}^{-1}$		
Bacteria	$IC_{50} (3H) = 4.36 \text{ mg L}^{-1}$		
Aves	CL₅₀ Aguda oral		
Codorniz blanca > 5000 mg L ⁻¹	Codorniz japonesa >5000 mg L ⁻¹	Faisán de cuello anillado >5000 mg L ⁻¹	Pato silvestre >5000 mg L ⁻¹

CL₅₀: Concentración letal media; **CE₅₀**: Concentración efectiva media; **IC₅₀**: Concentración inhibitoria media; **IA**: Ingrediente activo; **ITCM**: Isotiocianato de metilo; **LT_M**: Límite de toxicidad media; **K_{oc}**: Coeficiente de partición octanol-carbono

Tabla 9. Información regulatoria de *Metam-sodio* (Barpen, 2010)

Información regulatoria		
Símbolo(s) e indicador de peligro		
	<p>X₁; Corrosivo</p> <p>N₁; Peligroso para el ambiente</p>	
Frases R	R22	Nocivo por ingestión
	R31	En contacto con ácidos libera gases tóxicos
	R34	Provoca quemaduras
	R43	Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel
	R50/53	Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático
Frases S	S12	Consérvese bajo llave y manténgase fuera del alcance de los niños
	S26	En caso de contacto con los ojos, lavarse inmediatamente y abundantemente con agua y acudir al médico
	S36/37/39	Usar ropa de protección y guantes adecuados, protección para ojos y cara
	S45	En caso de accidente o molestia, acudir inmediatamente al médico y mostrar la etiqueta o el envase
	S60	Eliminar el producto y su recipiente como residuos peligrosos
	S61	Evitar su liberación al medio ambiente.

Entre esos polisacáridos destacan especialmente las dextranas y levanas, las cuales afectan el proceso de producción de azúcar bloqueando los equipos, obstruyendo tuberías, coladores y bombas. Afecta la polarización de la sacarosa, lo que ocasiona falsas concentraciones de sacarosa. Aumentan la viscosidad de los licores causando una mala cristalización. Forman biopelículas que se convierten en reservorio de gran diversidad de microorganismos que se agrupan en comunidades sinérgicas (Serrano, 2006).

c) Métodos de cuantificación de ditiocarbamatos

Para la caracterización de los diferentes ditiocarbamatos se efectúa con la información suministrada por el análisis elemental de C, N, H y S; análisis termogravimétricos; espectroscopías ultravioleta visible (UV-V), infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de protón y espectrometría de masas. Así mismo, para su cuantificación se ha estudiado la oxidación en electrodo de mercurio (polarografía clásica y voltamperometría); el proceso redox en electrodo rotatorio de grafito y platino; la adsorción de estos compuestos en la interfase mercurio-disolución; la cromatografía en capa delgada, gases y líquido de alta eficacia; se han optimizado métodos para la cuantificación indirecta de aminas por conductometría, potenciometría y espectrofotometría (Crovetto *et al.*, 2009).

Espectrofotometría UV-VIS

Por esta técnica el etilenbisditiocarbamato se descompone a disulfuro de carbono por goteo de la muestra en ebullición 1:1 con ácido sulfúrico. El disulfuro de carbono es absorbido en dietanolamin-acetato cúprico. Esta prueba es para determinar 0.001-0.02, 0.02-0.2 y 0.2-1 mg de la sustancia a analizar. Las interferencias por el disulfuro de carbono o dióxido de carbono se evitan por un prelavado con solución de acetato de hierro. En caso de un gran contenido de dióxido de carbono se usa un estropajo Mallscosorb. Para un intervalo bajo leer a una longitud de onda (λ) de 380 nm; para un intervalo alto leer a $\lambda = 435$ nm (Dee Snell, 1986).

Cromatografía en capa fina o delgada

Para compuestos que contengan azufre, cromatográficamente estas sustancias no difieren sustancialmente de compuestos que contengan oxígeno. El átomo de azufre contribuye a la polaridad de la sustancia sólo un poco menos que un átomo de oxígeno. Sin embargo, la presencia de azufre en la molécula requiere de reactivos de detección específica. El reactivo común Grote puede detectar los disulfuros (puntos azules), si el cromatograma es sumergido después en una solución de 2 g de cianuro de sodio en 5 mL de agua y 95 mL de etanol (Mikes, 1979).

Cromatografía de gases

Este método puede ser utilizado para la determinación del total de los residuos de plaguicidas a base de ditiocarbamato (expresada como CS₂), por cromatografía de gases en materiales biológicos como frutas, hortalizas, plantas y bebidas. Los residuos de plaguicidas a base de ditiocarbamato se reducen en un reactivo a disulfuro de carbono en botellas con un límite máximo de temperatura de 80°C. El disulfuro de carbono liberado se mide en la “cabeza” (el espacio libre gaseoso de la parte superior de la botella) por cromatografía de gases con detección fotométrica de flama (modo de azufre). Los residuos se expresan en términos de mg de disulfuro de carbono liberado por kg de muestra. El cromatógrafo de gases debe estar equipado con un detector fotométrico de flama y un filtro de azufre a $\lambda=395$ nm. Las condiciones típicas utiliza cualquier columna que separe adecuadamente el sulfuro de carbono. El tipo de gas transportador, el caudal y la temperatura deben seleccionarse para dar un tiempo de retención para el pico de disulfuro de carbono de alrededor de 1 minuto. Para ello se utiliza una columna Supelco SPB-1 de 15 m con un diámetro interno (d.i.) de 0.53 mm y un espeso de película de 0.3 μm . El gas acarreador utilizado es nitrógeno con un flujo de 20 mL min⁻¹, la temperatura en el horno es de 50°C, la del inyector de 80°C y la del detector de 100°C. La obtención de la muestra es por medio de botellas cabeza vacía en inglés “headspace”. Las botellas de 250 mL cuentan con tapones de rosca y tapón de goma, el cual debe estar en buen estado para garantizar un sellado hermético (Hughes, 2006, Peña *et al.*, 2007).

Espectrofotometría de absorción atómica

Prueba cualitativa: El cobre reacciona con dietilditiocarbamato de sodio en una solución alcalina formando un complejo carbamato de cobre; teniendo una coloración de amarillo a café de acuerdo a la cantidad de metal presente. Prueba cuantitativa: El color es medido en solución acuosa. Se adiciona citrato para prevenir interferencias debido al hierro y la precipitación de fosfatos. El complejo carbamato de cobre puede ser extraído con tetracloruro de carbono (CCl₄) y se lee la cantidad de cobre que no se pudo quelar por espectrometría de absorción atómica (Kirk, 1996).

Titulación colorimétrica

Para la cuantificación de bietilenbisditiocarbamato de sodio y ditiocarbamato de sodio se realiza una titulación colorimétrica usando como disolvente de la muestra ácido acético glacial y como indicador la solución de violeta cristal; el ácido perclórico es usado para titular la muestra hasta el punto final que es la aparición de un color verde brillante (verde esmeralda).

Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

Las muestras sólidas pueden ser tratadas con L-cisteína en solución de EDTA, para transformar sales de ditiocarbamato de hierro, zinc y manganeso en sales de ditiocarbamatos de sodio solubles en agua. El ion ditiocarbamato es extraído a pH de 6.5-8.0 con cloroformo/hexano (3:1) como un par de ion tetrabutilamonio y luego es alquilado con yoduro de metilo para formar S-metilditiocarbamato. Los metilésteres formados son analizados por CLAR con detector UV a una λ de 272 nm. Se usa una columna de 20 cm, 4 mm d.i. y una precolumna 5 cm, 4 mm d.i., empacadas con Nucleosil RP-18 de 5 μ m. La fase móvil es una mezcla de agua y acetonitrilo en proporción de 3:2, con una velocidad de flujo de 1.2 mL min⁻¹, un detector UV con arreglo de diodos. Los extractos deben ser filtrados con fibra de vidrio para su análisis (Nollet, 1996). Se encontraron diferentes metodologías para determinar ditiocarbamatos por cromatografía de líquidos de alta resolución. Se resumen las condiciones cromatográficas investigadas en la Tabla 10.

Tabla 10. Condiciones cromatográficas para determinar ditiocarbamatos mediante CLAR

Condición	Referencias					
	Nollet, 1996	Morell y Candela, 1998	Nitowski <i>et al.</i> , 1997	Crnogorac y Schmauder, 2008	Blasco <i>et al.</i> , 2003	Codex, 2007
Columna	200 mm x 4 mm Nucleosil RP-18 (5 μ m)	240 mm x 4.6 mm Spehrisorb ODS 2		150 mm x 4.6 mm ZIC-pHILIC (5 μ m)	150 mm x 4.6 mm Phenomenex C ₈ / Cartucho de Seguridad 4 x 2 mm d.i. Phenomenex C ₁₈	C ₁₈ (250x4 mm) (5 μ m)
Precolumna	500 mm x 4 mm Nucleosil RP-18 (5 μ m)			200 mm x 2.1 mm SeQuant GmbH		
Fase móvil	Agua: Acetonitrilo (3:2)	Tetrabutilamonio 1 mM a pH 8.5 (EDTA 0.001 M) en metanol a 2.5%		Acetonitrilo/10 mM Amoniaco acuoso [90:10(5 min), 60:40(3 min)]	Metanol [10% (0-7.5 min), 70% (7.5-12.5 min), 90% (12.5-15 min)]	Acetonitrilo- Agua- Metanol (25:65:35)
Velocidad de flujo	1.2 mL min ⁻¹			0.7 mL min ⁻¹	0.8 mL min ⁻¹	1.0 mL min ⁻¹
Volumen de inyección	500 μ L			5 μ L	100 μ L	
Detector	UV; 272 nm	UV; 254 nm	UV; 254 nm		UV; 254 nm	UV; 272 nm

d.i.: Diámetro interno; **RP:** Fase inversa por sus siglas en inglés (*reverse phase*); **mL:** Mililitros; **mM:** Milimolar; **M:** Molar; **min:** Minutos; **μ L:** Microlitros; **nm:** Nanómetros; **mm:** Milímetros; **μ m:** Micrómetros.

2.5 Normativa

2.5.1 FAO/OMS

Con base en su uso, el ditiocarbamato debe acoplarse a la base legal y técnica de la norma sanitaria aplicable a los azúcares y jarabes destinados al consumo humano. Tiene como base legal el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas aprobado por Decreto Supremo, Transitoria y Final, la expedición de normas sanitarias aplicables a la fabricación de productos alimenticios y tiene como referencia técnica la norma internacional del Codex Alimentarius CODEX STAN 212-1999 (Enmienda 1-2001) para “Azúcares”. Los residuos de plaguicidas en los alimentos y sus límites máximos permitidos se ajustan a lo establecido por la Autoridad de Salud y por la Comisión Conjunta FAO/OMS del Codex Alimentarius, los cuales están sujetos a modificación según los avances en la investigación científica sobre la evaluación de los riesgos (MINSA, 2009) como se presenta en la Tabla 11.

Tabla 11. Límite máximo residual (LMR) de plaguicidas en caña de azúcar y maíz (MINSA, 2009)

Plaguicida	Límite máximo residual (LMR) en mg kg ⁻¹		
	Caña de azúcar	Maíz dulce (granos)	Maíz dulce (en mazorca)
2,4d	0.05	n.d	0.05
Aldicarb	0.1	n.d	n.d
Azinfos-metilo	0.2	n.d	n.d
Carbofuran	0.1	n.d	n.d
Etoprofos	0.02	n.d	n.d
Propiconazol	0.05	n.d	n.d
Tebufenozida	1	n.d	n.d
Disulfoton	n.d	0.02	n.d
Lindano	n.d	0.01	n.d
Carbarilo	n.d	n.d	0.1
Cipermetrin	n.d	n.d	0.05
Clorotalonilo	n.d	n.d	0.01
Clorpirifos	n.d	n.d	0.01
Deltametrin	n.d	n.d	0.02
Diazinon	n.d	n.d	0.02
Disulfoton	n.d	n.d	0.02
Ditiocarbamato de sodio	n.d	n.d	0.1
Fenvalerato	n.d	n.d	0.1
Forato	n.d	n.d	0.05
Glifosato	n.d	n.d	0.1
Imidacloprid	n.d	n.d	0.02
Malation	n.d	n.d	0.02
Metomilo	n.d	n.d	2 basado en el uso de Tiodicarb [®]
Permetrin	n.d	n.d	0.1
Pirimicarb	n.d	n.d	0.05
Spinosad	n.d	n.d	0.01

LMR: Límite máximo residual; **n.d;** No determinado.

2.5.2 Unión Europea (UE)

Con la base de datos de plaguicidas de la Unión Europea, que se presenta en la Tabla 12, el nivel máximo de residuos de cualquier tipo de ditiocarbamatos (expresados como disulfuro de carbono), aplicado para la caña de azúcar, es de 0.05 mg kg⁻¹ (Unión Europea, 2009). Es importante mencionar que en la metodología que se emplea, los plaguicidas se transforman en CS₂, cuantificándose por medio de cromatografía de gases. Esto impide la cuantificación del ditiocarbamato de sodio solamente.

Tabla 12. Límite máximo residual (LMR) de ditiocarbamatos en caña de azúcar (Unión Europea, 2009)

Código	Grupos y ejemplos de productos individuales para los cuales aplica LMR	Ditiocarbamatos (ditiocarbamatos expresados como CS ₂ , incluyendo maneb, mancozeb, metiram, propineb, thiram y ziram)
900020	Caña de azúcar	0.05 mg kg ⁻¹ (0.125 mg L ⁻¹)

2.5.3 CICOPRAFEST

En México existe una Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (CICOPRAFEST), la cual se enfoca a la protección de la salud y al manejo adecuado de plaguicidas y fertilizantes en la agricultura y medidas fitosanitarias. En el catálogo de plaguicidas expedido por la CICOPRAFEST, se encuentra el dimetilditiocarbamato de sodio denominado como *Metam-sodio* (nombre común). Este compuesto viene reportado para uso agrícola como fumigante de suelos en presiembra y en el tratamiento de suelos en viveros, semilleros, tabaco, maceta y áreas de cultivo. Pero todavía no se ha desarrollado un límite máximo de residuos (LMR) para su uso como bactericida en la caña de azúcar y/o jugo de caña como se muestra en la Fig. 4 (CICOPRAFEST, 2004).

Metam-sodio				
Agrícola				
Fumigación de suelos en presiembra				
Presentación	Equivalente g I.A./L o kg	Categoría toxicológica	Uso autorizado	LMR (ppm)
Solución acuosa	510	I		
Fumigación de suelos				
Líquido soluble	512	I		
Solución acuosa	375	I		
	375	I		
	510	I		
	516	I		
	549	I		
Tratamiento de suelo en viveros, semilleros, tabaco, macetas y áreas de cultivo				
Solución acuosa	375	I		
	481	I		

g:Gramos; I.A.: Ingrediente activo; L: Litros; kg: Kilogramos; LMR: Límite máximo residual; ppm: Partes por millón.

Fig. 4. Ficha técnica de Metam-sodio (CICOPRAFEST, 2004)

Capítulo 3. Fundamentos analíticos

3.1 Cromatografía (Gómez y Serrano, 2010)

A continuación se presenta el documento compilado por Gómez y Serrano en 2010 sobre los fundamentos de la cromatografía. En algunos párrafos, el documento está copiado a la letra y en otros se adicionaron datos sobre esta investigación en particular.

La cromatografía es un método de separación fisicoquímica para la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Ningún otro método de separación es tan potente y de aplicación tan general como la cromatografía. En este método se tiene en común el uso de una fase estacionaria y una fase móvil. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico.

Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible y que se fija a una columna o una superficie sólida. Estas fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas separadas o “discretas” (por *discrete* en inglés que significa separado) que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente.

3.1.1 Tipos de separaciones cromatográficas

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de acuerdo con la naturaleza de la fase móvil y estacionaria involucradas como se muestra en la Figura 5. Si la fase móvil es un gas, entonces se tiene la cromatografía de gases; si la fase móvil se encuentra en estado líquido, se tiene la cromatografía de líquidos. Dentro de esta última, dependiendo de la fase estacionaria, se pueden tener columnas cilíndricas o superficies planas. A continuación se explicará cada uno de estos métodos.

3.1.1.1 Cromatografía de gases (CG)

Esta técnica se basa en la volatilización de la muestra y su posterior inyección en la cabeza de una columna cromatográfica. Para la elución de la muestra se usa un gas inerte como fase móvil. De esta manera, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, simplemente transporta al analito a través de la columna.

Existen dos tipos de cromatografía de gases, cromatografía gas-sólido (GSC, por sus siglas en inglés) en donde la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos se produce mediante adsorción y la cromatografía gas-líquido (GLC, por sus siglas en inglés) en donde la fase estacionaria son moléculas de líquido suspendidas en un gas inerte, ésta es la que se usa más ampliamente.

3.1.1.2 Cromatografía de líquidos (CL)

En esta técnica se tiene que la fase móvil es un líquido mientras que la fase estacionaria es un sólido. Se divide en dos tipos, cromatografía en columna y cromatografía plana que a continuación se explicarán.

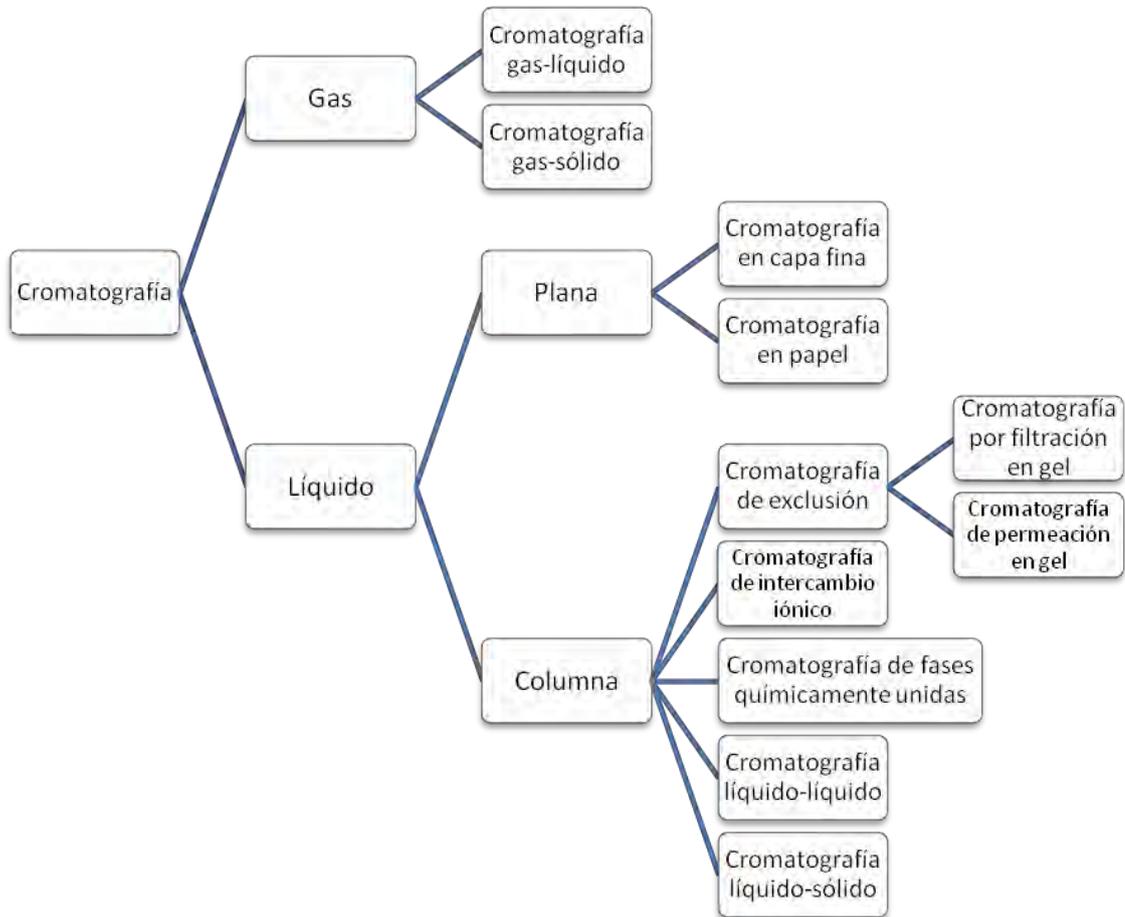


Fig. 5. Clasificación de los métodos cromatográficos (Martínez-González, 2007)

Cromatografía en columna

En la cromatografía en columna, un tubo estrecho contiene la fase estacionaria, a través de la cual se hace pasar la fase móvil por presión o gravedad. El proceso comienza cuando una única porción de la muestra se introduce en la parte superior de la columna al tiempo cero (t_0), después de lo cual los componentes de la muestra se distribuyen entre las dos fases. Así, la adición de nueva fase móvil adicional llamada eluyente, hace que la fase móvil anterior, que contiene una parte de la muestra avance por la columna a la cual se le denomina tiempo de retención (t_R). Las sucesivas adiciones de fase móvil hacen avanzar las moléculas de soluto (analito) por la columna en una serie de equilibrios entre la fase estacionaria y la fase móvil (Figura 6).

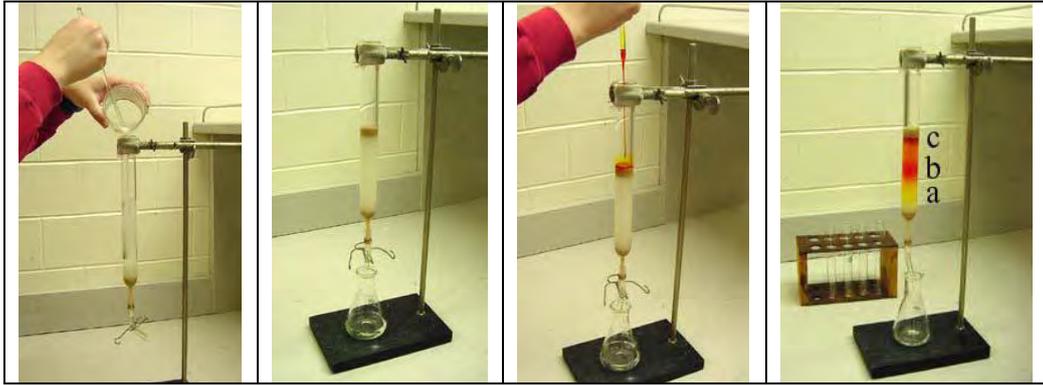


Fig. 6. Cromatografía en columna (SARA, 2010)

Dentro de la cromatografía en columna se encuentra la *Cromatografía de exclusión por tamaño*; la cual separa las partículas en función del tamaño. Es una cromatografía de baja resolución y sirve para determinar estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas y es la técnica común para averiguar la masa molecular de polímeros sintéticos y naturales.

La *Cromatografía de intercambio iónico* es aquella donde la retención está basada en la atracción entre iones del soluto y la carga complementaria de la fase estacionaria. Si los iones del soluto y la fase estacionaria tienen la misma carga, son excluidos. Algunos intercambiadores de iones son: resinas de poliestireno, celulosa y silicona porosa.

Cromatografía plana

En esta variante, la fase estacionaria se fija sobre una capa plana y la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad como puede verse en la Figura 7.



Fig. 7. Cromatografía plana (SARA, 2010)

3.2 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

La cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) es una técnica cromatográfica usada para separar componentes mediante las interacciones químicas entre el analito y la columna cromatográfica. Básicamente es un sistema compuesto de un reservorio de fase móvil, bomba, inyector, columna de separación y detector. El analito se pasa a través de una columna de la fase estacionaria bombeando la fase móvil líquida con alta presión. La muestra se introduce en pequeños volúmenes a la corriente de la fase móvil y allí se retarda por medio de interacciones químicas con la fase estacionaria mientras atraviesa la columna.

El retardo se conoce como tiempo de retención (t_R) y depende de la naturaleza del analito, de la fase estacionaria y de la composición de la fase móvil. Los solutos más comúnmente usados en la fase móvil son combinaciones de agua grado cromatográfico con líquidos orgánicos, tales como el metanol, acetonitrilo y algunas ocasiones ácido trifluoroacético para actuar como formador de pares iónicos, para contribuir a la separación de los analitos se usan sales amortiguadoras o “*buffers*” por su nombre en inglés. Dichas combinaciones introducen el concepto de gradiente de elución que consiste en la variación de la composición de la fase móvil, para elución óptima y obtener la máxima separación de picos en el detector (Gómez y Serrano, 2010). La cromatografía de líquidos de alta resolución es ideal para muestras de baja presión de vapor, para compuestos iónicos, compuestos de masa molecular elevada y compuestos termolábiles (Escudero, 2010).

3.2.1 Tipos de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

3.2.1.1 Cromatografía de fase normal

Fue el primer tipo de cromatografía de líquidos. En este método se usa una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar, la adsorción del analito depende de su polaridad y de las fuerzas de interacción no sólo de los grupos funcionales, sino también de factores estéricos e isómeros estructurales, afectando directamente el tiempo de elución. Los disolventes polares ayudan a disminuir este tiempo de retención, mientras que disolventes no polares lo aumentan.

3.2.1.2 Cromatografía de fase inversa

Este tipo de cromatografía líquida es la más común. En esta técnica se usa una fase estacionaria no polar y una fase móvil moderadamente polar. La fase estacionaria típica es sílice químicamente modificada con grupos no polares como hidrocarburos saturados: C₁₈ octadecil, C₈ octil, C₄ tetrametil, C₂ dimetil y la fase móvil utilizada son mezclas de agua con disolventes orgánicos H₂O + (CH₃OH, THF, CH₃CN); la polaridad de la fase móvil se debe al mayor porcentaje de agua (Escudero, 2010). Se pueden adicionar disolventes polares que incrementan el tiempo de retención y los disolventes no polares lo disminuyen, siendo éste mayor para moléculas no polares. Existen modificadores de la fase móvil que afectan a la retención del analito. Por ejemplo, la adición de sales inorgánicas causa un incremento lineal en la tensión superficial de soluciones acuosas, aumentando el tiempo de retención de analito y modificando el pH, formando pares iónicos para neutralizar la carga de estos.

3.2.2 Instrumentación asociada a la CLAR

3.2.2.1 Bomba

La bomba tiene la función de proveer un flujo continuo del eluyente a través del inyector, la columna y el detector. Los requisitos de una bomba para cromatografía de líquidos son: intervalos de flujo de 0.01 a 10 mL min⁻¹, intervalos de presión de 1 a 5000 psi y pulsos de presión <1% para cromatografía de líquidos de fase normal o inversa. Existen distintos tipos de bombas, de presión constante y de flujo constante: la primera evitan los pulsos de presión y la segunda es capaz de mantener el flujo constante. Dentro de estas últimas se encuentran las de pistón recíproco, pistón dual y desplazamiento positivo.

a) Medidores de presión

Son indicadores de fallos en el sistema e indican cuando un flujo continuo falla por motivos de presión y si existe alguna fuga en la infraestructura del sistema.

b) Filtros

Situados entre la bomba y el inyector de muestras para evitar la entrada de ciertas sustancias y evitar el colapso de la columna. Normalmente estos filtros están compuestos de acero poroso.

c) Fase móvil

Las características que debe tener una fase móvil es utilizar disolventes puros (de grado cromatográfico), que disuelva a la muestra, tener baja viscosidad para reducir las caídas de presión, ser compatible con el detector utilizado, no interferir con el analito en estudio, no ser volátil, no disolver a la fase estacionaria así como tener menor afinidad por la fase estacionaria con respecto a los analitos de interés (Escudero, 2010).

d) Gradiente de elución

En cromatografía de líquidos, la fase móvil puede ser un solvente puro o una mezcla de solventes y, dependiendo de la forma en que se usa el solvente, se tienen dos métodos:

Método isocrático: Cuando durante toda la separación se utiliza siempre el mismo solvente, se denomina isocrática, sin embargo es normal realizar un gradiente de composición del solvente a lo largo de la cromatografía para mejorar la eficiencia y acortar la duración del proceso.

Gradiente de elución: Éste es un término que se utiliza para describir el proceso mediante el cual se combina la composición de la fase móvil mediante bombas mezcladoras que pueden ser programadas.

Cuando se desarrolla un análisis usando un gradiente se deben tener presentes dos objetivos: obtener la mejor resolución de los componentes de la muestra en el menor tiempo posible y asegurar alta precisión y exactitud.

Para obtener buenos resultados con el gradiente seleccionado se deben tener en cuenta cinco pasos fundamentales; determinar la composición inicial y final de la fase móvil, ajustar el tiempo del gradiente, determinar la curva del gradiente (lineal, cóncava o convexa), ajustar la velocidad de la fase móvil para mejorar la resolución y regresar a la composición inicial de la fase móvil (Quiminet, 2010).

3.2.2.2 Inyectores

Deben introducir muestras líquidas en un intervalo de volumen desde 0.1 μL a 100 μL con una alta precisión y alta presión. Normalmente se usan inyectores automáticos que poseen válvulas de 6 puertos con un bucle que permite no sólo la inyección de muestra sino también la purga del sistema y la eliminación de burbujas.

3.2.2.3 Columna

Las columnas generalmente son tubos de acero inoxidable con diferentes dimensiones: longitud de 30, 50, 75, 100, 150 y 300 mm, diámetro de 2.1, 3, 4 y 4.6 mm. El tamaño de partícula del empaque se encuentra entre 3, 5 y 10 μm y la forma de partícula es irregular o esférica. Los cuidados que se deben tener en una columna cromatográfica son: la instalación, la introducción de muestras limpias, la contaminación por fase móvil o muestra, el almacenamiento de forma adecuada, el lavado después de utilizarla con disoluciones reguladores de pH (Escudero, 2010).

a) Fase estacionaria

Las fases químicamente unidas son regularmente de gel de sílice, C_8 , C_{18} , ciano, amino, resinas, polímeros. Tiene una carga de carbono de 5 a 20% m/m, un intervalo de pH especificado, un límite de presión de trabajo también especificado y debe ser compatible con la fase móvil. Las precauciones que se deben tomar en cuenta son las de no exceder la presión de trabajo o que ocurran cambios bruscos de presión, utilizar las fases en un intervalo de pH adecuado, no utilizar ácidos ni bases muy concentrados, filtrar la muestra y la fase móvil (Escudero, 2010).

b) Tubos conectores

Son todos aquellos tubos que transportan las sustancias de columna a columna, de columna a detector o de detector a detector. No deben superar los 0.634 mm de diámetro interno o causarán picos en las mediciones.

c) Termostatos de columna

Son importantes para mantener la columna a una temperatura óptima, sobre todo para análisis cualitativos, puesto que las variaciones de temperatura pueden cambiar la viscosidad del eluyente e influir en el volumen retenido.

3.2.2.4 Detectores

Existen diferentes tipos de detectores para cromatografía de líquidos y se usan dependiendo de la naturaleza del analito. Uno es el detector de conductividad electrolítica, que es muy común con la cromatografía de intercambio iónico. Los detectores electroquímicos se basan en la reacción de oxidación/reducción del analito con un electrodo. El detector de fluorescencia es el detector más usado y permite hacer un análisis cualitativo, puesto que las sustancias al ser excitadas con ciertas longitudes de onda emiten longitudes de onda únicas en el espectro ultravioleta para cada sustancia. También existe el detector IR (índice de refracción), donde la detección implica la medida del cambio del índice de refracción de la columna de eluyente. Se mide la diferencia entre el índice de refracción de la fase móvil y la muestra. El detector UV/VIS (Ultravioleta/Visible), es básicamente un espectrofotómetro que mide el cambio que sufre un haz luminoso al atravesar la muestra, midiendo la absorbancia de las sustancias. El detector de dispersión de luz evaporativa nebuliza la muestra de la columna hasta formar un aerosol, después se vaporiza el disolvente y se forman gotas de soluto, y finalmente la celda de dispersión de luz detecta su composición.

3.2.2.5 Identificación y cuantificación

En un cromatograma de líquidos se obtiene la información cuantitativa en función de las áreas bajo la curva de los picos y no de sus alturas, ya que estas últimas varían por diversos factores, como son la velocidad de inyección, la velocidad de flujo y la temperatura. El análisis cuantitativo comúnmente se realiza empleando curvas de calibración, las cuales requieren de estándares para prepararse. El análisis cualitativo se efectúa mediante la comparación de los tiempos de retención; es decir, el tiempo que tarda un analito en recorrer la columna cromatográfica, entre el compuesto estándar y la muestra bajo las mismas condiciones cromatográficas (Peña *et al.*, 2007).

En la Figura 8 se encuentra un diagrama general de la instrumentación de la cromatografía de líquidos de alta resolución.

3.3 Tipos de extracción

3.3.1 Extracción en fase sólida (EFS)

Para llevar a cabo un proceso de análisis, sin duda una de las etapas más críticas es el tratamiento de la muestra. Cuando se trata de muestras sólidas, como son algunos alimentos, el proceso de tratamiento comienza con la homogeneización para permitir una toma de muestra representativa y para aumentar el área superficial, lo que facilita la extracción de los analitos.

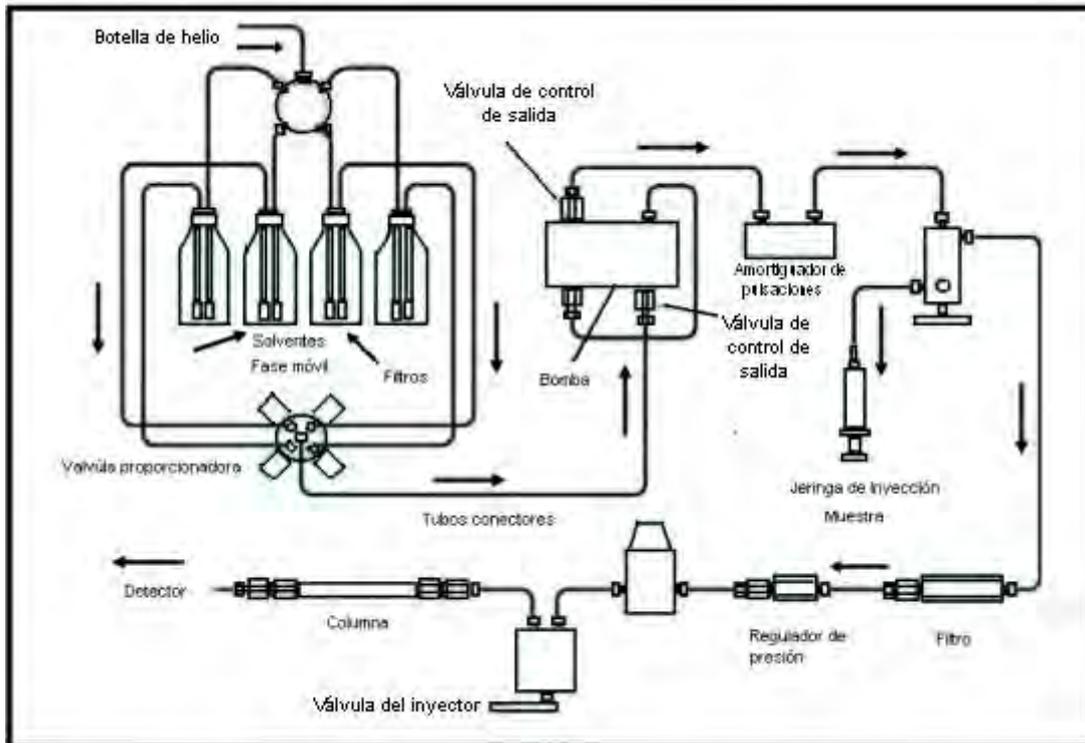


Fig. 8. Instrumentación del CLAR (Skoog et al., 1997)

A fin de facilitar la trituración y dispersión de la muestra, con frecuencia es necesario adicionar un disolvente, que normalmente es agua. Una de las maneras de realizar la extracción de los analitos consiste en dispersar la matriz sobre una fase sólida.

Los procedimientos de purificación por extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) se basan en el uso de dispositivos comerciales que contienen entre 50 y 1000 mg de un sólido poroso particulado, que generalmente es sílice o resinas poliméricas (polipropileno). Enseguida los analitos son aislados de la matriz, extrayéndolos con un fluido adecuado, que generalmente es un disolvente inmiscible con el agua. Una vez que se ha conseguido esto se emplea la secuencia de la Figura 9 (Pawliszyn, 2002).

1. Activar el adsorbente con un disolvente adecuado
2. Pasar la disolución que contiene los analitos de interés a través del adsorbente activado
3. Lavar el adsorbente para permitir eliminar el mayor número de interferencias posibles
4. Eluir los compuestos de interés mediante el paso del volumen necesario de una disolvente adecuado

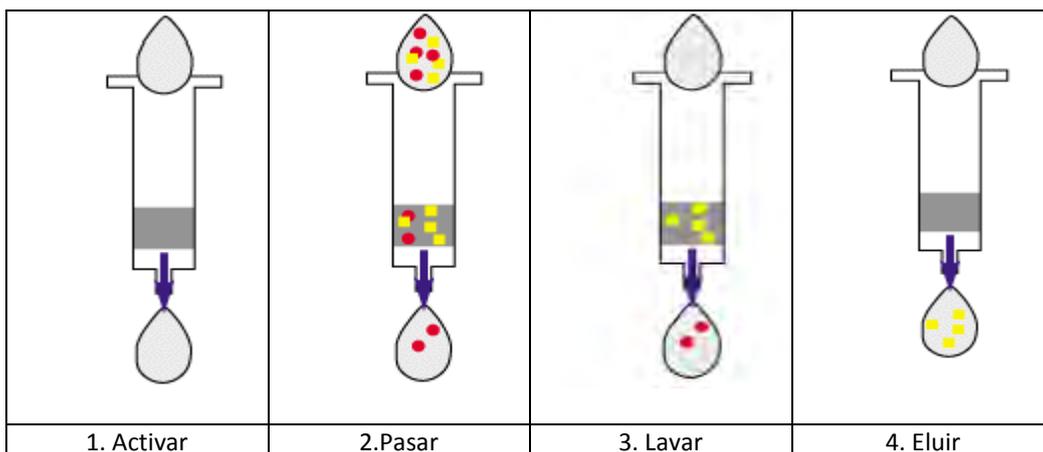


Fig. 9. Extracción en fase sólida (EFS) (Pawliszyn, 2002)

La extracción en fase sólida se puede considerar como una cromatografía de baja resolución llevada a cabo en dos situaciones extremas; retención máxima de los analitos durante el paso de la muestra y retención mínima durante la elución. Dentro de las ventajas que ofrece este proceso en un análisis mediante CL, están el uso de precolumnas y de esta forma no es necesario manipular la muestra para su inyección lo que reduce la posibilidad de contaminación y pérdidas por las transferencias (TESISENXARXA, 2010).

3.3.2 Extracción líquido-líquido (ELL)

La extracción líquido-líquido; se puede definir como la transferencia de una sustancia desde una fase líquida A a otra fase líquida B, siendo inmiscibles entre las dos. Esta operación se puede realizar entre una disolución (fase acuosa) y otro disolvente inmiscible con el agua (fase orgánica) con la ayuda de un embudo de separación. La posición relativa de ambas fases (arriba o abajo) depende de la relación de densidades, como se presenta en la Figura 10.

Con relativa frecuencia aparecen en el proceso de extracción emulsiones o interfases que impiden una correcta separación en el embudo de separación de las capas acuosa y orgánica; especialmente cuando se trata de extracciones con cloruro de metileno. La forma de resolver este problema es añadiendo salmuera de cloruro de sodio y agitando (Quiored, 2010).

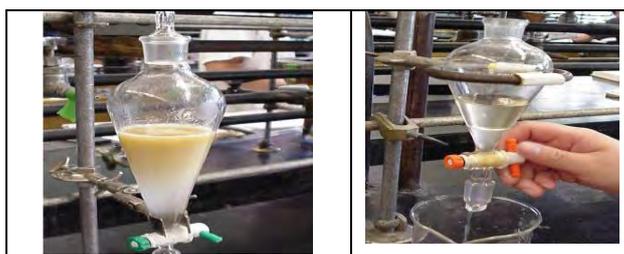


Fig. 10. Extracción líquido-líquido (SARA, 2010)

Capítulo 4. Metodología

4.1 Equipos y reactivos

4.1.1 Equipo

En la Tabla 13 se encuentran los equipos utilizados en este proyecto junto con las especificaciones técnicas de cada uno.

Tabla 13. Equipo utilizado en la experimentación

Equipo	Especificaciones técnicas
Cromatógrafo de líquidos Varian con bomba terciaria	Modelo Varian 9010
Auto-muestreador	Modelo Varian 9100
Detector de arreglo de diodos Varian	Modelo Polychrom 9065
Software de control y procesamiento de datos	Varian Star Workstation, versión 4.5 1989-1990, Varian Associates. Inc.
Columna analítica de acero inoxidable	Thermo Hypersil- key de 100 x 4.6 mm; empacada con sílice C ₁₈ de partículas esféricas de 5 µm
Pre-columna de guardia de acero inoxidable	Hichrom de 13 mm x 45 mm d.i.; empacada con sílice Nucleosil C ₁₈ de partículas esféricas de 5 µm (Phenomenex, California)
Baño ultrasónico para desgasificar soluciones y fase móvil	Branson Mod. 3210, 0-60 Hz
Jeringa Hamilton	Capacidad de 0-100 µL
Micropipeta Transferpette	De volumen variable de 100 – 1000 µL
Micropipeta Transferpette	De volumen variable de 10-100 µL
Balanza analítica	Mettler Toledo; Mod AG-245. 0-200 g
Refrigerador	Whirpool; Mod. EV150 N*W*O
Kit de viales Varian	Viales de vidrio con tapa de silicón de 8 mm y capacidad de 2.0 mL

4.1.2 Reactivos y disolventes

En la Tabla 14 se encuentran los reactivos y disolventes utilizados durante el desarrollo experimental junto con las especificaciones técnicas.

Tabla 14. Reactivos y disolventes empleados

Reactivos	Especificaciones
Agua de alta pureza para equipos de alta precisión	Agua de alta pureza y estéril para HPLC AguaLab-Industrias Maran S.A de C.V.
Metanol	J.T. Barker °HPLC; pureza: 99.9%
Acetonitrilo	J.T. Barker °HPLC; pureza: 99.9%
Jabón Dextrán Hyclin-Plus	Hycel de México S.A de C.V.
NaCl	J.T. Baker; pureza: 99.6%
H ₃ PO ₄	J.T. Baker; pureza: 84.1%
NH ₄ OH	J.T. Baker; pureza: 28.7%
Ditiocarbamato de sodio	Zuker; grado analítico
Agua de alta pureza tipo I	Agua para preparara reactivos analíticos y fase móvil. Industrias Maran S.A de C.V.

4.2 Análisis de ditiocarbamato de sodio por CLAR

Para la identificación y cuantificación del plaguicida en estudio, se utiliza un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución. Se emplea una columna cromatográfica ODS (C₁₈) de 10 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro interno y partículas esféricas de 5 µm. La velocidad de flujo es de 1.1 mL min⁻¹. La fase móvil es de Agua:Acetonitrilo grado cromatográfico en una proporción de (70:30). Se emplea un detector UV a una longitud de onda (λ) de 200 nm. El volumen de inyección de cada muestra es de 20 µL y el tiempo de corrida es de 10 minutos, como se muestra en la Figura 11.

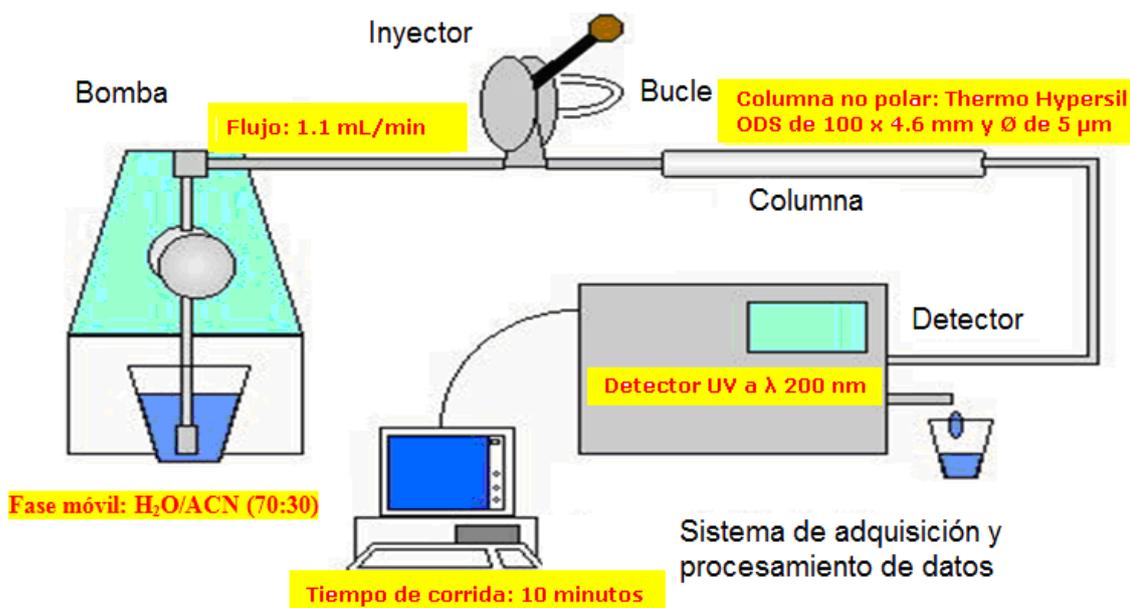


Fig. 11. Condiciones cromatográficas para determinar ditiocarbamato de sodio por CLAR (Modificada de UCO, 2010)

4.2.1 Identificación y cuantificación del plaguicida

El ditiocarbamato de sodio se identifica utilizando una solución del estándar en agua y metanol de 50 mg L⁻¹. Se hace una corrida de 20 minutos, hasta observar el pico característico y el tiempo de retención del compuesto en ambas matrices.

Para cuantificar el plaguicida, se elaboran 6 curvas de calibración de 0 a 50 mg L⁻¹; en dos matrices: agua y metanol, a tres diferentes valores de pH: 4, 7 y sin modificar (6.97 para agua, 6.25 para metanol y 5.09 para jugo de caña). La modificación del valor de pH de la matriz se hizo con ácido fosfórico 0.01M o con NH₄OH 0.01M (después de realizar pruebas preliminares con HCl, NaOH, entre otros, para definir las sustancias y sus concentraciones). Se inyecta por triplicado cada concentración y el punto medio que corresponde a 25 mg L⁻¹ se inyecta 5 veces. Se realiza un tratamiento de regresión lineal para cada curva mediante el cual se comprueba la linealidad de la recta, indicada por el coeficiente de correlación. Del mismo modo, se obtienen de la ecuación de regresión lineal, $y = mx+b$, los valores de pendiente (m) y ordenada al origen (b); que sirven para calcular la concentración del ditiocarbamato de sodio (x), presente en las muestras generadas del diseño experimental que se muestra en la Tabla 15.

4.2.2 Precisión

La precisión del sistema se evalúa mediante las áreas del pico correspondientes a 5 inyecciones de una solución estándar que contiene al plaguicida a una concentración

de 25 mg L⁻¹. Con los datos obtenidos se calculan la media (X), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV). Para que un análisis sea adecuado el CV debe ser menor al 15%.

4.2.3 Diseño experimental para determinar la velocidad de degradación

Después de realizar un análisis de las operaciones unitarias involucradas en el procesamiento del jugo de caña, se determinó que los factores que pueden afectar directamente la velocidad de degradación del plaguicida son los siguientes cinco: (A) Hidrólisis, (B) fotólisis, (C) pH, (D) temperatura y (E) tiempo de exposición. Una vez seleccionados estos factores, el siguiente paso es determinar los niveles para cada uno de ellos. Estos niveles se decidieron, tanto por las condiciones experimentales en el laboratorio, como por el estudio realizado para las operaciones unitarias involucradas en el procesamiento del jugo de caña, obteniéndose como resultado los niveles que se muestran en la Tabla 15. Esto permite definir un diseño factorial de $2^4 \cdot 5^1$. Para cada una de las corridas presentes se realizan dos réplicas con el fin de facilitar el análisis y tener una mejor estimación del error experimental.

Tabla 15. Diseño experimental

Factores	Niveles				
	1	2	3	4	5
(A): Hidrólisis	Agua	Metanol			
(B): Fotólisis	Luz	Oscuridad			
(C): pH	4	7			
(D): Temperatura (°C)	4	25			
(E): Tiempo (h)	0	24	48	72	96

Para el estudio de la degradación del plaguicida se preparan 8 combinaciones que contienen al plaguicida en una concentración de 25 mg L⁻¹ en agua grado cromatográfico y 8 combinaciones en metanol, bajo los factores de fotólisis, pH, temperatura y tiempo. Dichas combinaciones se muestran en la Figura 12, obteniéndose un total de 16 muestras bajo las condiciones establecidas en el diseño experimental, estas se inyectan por 5 días que corresponde a las 0, 24, 48, 72, 96 h.

La finalidad de este experimento es observar la disminución de la concentración bajo los diferentes factores seleccionados. Esto se hace cuantificando el área bajo la curva correspondiente al pico del plaguicida.

4.2.4 Análisis estadístico de la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio

El análisis estadístico sirve para identificar los factores que son importantes en el estudio y para poder determinar cómo afectan a la respuesta. Se realiza un análisis de varianza para cada factor del diseño experimental; con el fin de determinar si existe diferencia significativa en la degradación del plaguicida bajo los diferentes parámetros. Así mismo, se determina el porcentaje de contribución para cada factor en el diseño experimental.

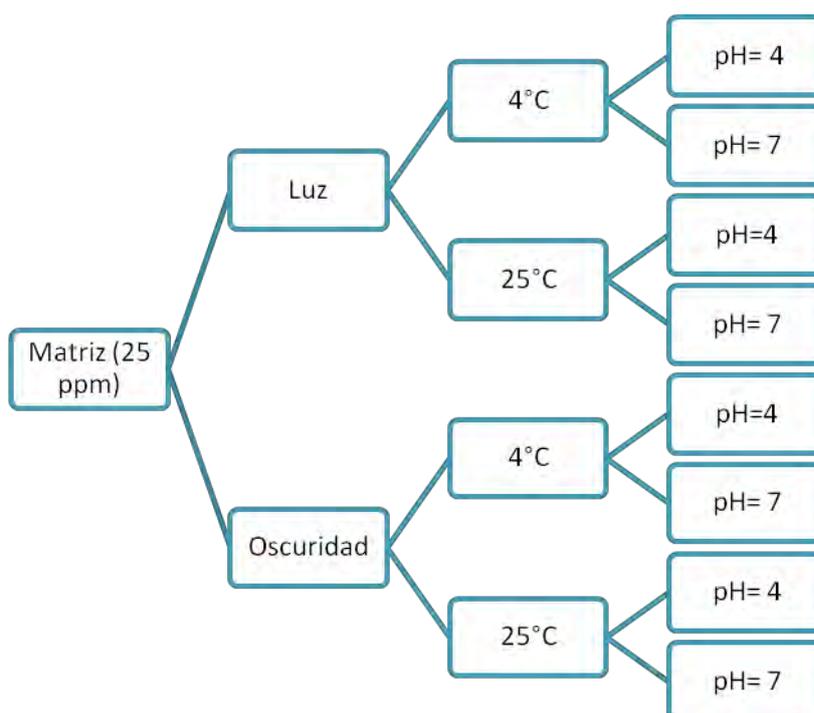


Fig. 12. Diseño experimental para determinar la velocidad de degradación del plaguicida en una matriz de agua y metanol

4.3 Tratamiento de la muestra

4.3.1 Obtención

La caña de azúcar empleada para la experimentación es proporcionada por el ingenio azucarero cooperante, ubicado en el km 42 de la vía Córdoba-Veracruz Ferrocarril Córdoba-Tierra Blanca (Camino pavimentado de la desviación de la carretera Córdoba-Veracruz (km 17) Tezonapa, vía Olmealca, Veracruz, carretera de la Cuenca del Papaloapan, km 25, vía Cosolapa, Oaxaca). Las cañas de azúcar se almacenan en refrigeración a 4°C, dentro de una caja de cartón. Éstas provienen de un mismo lote recolectado en el mes de mayo del 2010.

4.3.2 Extracción del ditiocarbamato en jugo de caña

Para la extracción del plaguicida se consultaron diferentes artículos con la finalidad de encontrar un método que permitiera extraer al plaguicida de la matriz de jugo de caña. Sin embargo; no se encontró en la bibliografía consultada una metodología para la extracción de este plaguicida, por lo que se tuvo que adaptar un método de extracción de flavonoides presentes en jugo de caña (Colombo y Lancas, 2005) complementándolo con otro método para la extracción de carbamatos de jugos de manzana, cereza y fresa (Sagratini *et al.*, 2007).

De la caña almacenada en refrigeración se procede a la extracción del jugo diariamente para realizar las pruebas correspondientes de un mismo lote. Por cada 6 trozos de caña (250 g aproximadamente) se obtienen 100 mL de jugo de caña, con la ayuda de un extractor Moulinex de tipo casero. El jugo se recolecta en un frasco de vidrio transparente Duran de 100 mL y se conserva en refrigeración.

Se compararon las metodologías de extracción líquido-líquido con la de fase sólida empleando una muestra de jugo de caña adicionada con un volumen de plaguicida en estudio tal que se obtuviera una concentración de 1000 mg L^{-1} para ambos casos. A continuación se detalla la metodología para ambas metodologías.

4.3.2.1 Extracción líquido-líquido (ELL)

Se toman 10 mL de la muestra de jugo de caña adicionada con el plaguicida en estudio; se agregan 10 mL de metanol grado cromatográfico; después, se lleva a un baño ultrasónico durante 10 minutos. Se centrifuga a 4000 rpm por 15 minutos. La muestra se filtra utilizando una membrana de Nylon $0.45 \mu\text{m}$. Finalmente, se inyecta en el cromatógrafo de líquidos por triplicado.

4.3.2.2 Extracción en fase sólida (EFS)

Se toman 3 mL de la muestra de jugo de caña adicionada con el plaguicida en estudio; se centrifugan por 15 minutos y el sobrenadante es filtrado con una membrana de Nylon de $0.45\mu\text{m}$, enseguida se adicionan 3 mL de agua grado cromatográfico y 1.0 g de NaCl, con agitación constante. Posteriormente, esta mezcla se hace pasar por un cartucho de extracción ENVI-CARB previamente acondicionado con 5 mL de agua seguida de 5 mL de metanol. Para llevar a cabo la elución del compuesto de interés se utilizan 3 mL de una mezcla de metanol/agua grado cromatográfico en proporción (70:30). La muestra eluida se inyecta en el cromatógrafo por triplicado.

4.3.3 Curva de calibración en jugo de caña

Se realiza una curva de calibración de 10 puntos con concentraciones que van de 0 a 1000 mg L⁻¹ de ditiocarbamato de sodio en jugo de caña. El jugo se centrifuga a 4000 rpm por 15 minutos y se filtra con una membrana de Nylon de 0.45 µm, almacenando el filtrado a 4°C. Se preparan las disoluciones de cada punto de la curva en el momento de la inyección con el jugo filtrado. Cada concentración se inyecta 3 veces, excepto la concentración de 500 mg L⁻¹ que se inyecta 5 veces. Con la regresión lineal se comprueba la linealidad de la recta, indicado por el coeficiente de correlación. Del mismo modo, se obtienen de la ecuación de regresión lineal, $y=mx+b$, los valores de pendiente; (m) y ordenada al origen (b); que sirven para calcular la concentración del ditiocarbamato de sodio (x) en la matriz de jugo de caña.

4.3.4 Porcentaje de recobro

El porcentaje de recobro se realiza para analizar la pérdida del analito de interés mediante la cuantificación de la concentración del plaguicida después de haberse llevado a cabo ambas extracciones. Éste es un criterio importante para evaluar la eficiencia de separación del método empleado. Para ello se utiliza la curva de calibración del jugo de caña con concentraciones de ditiocarbamato de 0 a 1000 mg L⁻¹ y se interpolan dentro de las curvas obtenidas en cada una de las metodologías de extracción y de esta manera se conoce la concentración real del plaguicida recuperado presente en el jugo de caña. Una vez probadas ambas metodologías se determina cuál de ellas es la más eficiente en cuanto al porcentaje de recobro (%R) o recuperación del plaguicida y, con base en esto, se decide si la combinación de métodos investigados es adecuada para la extracción y cuantificación del ditiocarbamato de sodio presente en el jugo de caña.

4.3.5 Límite máximo de detección del ditiocarbamato en el equipo en diferentes matrices

Para obtener el límite de detección del plaguicida en el equipo en las diferentes matrices (agua, metanol y jugo de caña), se realizan diluciones a partir de una concentración de 1000 mg L⁻¹; las cuales se inyectan en el equipo de cromatografía de líquidos y como concentración límite se considera aquella en la que el pico del compuesto aparece pero ya no es posible integrarlo adecuadamente. Para el jugo de caña, se realiza sin someter el jugo de caña a ningún tratamiento, solamente se filtra y se hacen las diluciones correspondientes de la muestra adicionada.

4.3.6 Límite máximo de detección en ELL

El límite de detección para la metodología empleada para la extracción del ditiocarbamato de sodio adicionado al jugo de caña se realiza partiendo de una solución de 1000 mg L^{-1} , de la cual se hacen diluciones que son sometidas a una extracción líquido-líquido y se inyectan hasta que se presenta alguna señal. La concentración límite después de cada extracción se considera como aquella en la que el pico del compuesto aparece pero no es posible integrarlo confiablemente.

4.3.7 Precisión

La precisión de la extracción líquido-líquido se evalúa mediante la inyección por triplicado de 5 muestras, a las áreas bajo la curva correspondientes a cada inyección se calcula la media (X), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV). Para que un análisis sea confiable, el CV debe ser menor al 15% (Ermer y Miller, 2005).

4.3.8 Cinética de degradación del plaguicida en el jugo de caña

Se prepara una muestra de jugo de caña filtrado adicionada con ditiocarbamato de sodio para tener una concentración de 1000 mg L^{-1} . Se inyecta una muestra cada 20 minutos hasta que ya no se presente el pico de compuesto en el detector. El área bajo la curva de cada inyección se cuantifica mediante la curva de calibración para jugo de caña obtenida en el punto 4.3.3, obteniendo la concentración de cada muestra. Al graficar el logaritmo natural de la concentración (C_1) entre la concentración inicial (C_0), contra el tiempo y aplicando un análisis de regresión lineal se obtiene una pendiente que es equivalente a la constante de la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio presente en el jugo de caña a temperatura ambiente (25°C). Se calcula también el porcentaje de degradación ($\%D$) y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$).

Con la constante cinética de degradación, se calcula el tiempo que se necesita para la degradación completa del ditiocarbamato de sodio agregado en los ingenios azucareros. Para ello se realiza una gráfica de $\ln C_1$ versus $(\ln C_0 - Kt)$ donde la variable independiente es el tiempo.

Capítulo 5. Resultados y discusión

5.1 Identificación y cuantificación de ditiocarbamato de sodio por CLAR

Como se mencionó en el capítulo anterior, existen diferentes metodologías para la identificación y cuantificación de los ditiocarbamatos. Las condiciones cromatográficas que se tomaron como referencia para este proyecto fueron las propuestas por Nollet (1996). Como las condiciones analíticas existentes eran diferentes, se modificaron para poder analizar el ditiocarbamato de sodio con la instrumentación disponible en el laboratorio. En la Tabla 16 se presentan las modificaciones realizadas a la metodología investigada.

Tabla 16. Comparación de las condiciones cromatográficas en bibliografía y experimental

	Condiciones cromatográficas	
	Nollet (1996)	Esta investigación
Columna	200 mm x 4 mm Nucleosil RP-18 (5 μm)	100 mm x 4 mm Nucleosil RP-18 (5 μm)
Fase móvil	Agua/Acetonitrilo (60:40)	Agua/Acetonitrilo (70:30)
Velocidad de flujo	1.2 mL min ⁻¹	1.1 mL min ⁻¹
Volumen de inyección	500 μL	20 μL
Detector	UV; 272 nm	UV; 200 nm

mm: Milímetros; **μm :** Micrómetros; **mL:** Mililitros; **μL :** Microlitros; **nm:** Nanómetros; **UV:** Ultravioleta.

El análisis del plaguicida en estudio fue realizado por CLAR. El fundamento de la separación depende esencialmente de las propiedades físico-químicas. Algunas de estas propiedades son la masa molecular, la solubilidad, así como la densidad y la reactividad química. Debido a la variedad de propiedades físico-químicas, la selección del método se basa principalmente en la polaridad del plaguicida.

Dado que dicho compuesto presenta radicales polares amino y tioles y el grado de polarización aumenta con el aumento de grupos funcionales, en esta investigación se optimizó una metodología analítica para la determinación del plaguicida. De esta manera se identificó el ditiocarbamato bajo las condiciones establecidas en el apartado anterior y, como resultado, se tiene el cromatograma del compuesto en la Figura 13.

5.1.1 Identificación y cuantificación del plaguicida

Los compuestos polares son más reactivos, lo que origina problemas durante la extracción, purificación y detección o en su análisis debido a su adsorción y/o degradación química o térmica (Bernal-González, 2008). Éste es el caso del ditiocarbamato de sodio y, como resultado, no siempre es posible su determinación o bien se obtienen áreas bajo la curva muy pequeñas. Sin embargo, en esta investigación se logró identificar al plaguicida en estudio, así como determinar su tiempo de retención (t_r), que fue de 8.5 minutos.

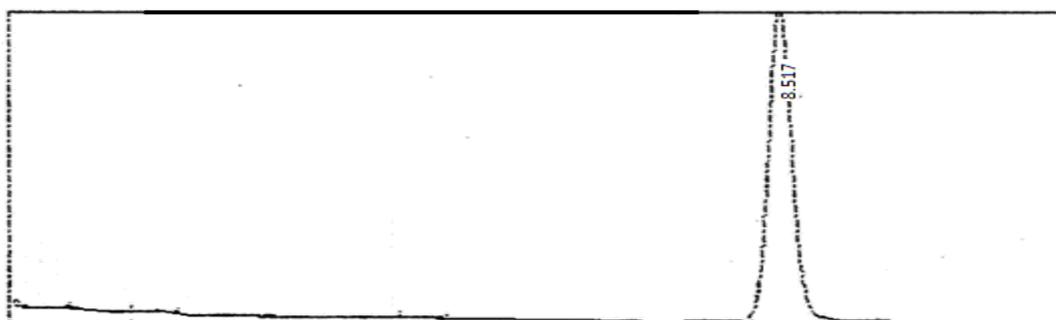


Fig. 13. Cromatograma del ditiocarbamato de sodio. Columna: 100 mm x 4.6 mm Nucleosil RP-18 (5 μ m); fase móvil: Agua/Acetonitrilo (70:30); flujo: 1.1 mL min⁻¹; volumen de inyección: 20 μ L; detector: UV; λ =200 nm

Como se mencionó en el capítulo anterior, para realizar la cuantificación se hicieron 6 curvas de calibración del plaguicida en agua y metanol, con concentraciones que van de 0 a 50 mg L⁻¹, a pH de 4 y de 7, obteniendo los valores que se presentan en la Tabla 17, tanto para la pendiente (m), como para la ordenada al origen (b) y para el coeficiente de correlación lineal (R^2). En el Anexo A se presentan las 6 curvas de calibración del plaguicida para las dos matrices, bajo los tres diferentes valores de pH.

Tabla 17. Coeficientes de las curvas de calibración del ditiocarbamato en metanol y agua

$y=mx+b$	Pendiente (m)		Ordenada al origen (b)		Coeficiente de correlación (R^2)	
	Agua	Metanol	Agua	Metanol	Agua	Metanol
pH						
Sin modificar	2402.4	3474.8	-473.09	-2371.4	0.9804	0.9880
7	2614.5	4620.5	-3260	-21147	0.9905	0.9913
4	3317.2	2803.5	-16646	18690	0.9907	0.9171

y : Área bajo la curva; x : Concentración; m : Pendiente; b : Ordenada al origen; R^2 : Coeficiente de correlación

5.1.2 Precisión

En la Tabla 18 se presentan los valores de la media (X), desviación estándar (S) y coeficiente de variación (CV), obtenidos de las áreas del pico correspondientes a la concentración de 25 mg L^{-1} de cada curva de calibración; el cual corresponde al punto medio de la curva. Los coeficiente de variación están entre 2.3 y 12.3%, los cuales son aceptables para concentraciones arriba de 10 mg L^{-1} . La única excepción es la de la matriz de agua sin modificación del pH, que presenta un coeficiente de variación de 15.1%, este valor está en el límite establecido para una concentración de 25 mg L^{-1} .

Tabla 18. Valores de media, desviación estándar y coeficiente de variación del punto medio (25 mg L^{-1}) de cada curva de calibración

pH	media (X)		Desviación estándar (S)		Coeficiente de variación (CV)	
	Agua	Metanol	Agua	Metanol	Agua	Metanol
Sin modificar	54129	80082.2	8192.9	3034.6	15.10%	3.80%
7	61676.2	86579	2714.4	6659.5	4.40%	7.70%
4	58138.8	93297.6	7173.4	2184.2	12.30%	2.30%

X: Media; **S:** Desviación estándar; **CV:** Coeficiente de variación

5.1.3 Determinación de la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio por CLAR

La estabilidad y comportamiento del plaguicida viene condicionada por una serie de factores, algunos de ellos interrelacionados, de tal manera que no puede definirse un único parámetro como responsable de su destino final. Para conocer la influencia de los parámetros seleccionados y presentados en el punto 4.2.3 de la metodología, sobre la degradación del plaguicida, se determinó la concentración inicial (C_0) y la final (C_1), del plaguicida durante 5 días, bajo el diseño experimental presentado en la Tabla 15.

Los resultados obtenidos de C_1 y C_0 en función del tiempo se graficaron y se observó una linealidad ajustada con una pendiente proporcional a la velocidad o rapidez de degradación (K). Los valores de velocidad de degradación (K), el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y el porcentaje de degradación ($\%D$); se presentan en la Tabla 19. En el Anexo B se encuentran las gráficas del porcentaje de degradación en función de los factores del diseño experimental de la Tabla 15.

5.1.3.1 Velocidad de degradación del plaguicida en metanol

Los resultados de velocidad de degradación (K), varían de 0.047 a 0.669 días⁻¹, encontrando el valor más bajo para una temperatura de 25°C, obscuridad, pH=7 con un porcentaje de degradación del 16.32% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 14.75 días. El valor más alto presentado es para 25°C, con luz, pH=4, teniendo un porcentaje de degradación de 89.61% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 1.04 días.

Tabla 19. Degradación del ditiocarbamato de sodio de cada combinación del diseño experimental

			Matriz					
			Metanol			Agua		
Temperatura	Fotólisis	pH	% D	K (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	% D	K (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)
4°C	Oscuridad	4	35.79	0.096	7.22	63.67	0.265	2.62
		7	32.13	0.085	8.16	81.75	0.437	1.59
	Luz	4	54.86	0.177	3.92	73.52	0.46	1.50
		7	22.60	0.070	9.9	91.40	0.626	1.11
25°C	Oscuridad	4	47.57	0.140	4.95	79.46	0.513	1.35
		7	16.32	0.047	14.75	91.39	0.630	1.1
	Luz	4	89.61	0.669	1.04	93.70	0.874	0.79
		7	62.57	0.234	2.96	93.25	0.764	0.91

%D: Porcentaje de degradación; K : Velocidad de degradación; $t_{1/2}$: Tiempo de vida media

5.1.3.2 Velocidad de degradación del plaguicida en agua

Los resultados de velocidad de degradación (K), varían de 0.265 a 0.874 días⁻¹, siendo el más bajo para una temperatura de 4°C, obscuridad, pH=4, con un porcentaje de degradación del 63.67% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 2.62 días. El más alto fue para 25°C, luz, pH=4 teniendo una degradación de 93.7% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 0.79 días. Este comportamiento se debe a que en condiciones ácidas de pH 4 y bajo la influencia de la luz se produce una descomposición no oxidativa que produce al metil isotiocianato (MIT), sulfuro de sodio, sulfuro de carbono y metilamina (LAINCO, 2010) como se muestra en la Figura 14.

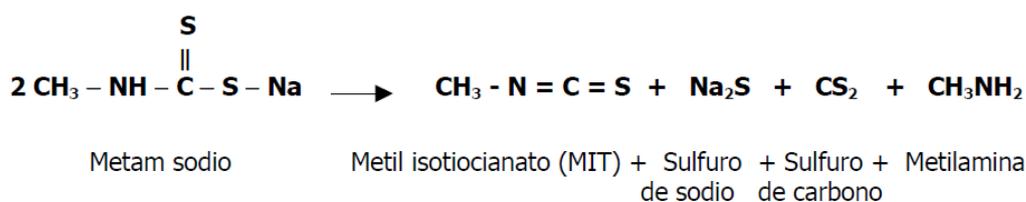


Fig. 14. Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones ácidas (LAINCO, 2010)

Las muestras del diseño experimental bajo el factor de pH 7 muestran también una degradación debido a que el ditiocarbamato en soluciones alcalinas diluidas produce una reacción de oxidación caracterizada por la formación de metil isotiocianato (MIT) y azufre elemental, principalmente y, para las soluciones neutras, se obtiene metil isotiocianato (MIT) y bisulfuro de sodio (LAINCO,2010). Las reacciones se muestran en las Figuras 15 y 16.

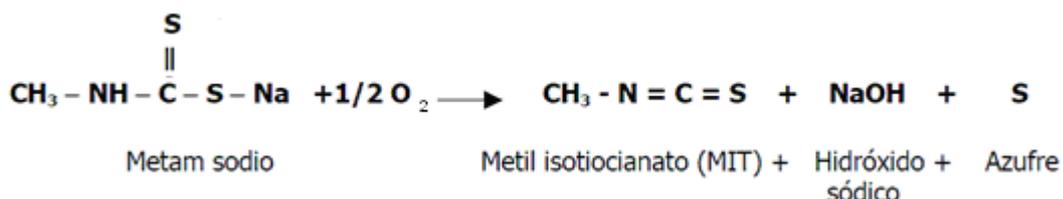


Fig. 15. Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones alcalinas (LAINCO, 2010)

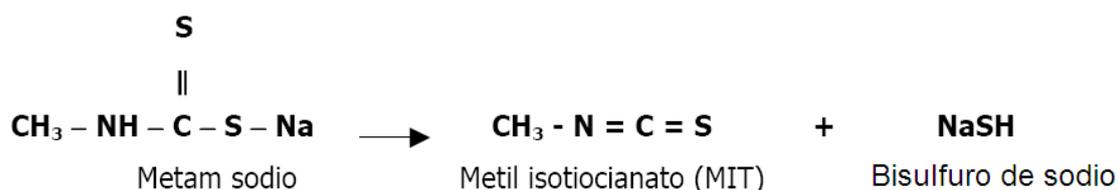


Fig. 16. Reacción de descomposición del ditiocarbamato de sodio en soluciones neutras (LAINCO, 2010)

5.1.4 Análisis estadístico de la influencia de los factores en la degradación

Para analizar los factores que influyen en la degradación del plaguicida se realizó un diseño factorial multinivel con 5 factores experimentales y un número de bloques de 2, los cuales dan un número de 160 datos de corridas de la muestra.

Para el análisis estadístico se llevó a cabo un análisis de varianza (ANDEVA) y como resultado se obtuvo que hay diferencia significativa entre los factores de matriz, fotólisis, temperatura, pH y tiempo; así como para las interacciones de matriz-pH (AD), matriz-tiempo (AE), fotólisis-temperaturas (BC), fotólisis-pH (BD), fotólisis-tiempo (BE), temperatura-tiempo (CE) y pH-tiempo (DE), con un nivel de confianza del 95.0%. En la Tabla 20 se presentan los valores de la contribución porcentual de los factores en la degradación del compuesto de interés y las interacciones que presentan diferencia significativa.

Se observa que el factor de mayor influencia en el comportamiento de la degradación del plaguicida es el tiempo con una contribución porcentual del 38.1%, seguida del factor matriz con una contribución porcentual del 30.4% y, finalmente, el pH con una

contribución del 7.3%. Mediante estos resultados se puede estimar que la degradación del plaguicida es mayor en una matriz de agua, expuesto a luz y a un pH de 7.

Considerando el porcentaje de degradación como respuesta, se presentan las gráficas para todas las combinaciones de los 5 factores del diseño experimental de la Tabla 15, en el Anexo C.

Tabla 20. Contribución porcentual de los 5 factores en la degradación del plaguicida

Factores	Contribución porcentual
Matriz: A	30.40%
Fotólisis: B	1.46%
Temperatura: C	0.88%
pH: D	7.34%
Tiempo: E	38.12%
AD	1.47%
AE	1.51%
BC	0.66%
BD	1.25%
BE	0.62%
CE	1.17%
DE	0.87%

5.2 Curva de calibración en jugo de caña

La curva de calibración en jugo de caña, se obtuvo mediante la adición del plaguicida a dicha matriz en concentraciones de 100 a 1000 mg L⁻¹. Cada punto se inyectó por triplicado y el punto medio se inyectó 5 veces. En el Anexo D se presenta la gráfica del área bajo la curva (considerada como respuesta) contra la concentración del plaguicida. La curva obtenida presenta una ecuación de regresión lineal, con una pendiente (*m*) de 1356 y una ordenada al origen (*b*) de -13163, así como un coeficiente de correlación lineal (*R*²) de 0.974. En la Tabla 21 se muestran los coeficientes de precisión de dicha curva, tales como la media (*X*), la desviación estándar (*S*) y el coeficiente de variación (*CV*).

Tabla 21. Coeficientes de precisión de la curva de calibración en jugo de caña

Concentración (mg L ⁻¹)	Media (X)	Desviación estándar (S)	Coeficiente de variación (CV)
1000	1317895	71730.3	5.4
900	1140093.3	127367.2	11.2
800	825311	21370	2.6
700	739853.7	18649.7	2.5
600	676489.3	19318.6	2.9
500	531420	11659.4	2.2
400	452966	37623.1	8.3
300	332472	46277.5	13.9
200	117604	1667.4	1.4
100	11418.3	1070.4	9.4

X: Media; **S:** Desviación estándar; **CV:** Coeficiente de variación

Este coeficiente tiene un valor de 2.2% para el punto medio, que se encuentra por debajo del 15% considerado como valor límite para concentraciones que no son trazas, lo que indica que los valores obtenidos al cuantificar el compuesto de interés son precisos. La cuantificación de la concentración del plaguicida se aplica en los métodos de extracción, tanto para la extracción líquido-líquido, como para la extracción en fase sólida, así como para dar seguimiento a la concentración del ditiocarbamato durante la cinética de degradación en el jugo de caña.

5.3 Extracción del ditiocarbamato en jugo de caña

5.3.1 Extracción en fase sólida (EFS)

Para extraer la mayor cantidad del plaguicida contenido en el jugo de caña, se empleó el método de extracción en fase sólida. Para ello, es necesario realizar pruebas para determinar la concentración de NaCl y el volumen de elución óptimo. Las combinaciones manejadas de NaCl:Eluyente fueron de 0.3 a 1.0 g y de 1 a 6 mL, respectivamente. Como resultado de estas pruebas se obtiene que el mayor porcentaje de recobro logrado es utilizando 1.0 g de NaCl y 3 mL de eluyente. Este último es metanol:agua (70:30). Posteriormente, se inyecta la muestra en el cromatógrafo de líquidos para su cuantificación. En la Figura 17 se muestra el gráfico obtenido del porcentaje de recobro (%R) de las combinaciones propuestas.

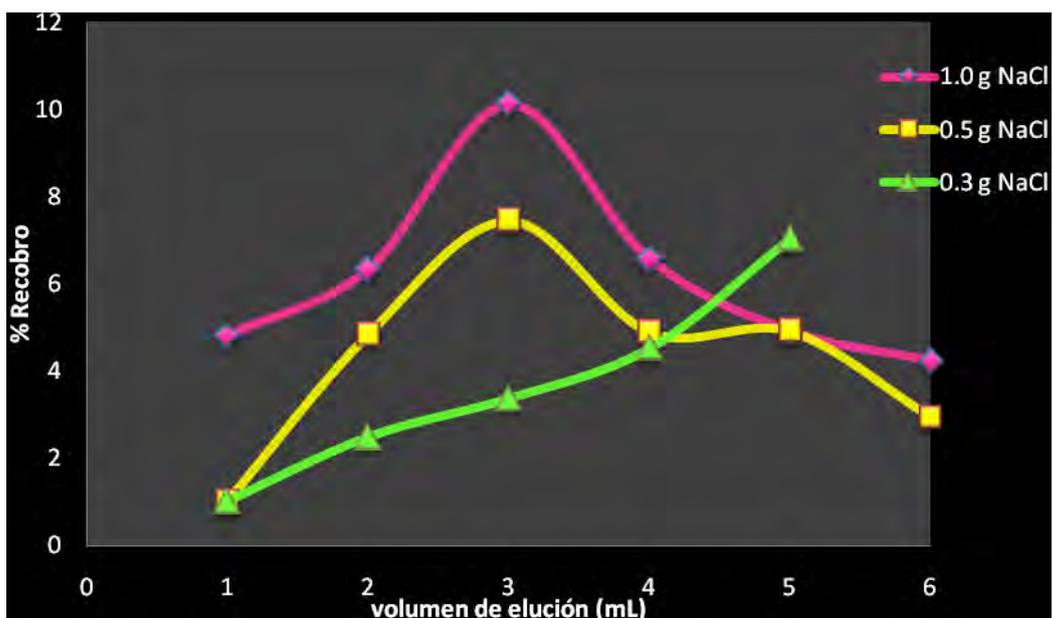


Fig. 17. Porcentaje de recobro (%R) Vs Volumen de elución a 0.3, 0.5 y 1 g NaCl

5.3.2 Extracción líquido-líquido (ELL)

En esta extracción se ajustaron los volúmenes de jugo de caña con el plaguicida adicionado y metanol, así como el tiempo de sonicación y centrifugación para extraer dicho compuesto y así obtener el mejor recobro. Para mejorar la metodología se llevaron a cabo pruebas adicionando 1.0 g de NaCl para una mayor transferencia del plaguicida hacia la matriz metanol, pero no se observó una mejora en los resultados. Por tanto, la decisión final fue tomar alícuotas de 10 mL de metanol y 10 mL de jugo de caña. El tiempo de sonicación fue de 10 minutos y el de centrifugación de 15 minutos a 4000 rpm. Se observó que el cambio de pasos en la metodología propuesta del apartado 4.3.2.1 disminuye el porcentaje de recobro.

5.4 Porcentaje de recobro

El porcentaje de recobro para la extracción líquido- líquido (ELL) fue de 59.62%, con un coeficiente de variación de 5.5%. Para la extracción en fase sólida (EFS) se tuvo un porcentaje de recobro de 11.99%, con un coeficiente de variación de 10.61%. Esto indica que existe una mayor interacción entre la fase sólida y el compuesto, por lo que es difícil lograr eluir el compuesto, lo que abate el recobro. En la extracción líquido-líquido, el compuesto de interés es más afín al metanol, mientras que el resto de los compuestos de la matriz, tales como minerales, algunos ácidos libres, grasas, ceras, proteínas, etc., no lo son, por lo que la extracción es mucho más eficiente.

En cuanto a la reproducibilidad de los tiempos de retención del compuesto, tanto para extracción en fase sólida (EFS) como para la extracción líquido-líquido (ELL), aunque no superaron en ningún caso el 5% del coeficiente de variación (CV), se puede concluir que la inyección manual tuvo influencia en el caso de la ELL, presentando un valor de CV=4.83, mucho mayor que para la EFS con un valor de CV=0.53. En la Tabla 22 se reportan los porcentajes de recobro y tiempos de retención de tres muestras de jugo de caña adicionadas con plaguicida, llevando a cabo los dos métodos de extracción.

5.5 Límite máximo de detección del ditiocarbamato en el equipo en diferentes matrices

EL límite máximo de detección se determina inyectando soluciones cada vez más diluidas partiendo de una concentración de 1000 mg L⁻¹ de ditiocarbamato de sodio. La concentración límite para el compuesto se muestra en la Tabla 23 para las matrices de agua, metanol y jugo de caña de azúcar. Sin embargo, con el jugo se tiene un límite de detección mayor, debido a que es una matriz más compleja, donde el ditiocarbamato puede interactuar con otras sustancias. Puesto que el nivel de ruido aumenta conforme disminuye la concentración de la solución, la concentración límite se consideró como aquélla en la que el pico del compuesto es 3 veces el ruido de fondo.

Tabla 22. Porcentaje de recobro mediante ELL y EFS del ditiocarbamato en jugo de caña

Muestra	ELL		EFS	
	% Recobro	t_r	% Recobro	t_r
1	57.51	8.17	13.45	8.63
2	63.40	8.87	11.41	8.63
3	57.95	8.92	11.11	8.71
Promedio	59.62	8.65	11.99	8.66
Desvest	3.28	0.42	1.27	0.05
CV	5.50	4.85	10.61	0.53

ELL: Extracción líquido- líquido; EFS: Extracción fase sólida; t_r : tiempo de retención

Como se puede ver en la Tabla 23, los valores del límite de detección del método empleado impiden el análisis del compuesto de interés a niveles traza de 0.05 mg kg⁻¹ (0.125 mg L⁻¹), que son los requeridos por la Unión Europea para este plaguicida en los jugos (Unión Europea, 2009).

Tabla 23. Límite máximo de detección del plaguicida en diferentes matrices

	Agua	Metanol	Jugo	LMD UE
LMD de ditiocarbamato (mg L^{-1})	0.62	1.58	10.19	-
LMD de CS_2 equivalente* (mg L^{-1})	0.18	0.46	2.99	0.125

* De acuerdo con la reacción de la Fig. 14 en condiciones ácidas (el pH del jugo fue de 5.09) (LAINCO, 2010); **LMD UE**: Límite máximo de detección para la Unión Europea

5.6 Límite máximo de detección en ELL

Para determinar el límite máximo de detección en la extracción líquido-líquido (ELL), en jugo de caña de azúcar adicionada, se realizaron diluciones partiendo de una concentración de 1000 mg L^{-1} que fueron sometidas a la ELL. La parte recuperada se inyectó en el cromatógrafo de líquidos. La concentración límite fue de 40 mg L^{-1} , la cual se consideró como aquella que, después de someterse a la ELL, hace que aparezca el pico del compuesto pero su integración no es confiable. En la Figura 18 se observa el cromatograma del pico correspondiente al límite máximo de detección obtenido después de la ELL.

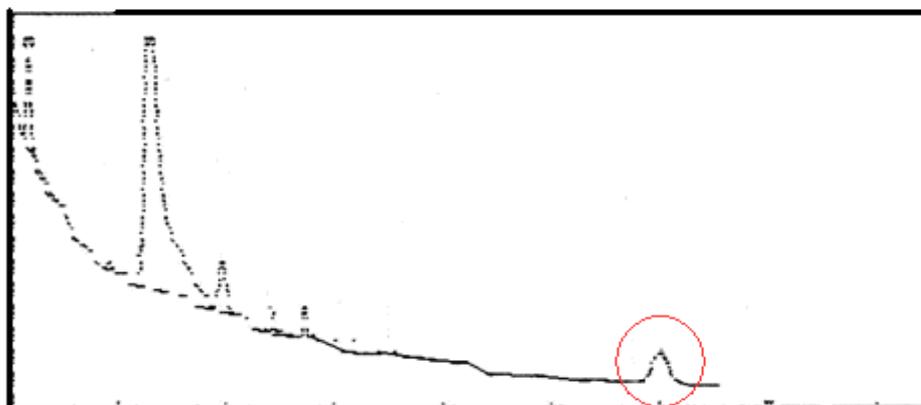


Fig. 18. Cromatograma del límite máximo de detección del plaguicida en la ELL

5.7 Cinética de degradación del plaguicida en el jugo de caña

En el estudio de la cinética de degradación del ditiocarbamato de sodio en la muestra real considerada, jugo de caña, se obtuvo una velocidad de degradación de $0.022 \text{ minutos}^{-1}$, lo cual le da un tiempo de vida media muy corto, ya que se obtiene la mitad de la concentración inicial en 31.5 minutos. En la Tabla 24 se reportan los valores obtenidos de la degradación del ditiocarbamato en la muestra real.

Tabla 24. Degradación del ditiocarbamato de sodio en el jugo de caña

Jugo de caña		
%D	K (minutos ⁻¹)	t _{1/2} (minutos)
98.93	0.022	31.51

%D: Porcentaje de degradación; K: velocidad de degradación; t_{1/2}: Tiempo de vida media

Analizando la Figura 19 se observa que al minuto 20 disminuye su concentración a la mitad. Esto se debe a que al momento de ser agregado el ditiocarbamato de sodio empieza a degradarse convirtiéndose en isocianato de metilo. Este estudio se llevó a cabo bajo las condiciones de fotólisis, a una temperatura de 25°C y sin modificar el pH del jugo de caña, el cual fue de 5.09 a 25°C.

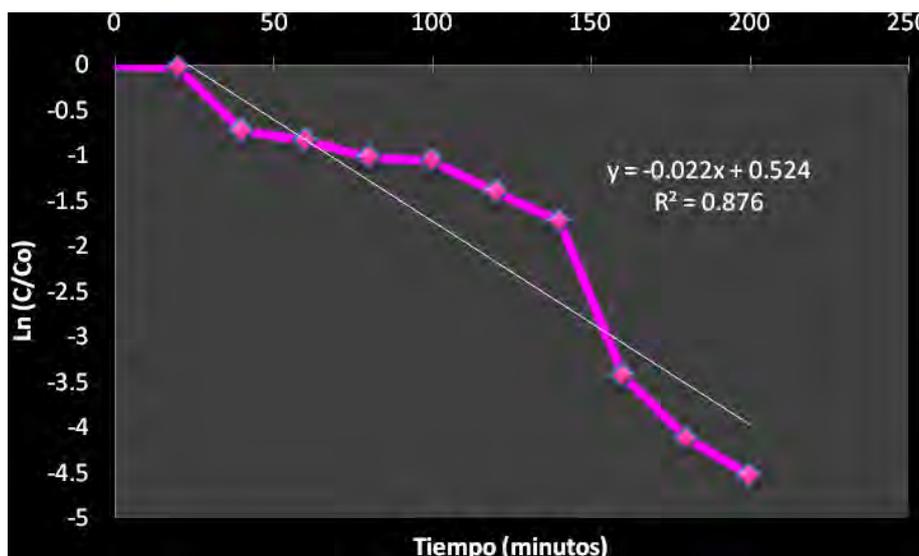


Fig. 19. Cinética de degradación del ditiocarbamato de sodio en jugo de caña

La concentración reportada de ditiocarbamato adicionada por kg de caña en la industria azucarera cooperante es de 3.5 mg por kilogramo de caña, que equivalen a 8.75 mg por litro de jugo de caña. Utilizando esta concentración como la concentración inicial (C_0) y la constante de velocidad de degradación obtenida en esta investigación, (K) de 0.22 min^{-1} , se obtiene el valor de la concentración final. En la Figura 20 se muestra que, después de 100 minutos, el valor de la concentración final es negativo; es decir, que el ditiocarbamato de sodio se ha degradado por completo si se escalan las condiciones de laboratorio a nivel industrial.

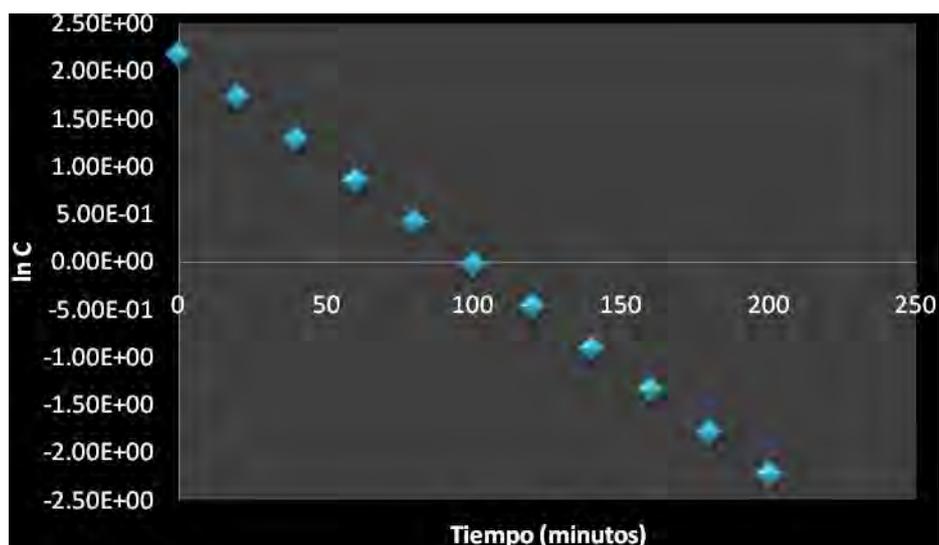


Fig. 20. Determinación del tiempo necesario para la degradación del plaguicida usado en el ingenio azucarero cooperante

5.8 Discusión final

De acuerdo con la investigación realizada, se determinaron los factores de mayor influencia en la degradación del ditiocarbamato de sodio en metanol y agua, bajo diferentes condiciones de laboratorio. Por otra parte, el seguimiento de la degradación del plaguicida en el jugo de caña de azúcar se llevó a cabo a temperatura ambiente de 25°C y pH de 5.09, condiciones en las cuales el plaguicida es más estable. De esta manera se determinó que después de 100 minutos el plaguicida en estudio se degrada o transforma totalmente a otros compuestos en el jugo. Sin embargo, en un ingenio azucarero, las condiciones de preparación y molienda se desarrollan en un clima cálido húmedo, teniendo temperaturas alrededor de 35°C, una vez que el jugo es extraído se adiciona el ditiocarbamato de sodio y pasa a los tanques de sulfitación, en donde se agrega óxido de azufre (SO₂), disminuyendo el pH entre 3 y 4. Esto provoca la formación del isotiocianato de metilo, disulfuro de carbono, metilamina y sulfuro de sodio, según la consulta a la bibliografía (LAINCO, 2010). Posteriormente, en la etapa de neutralización, se adiciona hidróxido de calcio Ca(OH)₂, generando un aumento en el valor de pH y la temperatura, degradando al plaguicida en estudio que aún se encuentra presente en isotiocianato de metilo. Como consecuencia, disminuye paralelamente la concentración del ditiocarbamato de sodio. El siguiente paso es la clarificación del jugo por medio de sedimentación en caliente y, finalmente, la evaporación del mismo, aplicando temperaturas que no rebasen los 110°C. Con dicha temperatura el ditiocarbamato de sodio que no se haya transformado es degradado totalmente, según lo consultado en LAINCO (2010).

Finalmente, el factor más importante en la degradación del plaguicida encontrado en esta investigación es el tiempo. Tomando en cuenta que la producción de azúcar es un proceso continuo (es decir que se lleva a cabo día y noche), el tiempo de degradación del ditiocarbamato de sodio adicionado al jugo de caña es mucho menor que el tiempo requerido para obtener el producto final “azúcar”. Además, la temperatura es otro factor que contribuye a la degradación del compuesto y sus productos de descomposición, lo que parecería indicar que, al final, se obtenga un producto inocuo para el consumidor.

Sin embargo, para asegurar que los subproductos que resultan de la degradación del ditiocarbamato, efectivamente también son eliminados, será conveniente realizar otra investigación y un diseño experimental a fin de evaluar el comportamiento de estos, bajo diferentes condiciones, así como compararlo con el proceso a escala industrial. Esto permitirá afirmar de manera segura si el producto final “azúcar” está completamente libre de cualquier compuesto químico y subproductos de la degradación del ditiocarbamato de sodio.

Capítulo 6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

De acuerdo con el objetivo general de esta investigación, que es determinar la degradación del ditiocarbamato de sodio usado como plaguicida en el proceso de elaboración de azúcar en México mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) tomando como factores de estudio la matriz en la que está disuelto el plaguicida (metanol o agua), el valor de pH (4 y 7), el tiempo (0 a 4 días), la presencia de luz y la temperatura (4, 25°C), a continuación se dan las conclusiones derivadas de esta investigación.

- ✓ La degradación del ditiocarbamato de sodio se determinó mediante un diseño multifactorial ($2^4 \times 5^1$) y se observó que existe diferencia significativa entre los factores con un nivel de confianza del 95%. El factor con mayor contribución es el tiempo con un 38.1%, seguido del efecto de la matriz con 30.4% y, con una menor contribución, el valor de pH, con 7.3%. El comportamiento del plaguicida indica que, en la matriz de agua expuesta a la luz, a la temperatura de 25°C y un valor de pH de 7, es el que más rápidamente se degrada.

Respecto de los objetivos particulares, que eran los de determinar las condiciones analíticas adecuadas para la cuantificación de ditiocarbamato de sodio por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), determinando la degradación del ditiocarbamato en las dos matrices bajo diferentes condiciones de proceso (temperatura, tiempo, pH, luz y oscuridad), mediante un diseño de experimentos factorial, implementando una metodología para la extracción del plaguicida a partir de jugo de caña a nivel de laboratorio para su posterior análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) y comparando los límites máximos permitidos establecidos para este compuesto en jugo de caña y/o azúcar en diferentes países, se concluye lo siguiente:

- ✓ Las mejores condiciones cromatográficas para lograr la detección y cuantificación del ditiocarbamato de sodio fueron: fase móvil de agua/acetonitrilo (70:30), una columna 100 mm x 4.6mm Nucleosil RP-18 de partículas esféricas de 5 μm ; un detector UV a una longitud de onda de 200 nm, un volumen de inyección de 20 μL y una velocidad de flujo de 1.1 mL min^{-1} , que da un tiempo de corrida de 10 minutos. Este último, comparado con el tiempo de retención del compuesto, que es de 8.5 minutos, permite su detección y cuantificación adecuadas.

- ✓ En la matriz de metanol se observa que la mayor velocidad de degradación ($K=0.669 \text{ días}^{-1}$), se presenta para 25°C , con luz y un pH de 4, teniendo una degradación de 89.61% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 1.04 días, mientras que, para una temperatura de 25°C , obscuridad, pH de 7, se tiene una degradación del 16.32% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 14.75 días, presentando un valor mínimo ($K=0.041 \text{ días}^{-1}$).
- ✓ En la matriz de agua, para 25°C , en presencia de luz y un pH de 4 se observa la velocidad de degradación más alta ($K=0.874 \text{ días}^{-1}$), teniendo una degradación del 93.7% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 0.79 días. La velocidad de degradación más baja ($K=0.265 \text{ días}^{-1}$) encontrada en esta matriz se obtuvo a una temperatura de 4°C , en la obscuridad y con un pH de 4, con una degradación del 63.67% y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 2.62 días.
- ✓ Se acoplaron dos métodos de extracción para el ditiocarbamato de sodio en la matriz de jugo de caña y se obtuvo un porcentaje de recobro de 11.99% con un coeficiente de variación (CV) de 10.6% para la extracción en fase sólida (EFS) y de 59.62% con un coeficiente de variación de 5.5% para la extracción líquido-líquido (ELL); siendo esta última la extracción más eficiente.
- ✓ Se investigaron en la literatura los límites máximos permitidos establecidos para el ditiocarbamato de sodio en caña de azúcar. Para la FAO el valor permitido es nulo. Para la Unión Europea (UE) se declara un valor de 0.05 mg kg^{-1} (0.125 mg L^{-1}) de una mezcla de ditiocarbamatos tales como mancozeb, thiram, ziram, maneb, metiram expresados como CS_2 , ya que emplean cromatografía de gases. En México, a través de la CICOPAFEST, no se reporta el límite máximo permitido para el ditiocarbamato de sodio en jugo o caña de azúcar. En esta investigación sí se determinó ditiocarbamato de sodio y el valor máximo de detección fue de 10.19 mg L^{-1} (2.99 mg L^{-1} expresados como CS_2).

Finalmente, considerando la hipótesis propuesta, los resultados de esta investigación indican que sí es verdadera, ya que existe una influencia directa de los factores de matriz, temperatura, fotólisis, pH y tiempo en la velocidad de degradación del ditiocarbamato de sodio.

6.2 Recomendaciones

De acuerdo con los resultados de la investigación realizada se considera importante realizar lo siguiente en futuros experimentos:

- Para aumentar la eficiencia del análisis del plaguicida en matriz de jugo de caña, se propone que; el jugo se refrigere inmediatamente después de haber sido extraído para evitar el rápido oscurecimiento del jugo y, con ello, evitar la interferencia de los compuestos que se puedan generar por dicho proceso con el plaguicida durante el análisis.
- Para la extracción en fase sólida se recomienda probar con diferentes adsorbentes a base de sílice, con el fin de eliminar las interferencias como son las ceras y algunos azúcares. Ello deberá reflejarse en un menor nivel de ruido a lo largo de la línea base en los cromatogramas, mejorando también los límites de detección con el objeto de detectar las bajas concentraciones del plaguicida.
- Debido a la falta de normativas respecto al uso y los límites máximos permisibles de ditiocabamato de sodio en jugo de caña en México es importante evaluar los compuestos en los que se degrada este plaguicida y determinar si existe algún riesgo para la salud al corto, mediano y largo plazos por la ingesta de los residuos producto de la degradación de este plaguicida que pudieran estar presentes en el azúcar de caña.
- Es necesario implementar una normativa aplicada al uso y manejo de este plaguicida en productos de consumo humano, con la finalidad de reducir y controlar los posibles riesgos que pudieran presentarse por un mal manejo de este plaguicida o de alguno de sus productos de degradación. A este respecto es importante continuar esta investigación estudiando la descomposición del metilisotiocianato y el CS₂ en condiciones ácidas y al primero y a S en condiciones alcalinas, que son los primer compuesto de degradación según la bibliografía (LAINCO, 2010).
- Finalmente, será muy interesante comparar la metodología de cromatografía de gases empleada en la Unión Europea detectando CS₂ paralelamente con la cromatografía de líquidos empleada en esta fase de la investigación con objeto de corroborar la aplicabilidad de ambas metodologías al jugo de caña.

Bibliografía

- Barpen (2010). Hoja de seguridad Trimatón® 51. Dirección electrónica (consultada el 20 de enero de 2010). <http://www.barpen.com/productos/pdf/4.pdf>
- Bernal-González, M. (2008). Desarrollo de un muestreador pasivo para carbamatos y triazinas en agua. Tesis doctoral. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería, Ingeniería Ambiental. UNAM. México D.F. México.
- Blasco, C., Font, G., Pico, Y. (2003). Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1028(2):267-276.
- CICOPLAFEST (2004). Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de los plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. Catálogo de plaguicidas, SAGARPA. México, D.F. México.
- Cisproquim (2010). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010). [http://www.cisproquim.org.co/HOJAS_SEGURIDAD/Hidroxido de Sodio.pdf](http://www.cisproquim.org.co/HOJAS_SEGURIDAD/Hidroxido_de_Sodio.pdf). Bogotá D.C. Colombia.
- CODEX (2007). Comisión del Codex Alimentarius. PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS. 39ª Reunión. 7 al 12 de mayo de 2007. Beijing (China).
- COINSA (2009). Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). <http://www.e-coinsa.com.mx/Fichas/Ingenios/Proceso%20de%20Crudo/Biocida%20DT%20EQ-0501.pdf>
- Colombo, R., Lancas, F. (2005). Determination of flavonoids in cultivated sugarcane leaves, bagasse, juice and in transgenic sugarcane by liquid chromatography-UV detection. *Journal of Chromatography A*, 1103(1):118-124.
- Cremllyn, R. J. (1991). Agrochemicals, preparation and mode of action. Editorial John Wiley & Sons, pp. 164-167. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Crnogorac G., Schmauder, S. (2008). Trace analysis of dithiocarbamate fungicide residues on fruits and vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 22(16):2539-2546.
- Crovetto, G., Gómez, M. I., Thomas, J., Martínez, P.J., Quintero, B. (2009). Estudio de las propiedades de ditiocarbamatos. Departamento de Química Física. Facultad de Farmacia de Granada. Granada, España. Dirección electrónica: <http://campus.usal.es/~quimfis/resumen/Crovetto.pdf>
- Dadma (2010). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010) <http://www.dadma.gov.co/paginas/guias%20ambientales/documentos/Guia12.pdf>
- De-Bertrand N., Barceló D. (1991). Photodegradation of the carbamate pesticides aldicarb, carbaryl, and carbofuran in water. *Anal. Chim. Acta*, 254:235-244.

- Dee Snell, F. (1986). Colorimetric methods of analysis including photometric methods. Vol. IV. AA. Editorial Van Nostrand Reinhold Company, pp. 29-32. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Eller, K., Henkes, E., Rossbacher, R., Höke, H. (2005). "Amines, Aliphatic" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Edit. Wiley-VCH, pp. 72-79. Weinheim, República Federal de Alemania.
- Ermer, J., Miller, J. H. (2005). Method Validation in Pharmaceutical Analysis. Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 1 ed. pp. 35-39. República Federal de Alemania.
- Escudero, E. (2010). Cromatografía de líquidos. Dirección electrónica (consultada el 20 de enero de 2010). <http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/5.5Cromatografiadeliquidoss7806.pdf>
- Gómez, R., Serrano, A. (2010). Cromatografía. Principios y aplicaciones. Dirección electrónica (consultada el 20 de enero de 2010). http://www.profeonline.com/laboratorioquimico/mod_12/docs/cromatografia_fundamentos_y_aplicaciones.pdf
- Hayes, W. J. (1991). Handbook of pesticides. Toxicology. Vol. 3. Classes of pesticides. Ed. Academic Press Inc. pp. 143-145. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Hughes, E. (2006). Determination of residues of dithiocarbamate pesticides in foodstuffs by a headspace gas chromatographic method. Edition 2. Issue No. 9. Campden & Chorleywood Food Research Association. Washington, D.C. EEUU.
- INE (2010). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010). http://www.ine.gob.mx/dgicurg/.../pdf/.../Isotiocianato_de_metilo.pdf
- Kirk, R. S. (1996). Pearson's composition and analysis of food. 9a ed. Editorial CECSA, p. 159. México D.F. México.
- LAINCO (2010). Dirección electrónica (consultada el 25 de mayo de 2010). <http://www.lainco.es/files/pdf/9132%20LAISOL.pdf> LAINCO, S.A.
- Lenntech (2010). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010). <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/s.htm>
- Martínez-González, O. (2007). Estudio comparativo de la validación de 2 técnicas instrumentales-Cromatografía de líquidos de alta eficiencia y espectroscopía UV-VIS-para el análisis cuantitativo de cefalexina. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México D.F. México.
- Mikes, O. (1979). Laboratory handbook of chromatographic and allied methods. Ed. Wiley & Sons; p. 134. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Morell, I., Candela, L. (1998). Plaguicidas. Aspectos ambientales analíticos y toxicológicos. Editorial Universitat Jaume I, pp. 275-276. Castellón. España
- Newbury (2009). Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). <http://www.newbury.com.ar/Boletines%20Tecnicos/Biocidas/newcarb%20100-200.pdf> Newbury, S.A.

- Nollet, L. (1996). Handbook of food analysis. Vol. 2. Residues and other food component analysis. Ed. Marcel Dekker Inc., pp. 1483-1485. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Nollet, L. (2006). Food analysis by HPLC. 6a ed. Ed. Marcel Dekker Inc., p. 697. Nueva York, N.Y. EEUU.
- Nitowski, A. J., Nitowski, A. A., Lent J.A. (1997). Capillary electrophoresis as a routine industrial tool for quantitative analytical testing. Determination of sodium dimethyldithiocarbamate in effluents. Journal of Chromatography A, 781(1):541-545.
- MINSA (2009). Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). <http://www.minsa.gob.pe/portal/p2005/documentos/digesa/NormaSanitariaAJDCH.pdf>. Norma sanitaria aplicable a los azúcares y jarabes destinados al consumo humano (prepublicada mediante rmn 684-2005/MINSA el 14 de septiembre de 2005); Dirección General de Salud Ambiental "DIGESA". Lima, Perú.
- Pawliszyn, J. (2002). Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory. Vol. XXXVII. Editorial Elsevier. pp. 341-373, 728-747 1029-1045.
- Peña, A., Cervera, E., Labastida, C. (2007). Colección de ejercicios de análisis cuantitativos por cromatografía de gases, UNAM, FQ. Departamento de Química Analítica; pp. 2-4. México D.F. México.
- Quiminet (2010). Dirección electrónica (consultada el 12 de febrero de 2010). www.quiminet.com/ar2/ar_zgtadddsaarm-seleccion-y-uso-de-solventes-en-cromatografia-hplc.htm
- Quiored. (2010). Dirección electrónica (consultada el 28 de agosto de 2010). http://www.ugr.es/~quiorred/lab/oper_bas/ex_li_li.htm
- SAGARPA (2007-2012). Programa Nacional de la Agroindustria de la Caña de Azúcar. Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). (sagarpa.gob.mx/agricultura/Documents/PRONAC.pdf).
- Sagratini, G., Mañes, J., Giardina D. (2007). Analysis of carbamate and phenylurea pesticides residues in fruit juices by solid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry. Italia Febrero 2007. Journal of Chromatography A, 1147(2):135-143.
- San Carlos (2009a). Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). http://www.sancarlos.com.ec/pdf/diagrama_azucar.pdf (a). Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A. Ecuador.
- San Carlos (2009b). Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). http://www.sancarlos.com.ec/pdf/proceso_azucar.pdf (b). Sociedad Agrícola e Industrial San Carlos S.A. Ecuador.
- SARA (2010). Dirección electrónica (consultada el 14 de mayo de 2010). <http://www.uv.mx/sara/>. Servicios de Apoyo en Resolución Analítica, Universidad Veracruzana. México.

- SEDESOL-INE (2000). Secretaría de Desarrollo Social. Instituto Nacional de Ecología. Características de peligrosidad ambiental de plaguicidas, Manual de Trabajo, Noviembre 2000. México D.F. México.
- Serrano, G. L. (2006). Determinación de las poblaciones microbiológicas en el proceso de extracción de jugo de caña de azúcar en el Ingenio Manuelita S.A. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Colombia.
- SIAP (2010). Dirección electrónica (consultada el 5 de octubre de 2010). <http://www.campomexicano.gob.mx/azcf/reportes/reportes.php?tipo=CIERRE> Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México.
- Skoog, D., West, D., Holler, J. (1997). Fundamentos de química analítica. 4a ed. Ed. Reverté, p. 711. Barcelona, España.
- Solvaychemicals (2010a). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010). http://www.solvaychemicals.us/static/wma/pdf/1/6/2/8/2/SodiumSulfide_Hydrated_SP.pdf. Solvay chemicals, Inc.
- Solvaychemicals (2010b). Dirección electrónica (consultada el 11 de agosto de 2010). http://www.solvaychemicals.us/static/wma/pdf/1/6/0/0/8/SODHYDROSULFIDE_SP.pdf. Solvay chemicals, Inc.
- Soriano, J.M., Jiménez, B., Font, G., Molto J.C. (2001). Analysis of carbamate pesticides and their metabolites in water by solid phase extraction and liquid chromatography: A review. Crit. Rev. Anal. Chem., 31(1):19-52.
- Stanier, R. Y. (1986). Microbiología. 2a ed. Editorial Reverté S.A. p. 713. Barcelona, España.
- Tesisenxarxa (2010). Dirección electrónica (consultada el 2 de febrero de 2010). http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-1105103-141420//3.pdf Tesis Doctorales en Xarxa.
- UCO (2010). Pagina web del Departamento de Física Aplicada de la Universidad de cordoba España. Dirección electrónica (consultada el día 28 de diciembre de 2009) http://rabfis15.uco.es/labquimica/Tutorial-imágenes/crom_liquidos.jpg
- UNC (2010). Dirección electrónica (consultada el 5 de octubre de 2010). <http://www.caneros.org.mx/> Unión Nacional de Cañeros, A.C.-CNPR, México.
- Unión Europea (2009). Base de datos de pesticidas. Dirección electrónica (consultada el 14 de agosto de 2009). http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=substance.resultat&s=1
- Valle, P., Lucas, B. (2000). Toxicología de alimentos. Instituto Nacional de Salud Pública, Centro Nacional de Salud Ambiental. México, D.F. 2000, pp. 22-23.

Anexo A

Curvas de calibración en metanol y agua a pH de 4, 7 y sin modificar pH

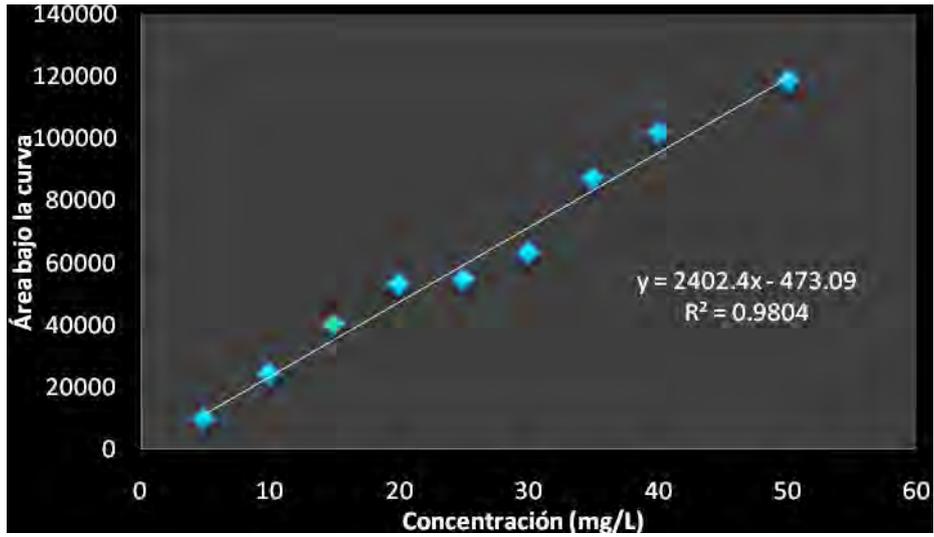


Fig. A.1. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua sin modificar pH

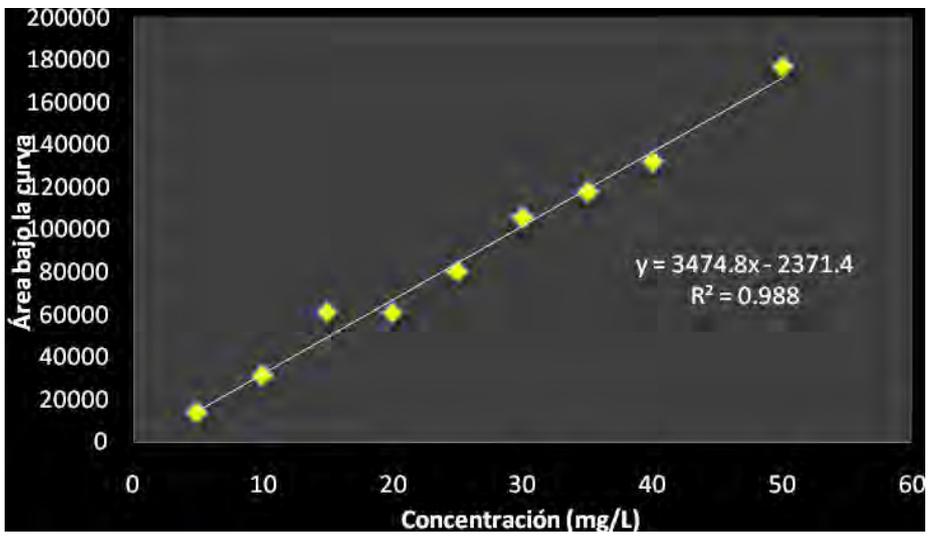


Fig. A.2. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol sin modificar pH

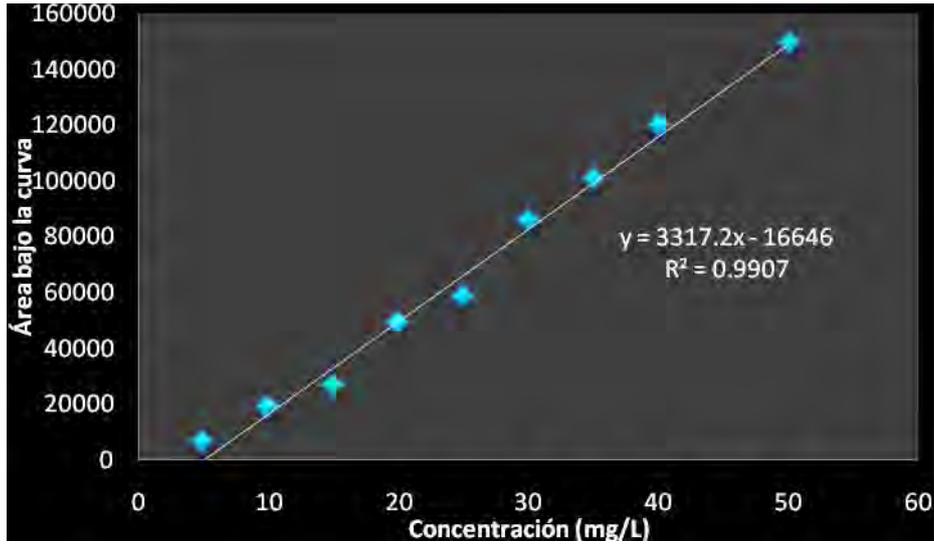


Fig. A.3. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua a pH 4

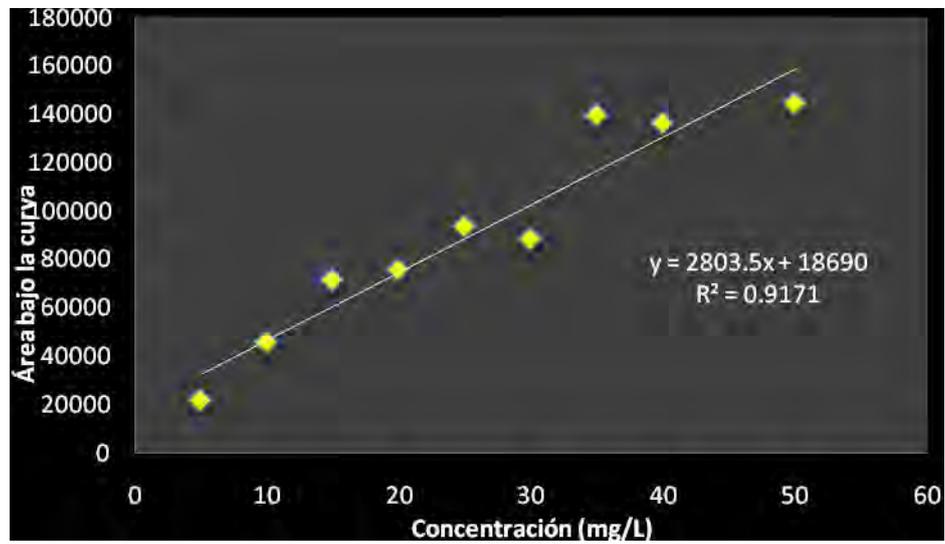


Fig. A.4. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol a pH 4

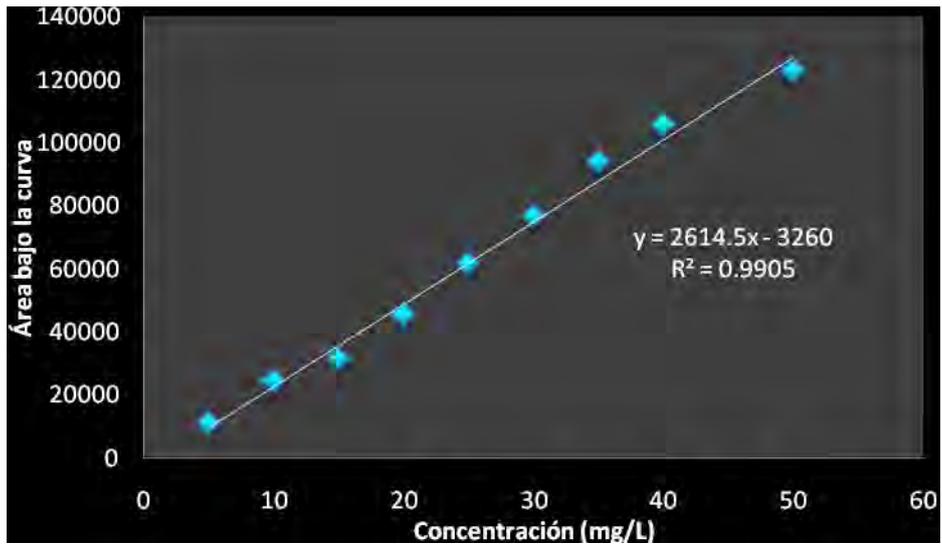


Fig. A.5. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en agua a pH 7

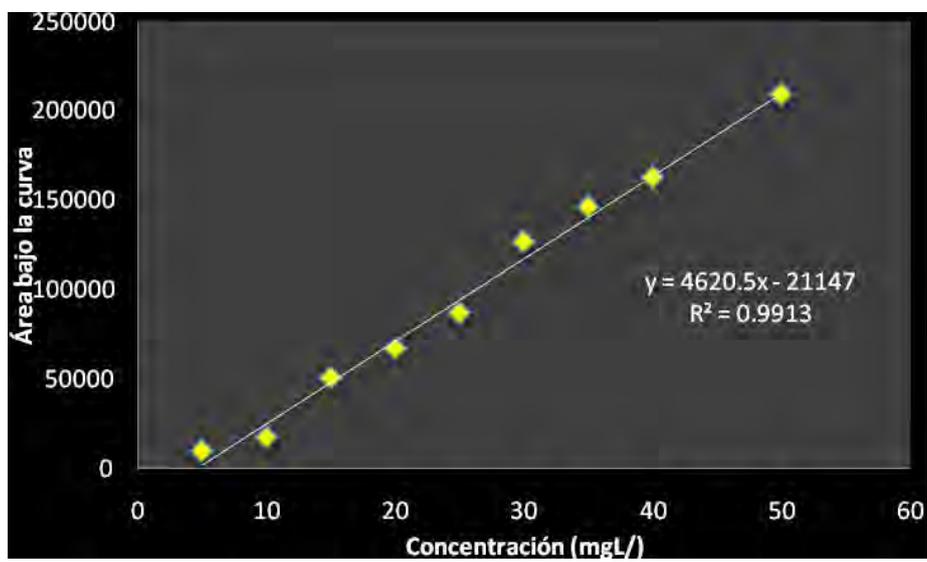


Fig. A.6. Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en metanol a pH 7

Anexo B

Curvas de cinética de degradación del ditiocarbamato de sodio del diseño experimental

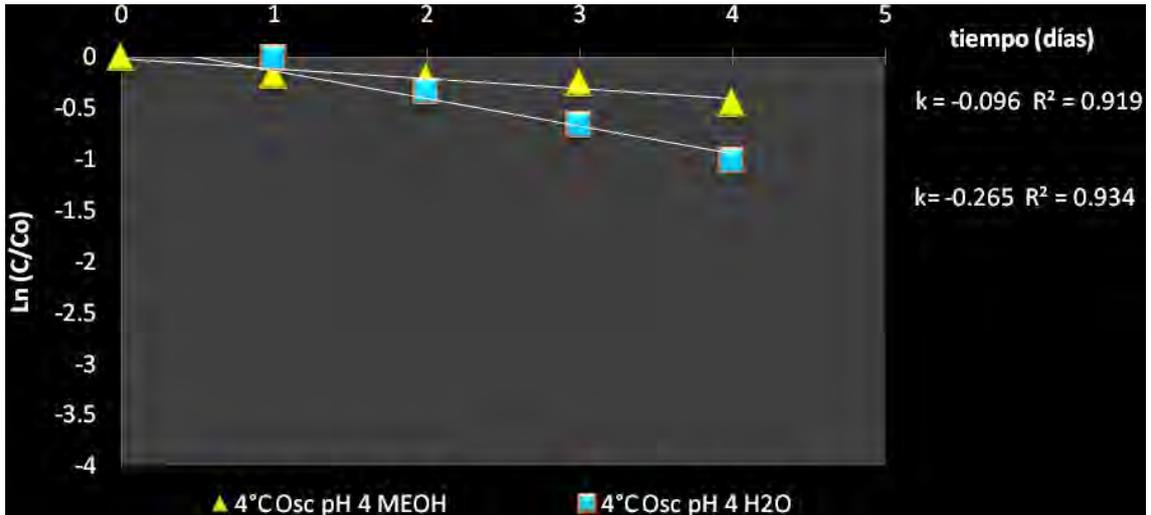


Fig.B.1. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, oscuridad y pH 4

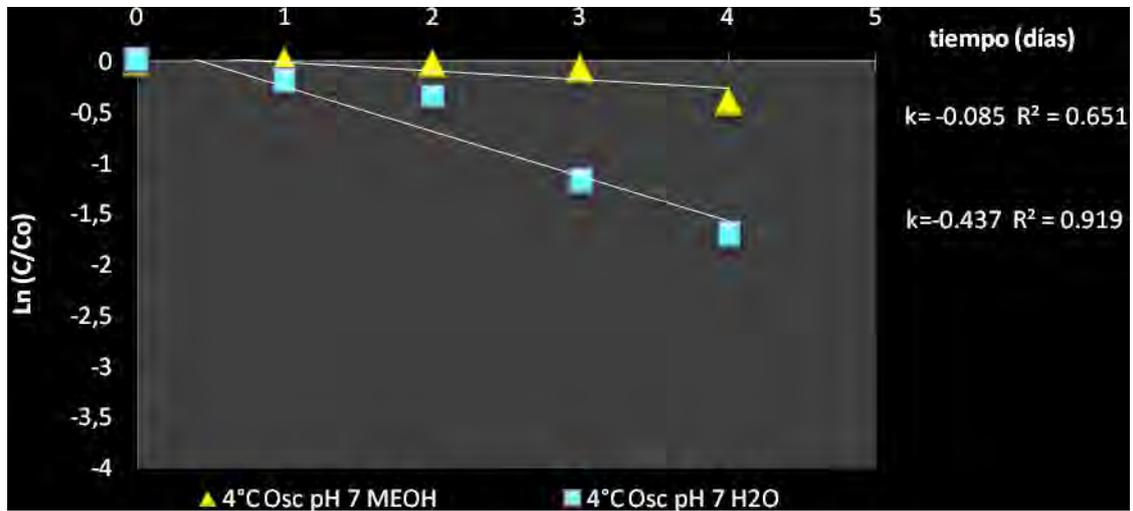


Fig.B.2. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, oscuridad y pH 7

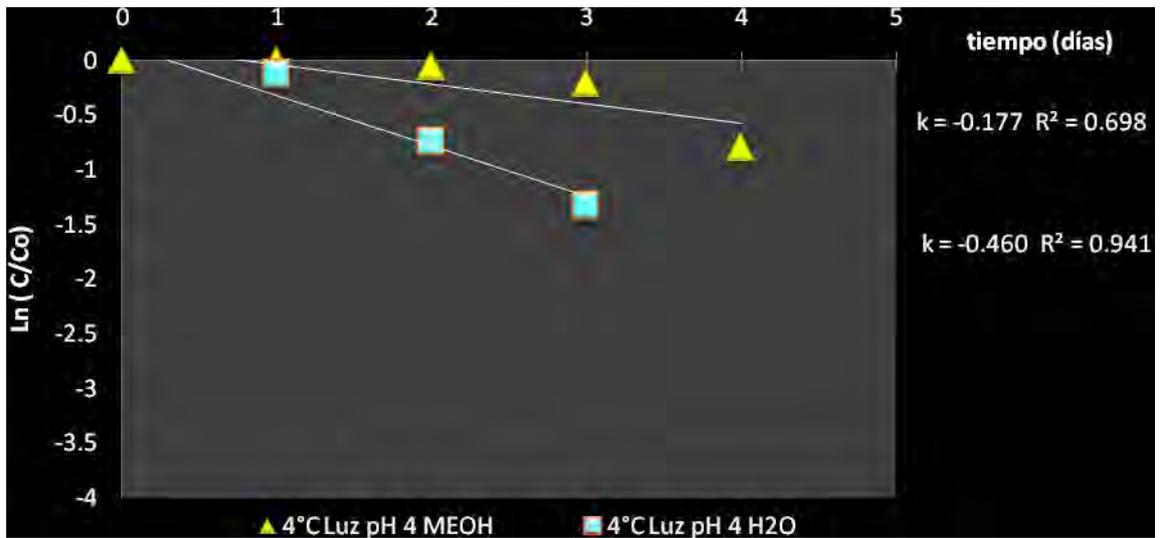


Fig. B.3. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, luz y pH 4

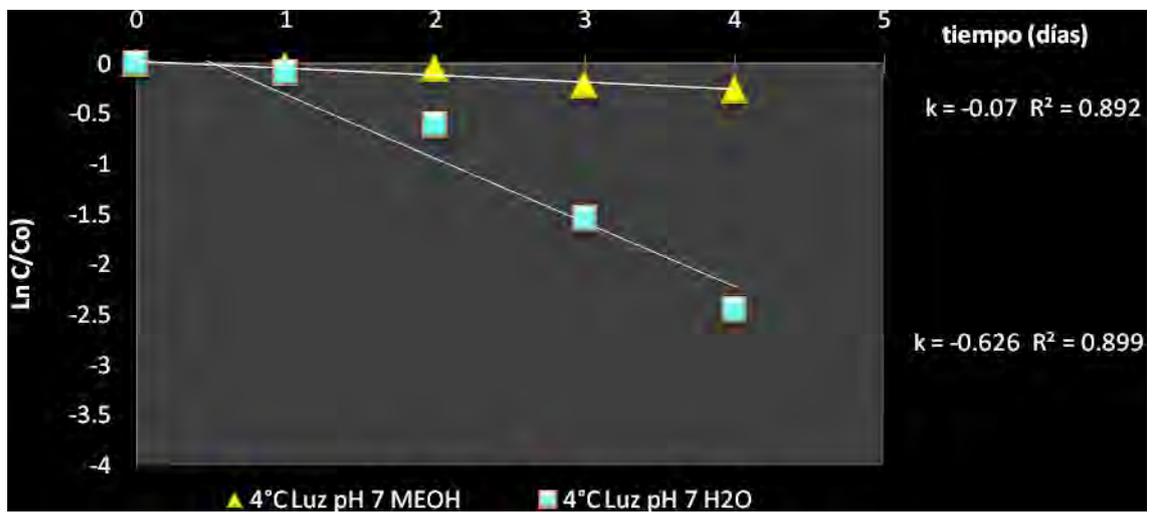


Fig. B.4. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 4°C, luz y pH 7

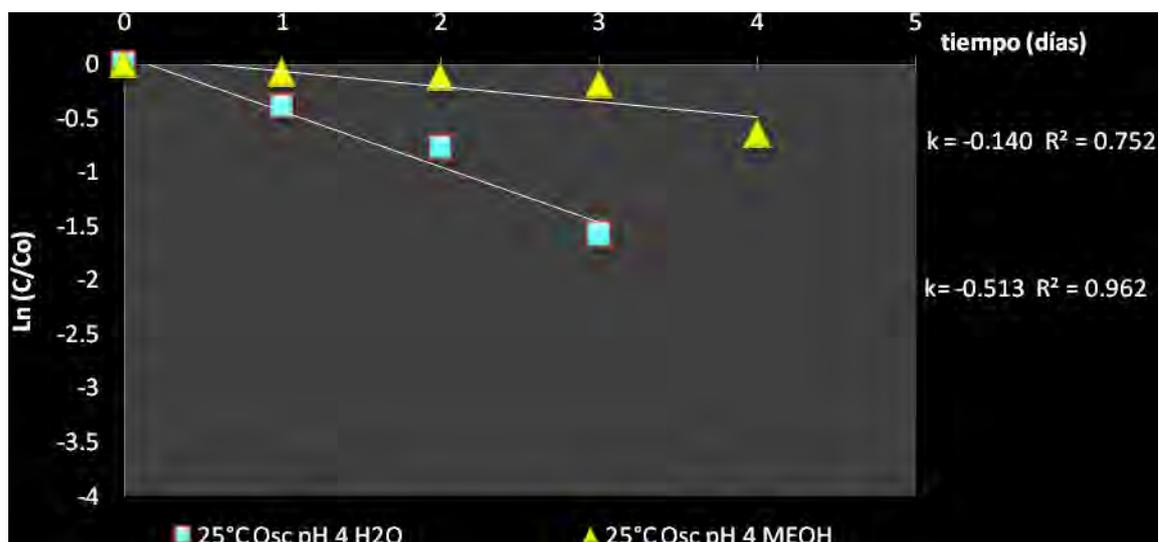


Fig. B.5. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, oscuridad y pH 4

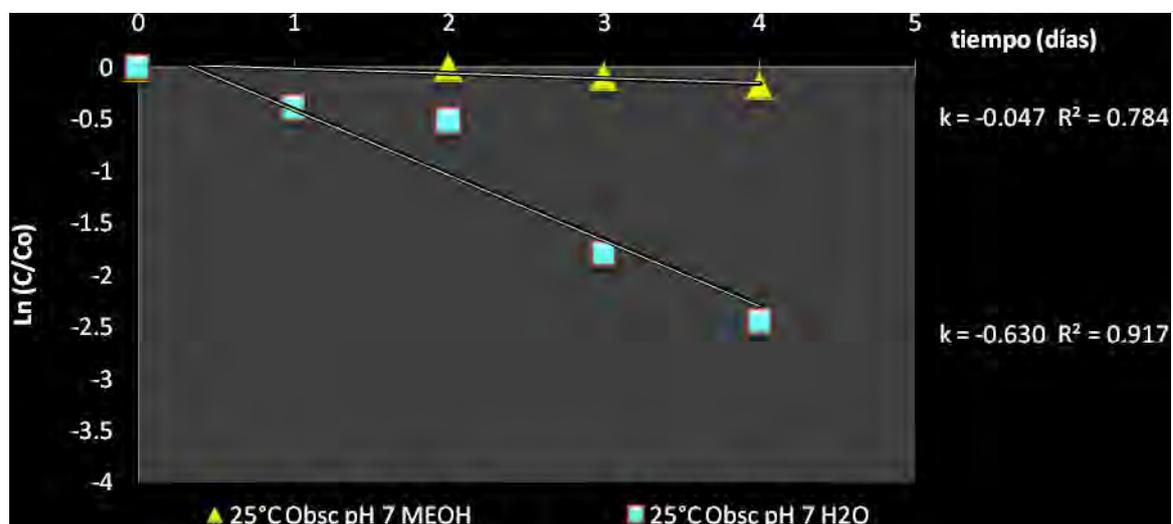


Fig. B.6. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, oscuridad y pH 7

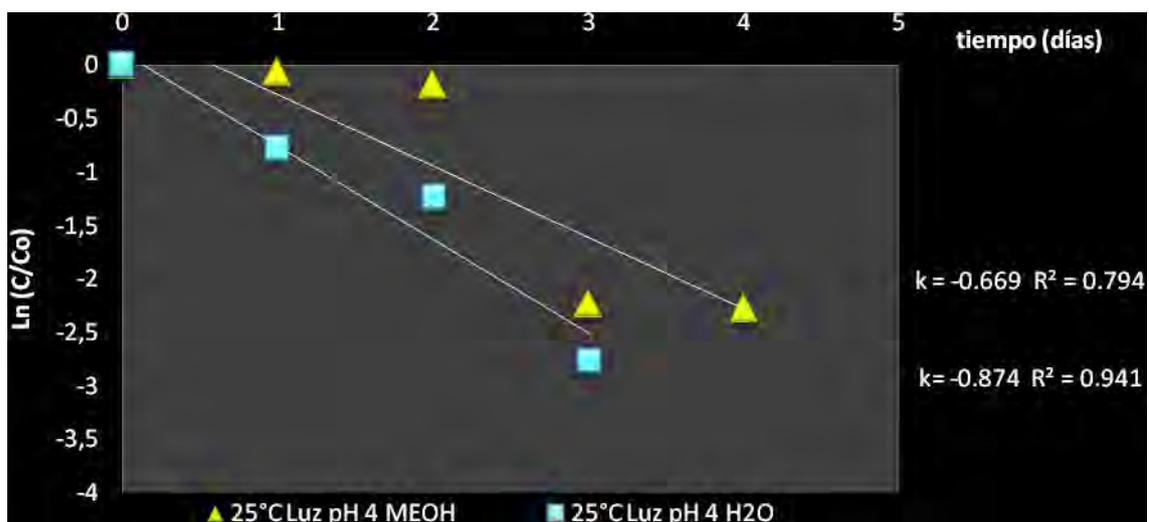


Fig. B.7. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, luz y pH 4

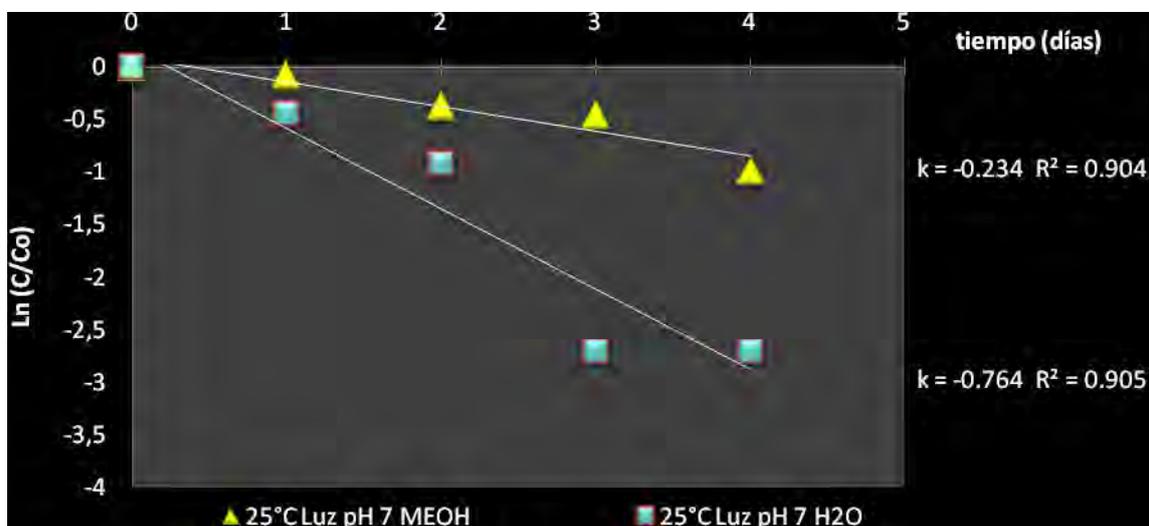


Fig. B.8. Degradación del ditiocarbamato de sodio en agua y metanol a 25°C, luz y pH 7

Anexo C

Gráficos de superficie de respuesta de los factores del diseño experimental

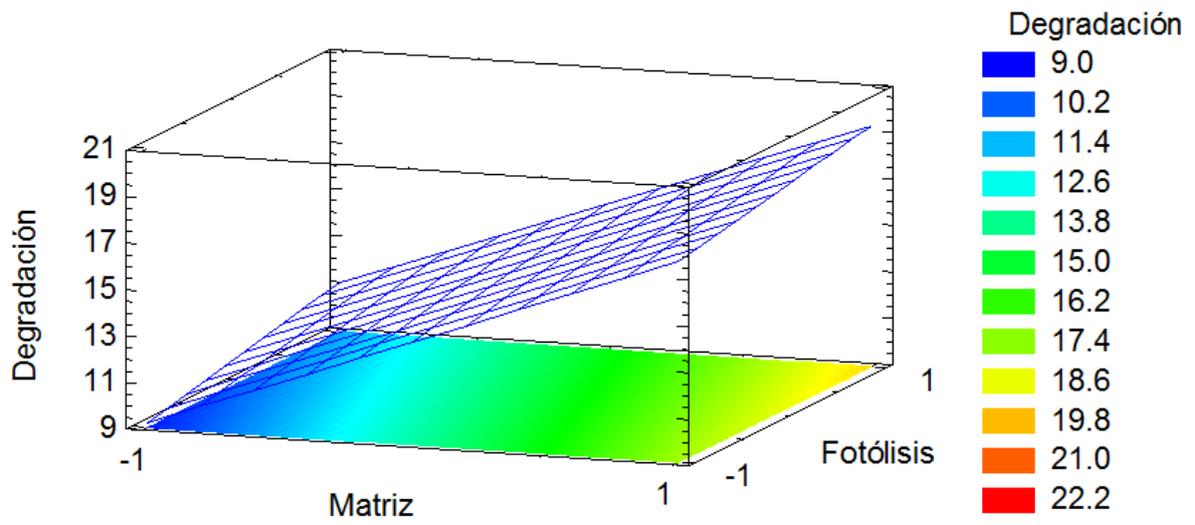


Fig. C.1. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua (-1); metanol (1)], fotólisis [luz (-1); oscuridad (1)]

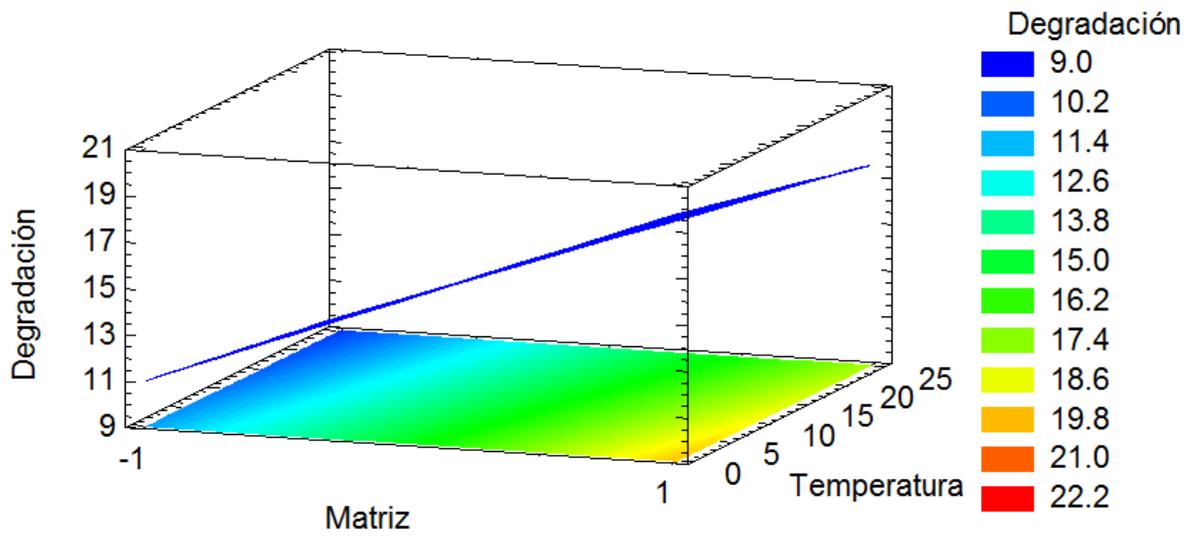


Fig. C.2. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua (-1); metanol (1)], temperatura (4; 25°C)

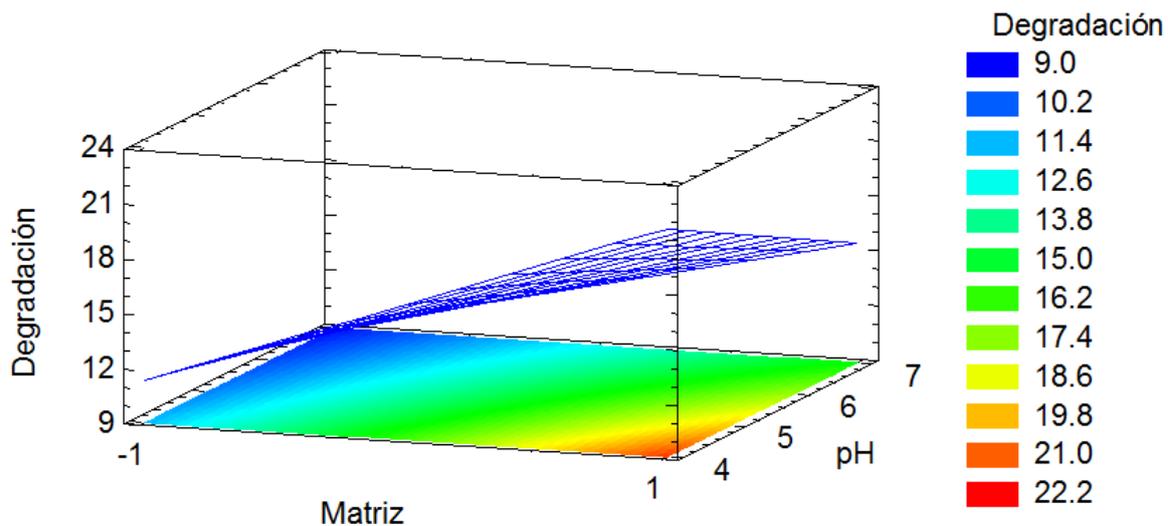


Fig. C.3. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua (-1); metanol (1)], pH (4; 7)

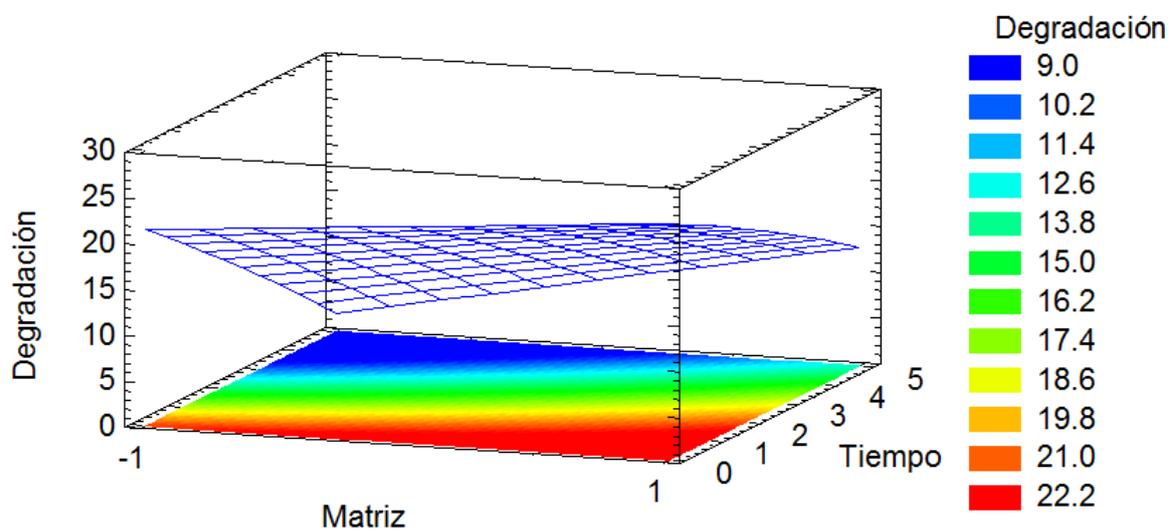


Fig. C.4. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la matriz [agua (-1); metanol (1)], tiempo (1; 5 días)

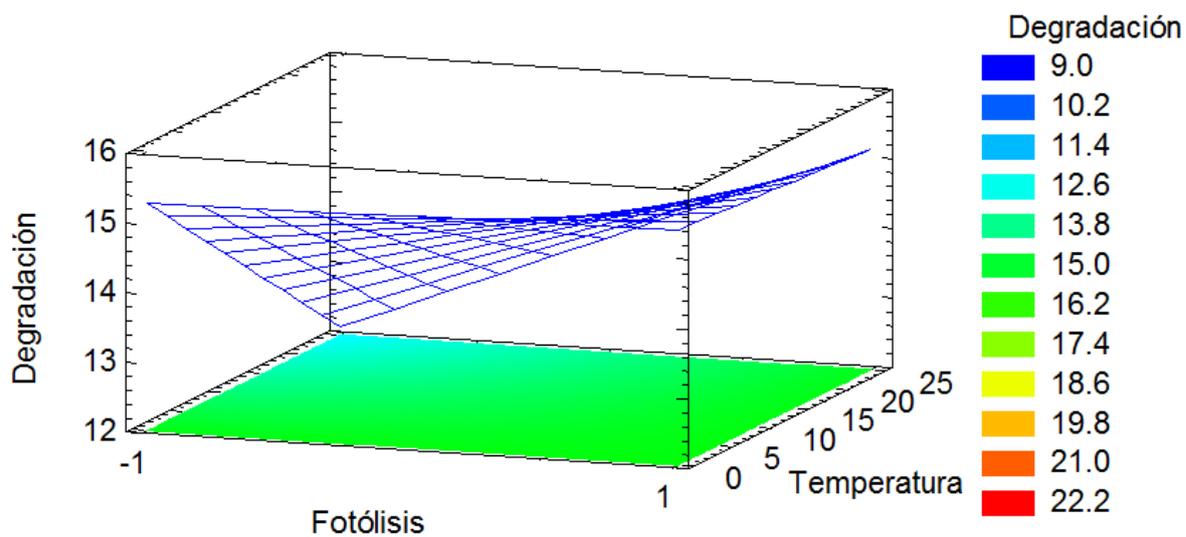


Fig. C.5. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1); oscuridad (1)], temperatura (4; 25°C)

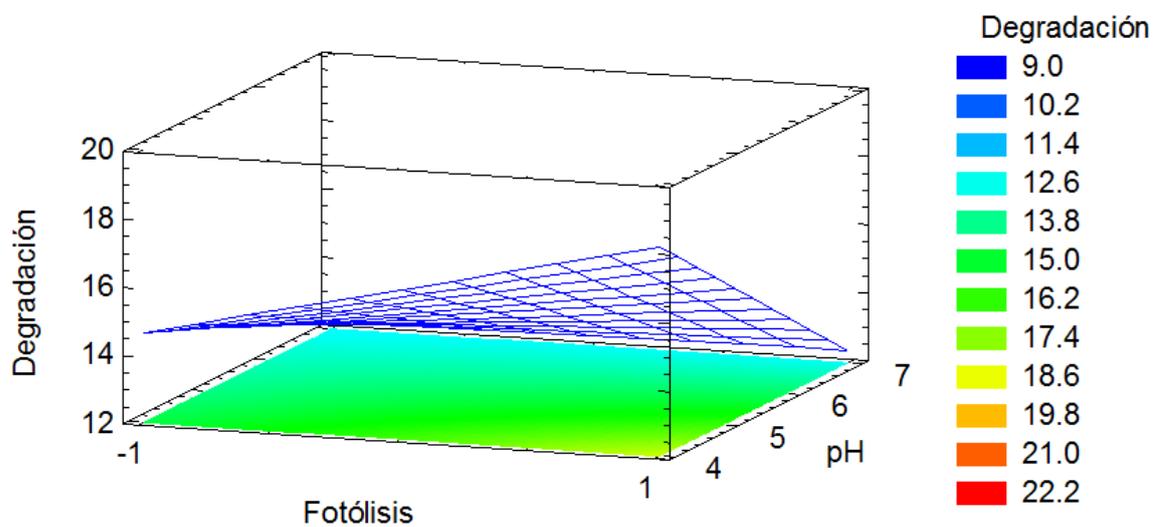


Fig. C.6. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1); oscuridad (1)], pH (4; 7)

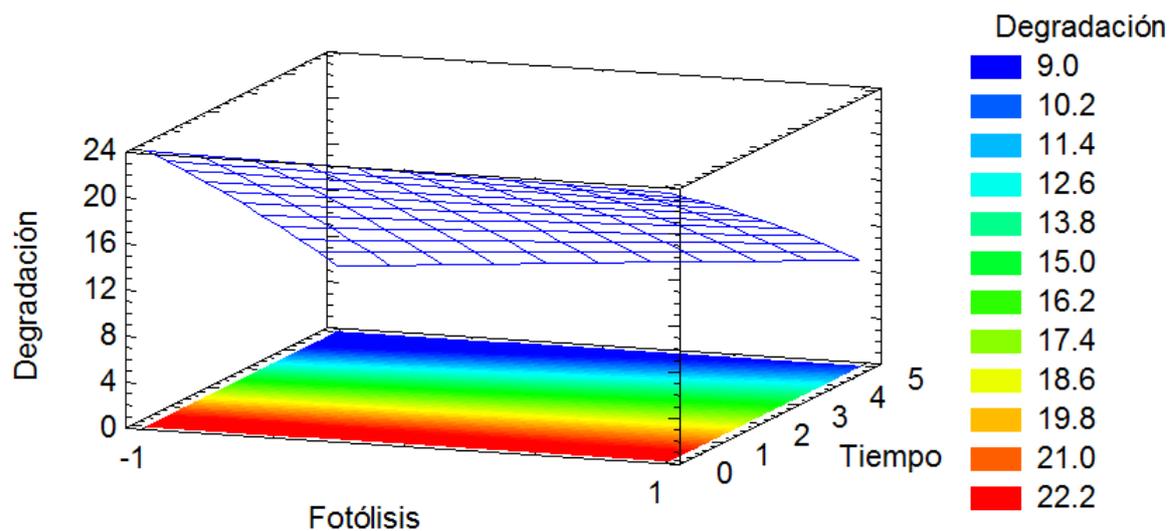


Fig. C.7. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la fotólisis [luz (-1); oscuridad (1)], tiempo (1; 5 días)

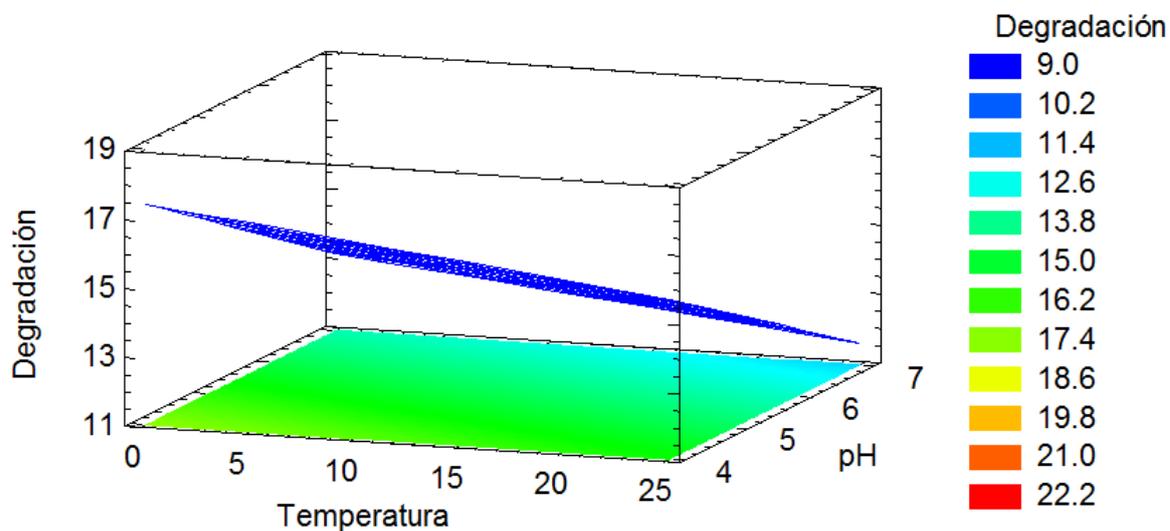


Fig. C.8. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la temperatura (4; 25°C), pH (4; 7)

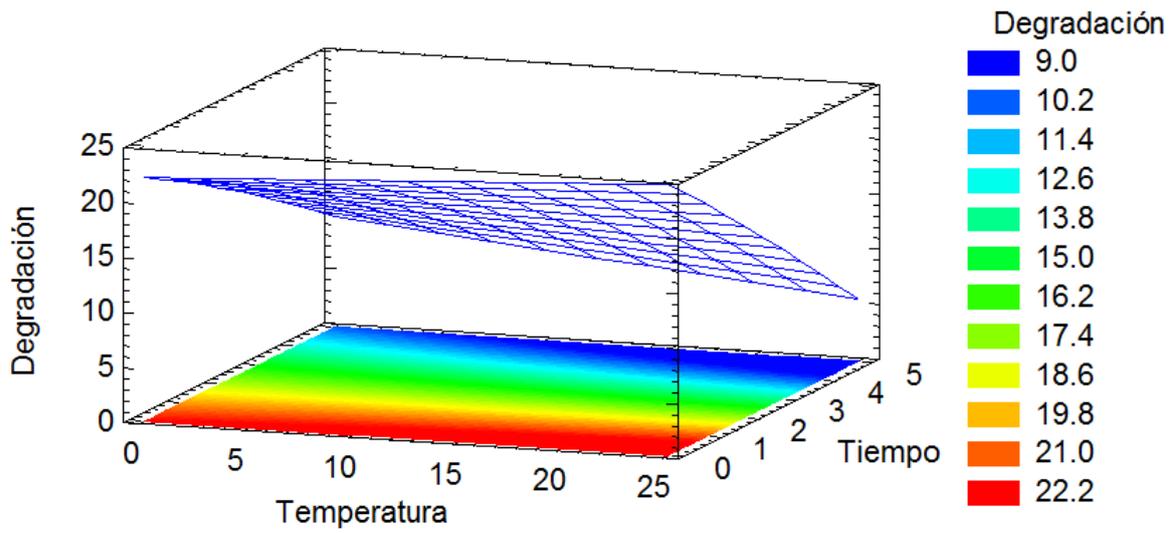


Fig. C.9. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función de la temperatura (4; 25°C), tiempo (1; 5 días)

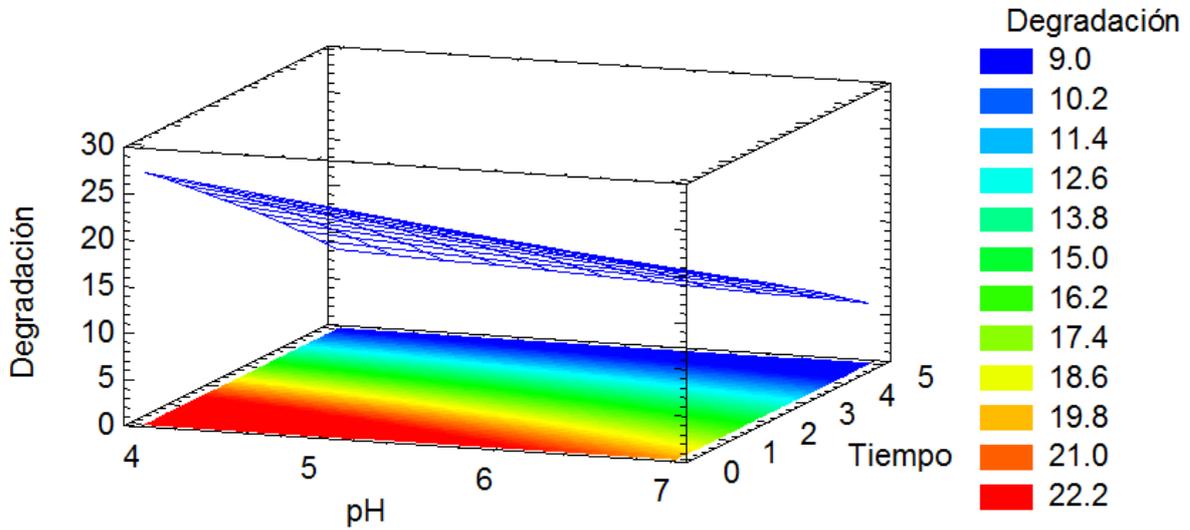


Fig. C.10. Degradación del ditiocarbamato de sodio en función del pH (4; 7), tiempo (1; 5 días)

Anexo D

Curva de calibración de ditiocarbamato de sodio en jugo de caña

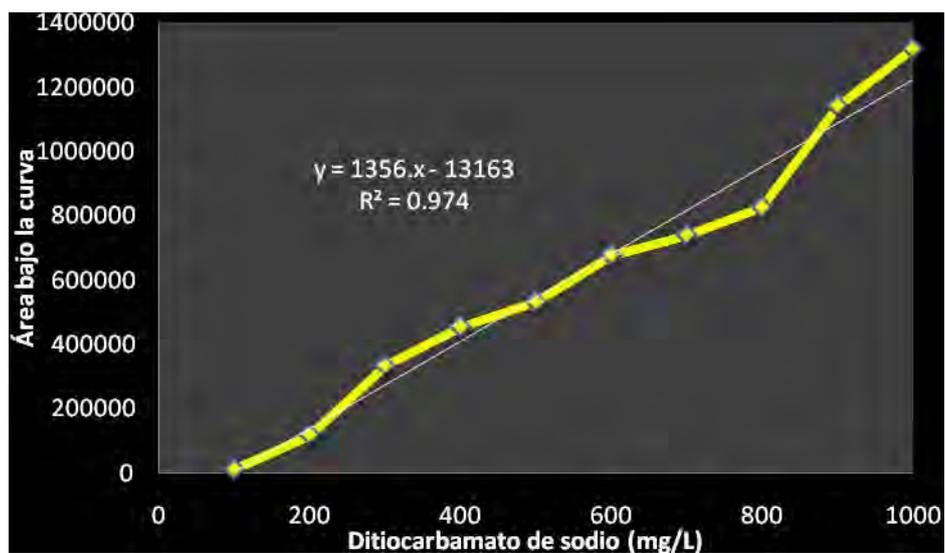


Fig. D.1. Curva de calibración del ditiocarbamato de sodio en jugo de caña

Anexo E

Tratamiento de residuos

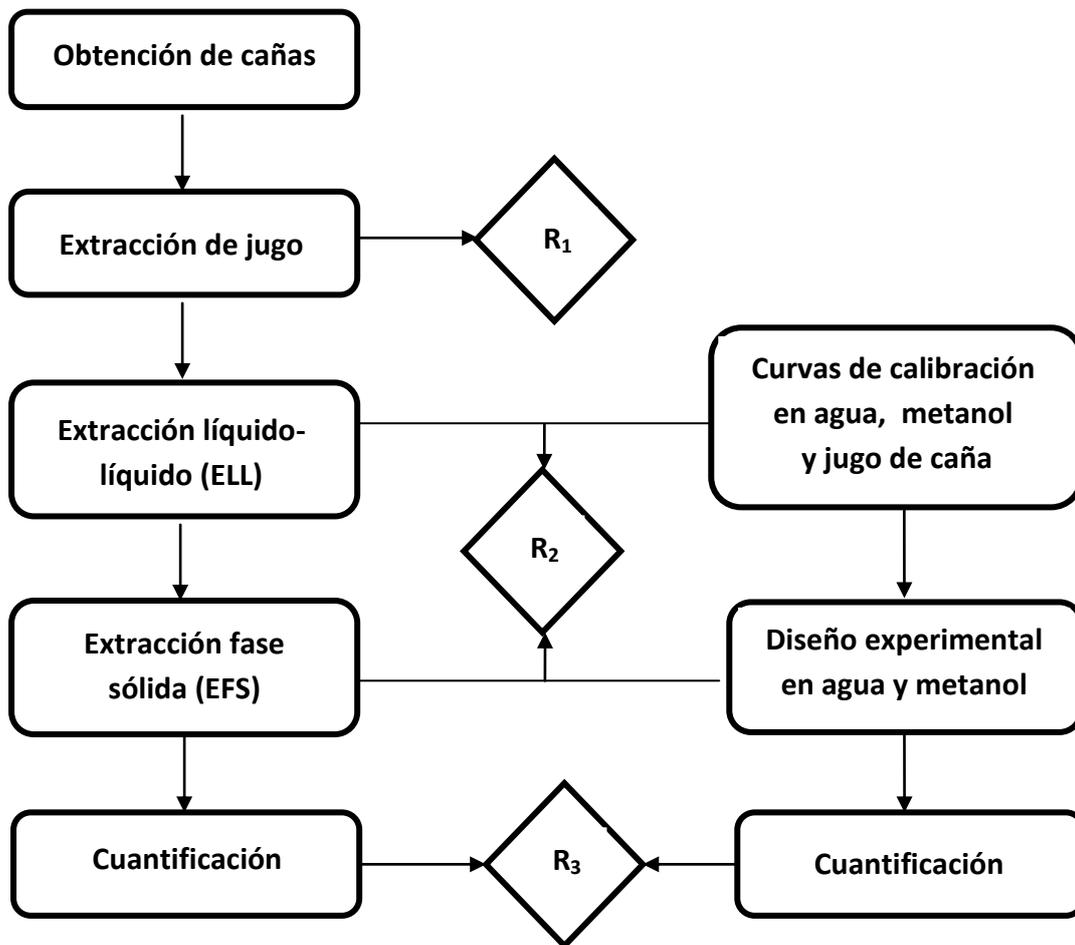


Fig. E.1. Disposición de los residuos generados durante la investigación

R₁ = Corresponde a los desechos de la extracción del jugo de la caña: la cáscara, el bagazo y demás materia orgánica

R₂= Corresponde a la mezcla de metanol, agua y jugo de caña de las muestras de las extracciones, curvas de calibración y diseño experimental

R₃= Corresponde a la mezcla de fase móvil agua-acetonitrilo, así como las muestras inyectadas del plaguicida

Residuo	Tratamiento
R₁	Se desecha en los residuos orgánicos
R₂	Se realiza una destilación simple para recuperar el metanol
R₃	Sometidos a tratamientos para recuperar el acetonitrilo, y el metanol. El plaguicida puede ser eliminado por temperatura, fotólisis o con ácidos o bases fuertes

Anexo F

Información toxicológica

Tabla F.1. Toxicidad de los posibles productos de degradación del ditiocarbamato de sodio

Compuesto	Toxicidad
<p>Isotiocianato de metilo</p> <p>CH₃-N=C=S</p>	<p>En el aire existe únicamente como vapor, el cual se degrada en la atmósfera mediante reacciones con radicales hidroxilo, con un tiempo de vida media igual a 118 días. Este compuesto es susceptible a la fotólisis directa en el aire. En el suelo tiene una movilidad muy alta y es degradado por acción de los microorganismos (vida media estimada de 0.5 a 50 días). En el agua es eliminado por hidrólisis, mostrando vidas medias de 65 a 178 días a pH 7, de 0.7 a 10 días a pH 10 y de 15 a 67 días a pH 5. La volatilización es un destino ambiental importante para este plaguicida, tanto en el agua (vida media de 12 horas a 8 días) como en suelo. Su potencial de bioconcentración en organismos acuáticos es bajo (INE, 2010)</p>
<p>Sulfuro de sodio Na₂S</p>	<p>Toxicidad agua por vía oral - DL₅₀, rata, entre 208 - 254 mg kg⁻¹</p> <p>Irritación de la piel - conejo, efectos corrosivos</p> <p>Irritación ocular - Experiencia humana, riesgo de lesiones oculares graves</p> <p>Observaciones - Nocivo por ingestión - Efecto corrosivo para los ojos, para la piel y las vías respiratorias - Posibilidad de efectos nerviosos y respiratorios - Efecto mutágeno ambiguo</p> <p>Persistencia y degradabilidad</p> <p>Degradación abiótico - Aire, fotooxidación indirecta, degradación química entre 0,6 - 2 % (sulfuro de hidrógeno) condiciones: sensibilizador: radical OH/O₃</p> <p>Productos de degradación: Anhídrido sulfuroso / sulfatos / sulfitos</p> <p>- Agua/suelo Resultado: complejación/precipitación de materiales inorgánicos y orgánicos</p> <p>- Agua/suelo Resultado: oxidación Productos de degradación: sulfatos</p> <p>Biodegradación - aeróbico, ensayado según: oxidación (Sulfuros)</p> <p>Productos de degradación: sulfitos / sulfatos /sulfuro de hidrógeno - anaeróbico, Ensayado según: biodegradación por sulforeducción (sulfatos), metanogenesis (sulfatos) (Solvaychemicals, 2010a)</p>
<p>Sulfuro de carbono CS₂</p>	<p>CL₅₀ (Inhalación, ratas): 25 mg m⁻³/2 horas</p> <p>Ha sido investigado como mutagénico y causante de efectos reproductivos. Una exposición prolongada por inhalación a bajos niveles de disulfuro de carbono puede tener efectos adversos en el sistema reproductivo. En casos de exposición crónica, se han reportado desórdenes menstruales, abortos espontáneos y nacimientos prematuros en absorciones de 2 mg L⁻¹. Así como efectos</p>

	crónicos ocasionando fallos en: sistema respiratorio, daños renales, cardiovasculares, gastrointestinales, hematológicos, hepáticos, neurológicos (Dadma, 2010)
Metilamina CH₃NH₂	La dosis letal CL ₅₀ para ratón es 2400 mg m ⁻³ Ingestión: causa calambres abdominales Inhalación: causa, tos, diarrea, dificultad respiratoria, jadeos, dolor de garganta y vómito Piel: causa quemaduras, enrojecimiento y dolor Ojos: causa dolor, enrojecimiento y lagrimeo (Eller <i>et al.</i> , 2005)
Hidróxido de sodio NaOH	LDLo oral conejos es de 0.5 g kg ⁻¹ Piel: causa severos daños a la piel por quemaduras Respiratoria por inhalación: irritación significativa al tracto respiratorio No existe información relacionada con efectos teratogénicos, mutagénico o neurotóxico (Cisproquim, 2010)
Azufre S	Causa efectos neurotóxicos y cambios del comportamiento Alteración de la circulación sanguínea Daños cardiacos, efectos en ojos y vista, daños al sistema inmunitario, daños en funciones de hígado y riñones Información ecológica: peligroso para la vida acuática, mortal en peces a partir de 20 mg L ⁻¹ , toxicidad en peces CL ₁₀ = 25 mg kg ⁻¹ /24 h. No biodegradable (Lenntech, 2010)
Bisulfuro de sodio NaSH	Toxicidad agua por vía oral - DL ₅₀ , rata, entre 96 - 200 mg kg ⁻¹ Irritación de la piel - Corrosivo Irritación ocular - Corrosivo Sensibilización - Experiencia humana, Sensibilización respiratoria (Sulfito de sodio) Toxicidad genética in vitro - Efectos mutágenos Observaciones - Tóxico por ingestión - Efecto corrosivo ligado a las propiedades alcalinas del producto - Posibilidad de sensibilización por inhalación - Posibilidad de efectos nerviosos y respiratorios Toxicidad aguda - Peces, <i>Semolitis atromaculatus</i> , CL ₅₀ , 24 h, entre 4 - 10 mg L ⁻¹ - Peces, <i>Gambusia affinis</i> , LOEC, 96 h, 206 mg L ⁻¹ Toxicidad crónica - Peces, <i>Salmon sp.</i> , LOEC, mortalidad, 2.5 mg L ⁻¹ Movilidad - Aire Observaciones: movilidad en forma de aerosoles sólidos - Agua/suelo Observaciones: solubilidad y movilidad importante

	<p>Persistencia y degradabilidad</p> <p><i>Degradación abiótica</i></p> <p>1. Aire, fotooxidación indirecta, Degradación química entre 0,6 - 2% 1 h (sulfuro de hidrógeno)</p> <p>Condiciones: sensibilizador: radical OH/O₃</p> <p>Productos de degradación: Anhídrido sulfuroso / sulfatos / sulfitos</p> <p>- Agua/suelo</p> <p>Resultado: complexación/precipitación de materiales inorgánicos y orgánicos</p> <p><i>Biodegradación</i></p> <p>- aeróbico, ensayado según: oxidación</p> <p>Productos de degradación: sulfitos / sulfatos</p> <p>(Solvaychemicals, 2010b)</p>
--	---

DL₅₀: Dosis letal media; **LOEC**: Concentración más baja a la cual se observa efecto; **CL₅₀**: Concentración letal media; **CL₁₀**: Concentración letal, **LDLo**: Dosis letal mínima oral