



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Extracción de biocidas más utilizados en la industria  
azucarera, Metam de sodio (MS) en agua**

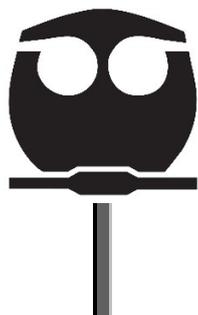
**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**TANIA SOFÍA DEL RÍO NAVA**



**C.D.M.X. SEPTIEMBRE 2017**



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:** M en A. I., QFB Landy Irene Ramírez Burgos

**SECRETARIO:** Dra. Marisela Bernal González

**1er. SUPLENTE:** M en C. Rolando Salvador García Gómez

**2° SUPLENTE:** Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Laboratorios 301, 302, 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental,  
Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Química, UNAM.

**ASESORA DEL TEMA:**

Dra. Marisela Bernal González

\_\_\_\_\_

**SUPERVISORA TÉCNICA:**

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:**

Tania Sofía Del Río Nava

\_\_\_\_\_

## **DECLARATORIA**

**Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmada en la Legislación Universitaria en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o referencias a la obra de otros autores aparecen debida y adecuadamente señalados, así como acreditadas mediante los recursos editoriales convencionales.**

---

**Sustentante**

**Tania Sofía Del Río Nava**

## **Reconocimientos**

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) tanto por la beca otorgada a la culminación de mis estudios de licenciatura como por la adquisición de materiales, reactivos, etc., mediante el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) dentro del proyecto con clave IN102214.

<b>Índice</b>	<b>Pág.</b>
<b>Glosario</b>	i
<b>Índice de tablas</b>	ii
<b>Índice de figuras</b>	iv
<b>Resumen</b>	1
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Introducción</b>	
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Hipótesis	3
1.3. Objetivos	3
1.4. Justificación	3
<b>Capítulo 2</b>	
<b>Fundamento teórico y antecedentes</b>	
2.1. La caña azucarera	5
2.1.1. Características de la caña de azucarera	5
2.1.2. Composición de la caña de azúcar	6
2.1.3. Composición nutrimental del juego de caña de azúcar	7
2.1.4. La industria azucarera en México	8
2.2. Microorganismos indeseables	13
2.3. Metam de sodio para eliminar a los microorganismos indeseables	15
2.4. Métodos usuales para la medición de ditiocarbamatos	18
2.4.1. Espectrofotometría	18
2.4.2. Espectrofotometría de absorción atómica	19
2.4.3. Cromatografía en capa fina	20
2.4.4. Cromatografía de gases	21
2.4.5. Voltametría cíclica	21
2.4.6. Cromatografía de líquidos por alta resolución (HPLC)	22
2.4.6.1. Cromatografía líquida con fotometría	22
2.4.6.2. Cromatografía líquida con espectrometría de masas	24
2.5. Extracción en fase sólida (preparación de la muestra)	25

2.5.1. Adsorbentes	25
2.6. Uso de materiales de bajo costo para la extracción	27
2.6.1. Quitina	27
2.6.2. Quitosana	28

### **Capítulo 3**

#### **Metodología**

3.1. Desarrollo experimental	29
3.2. Obtención de las harinas de residuos de camarón	29
3.3. Caracterización de las harinas	30
3.4. Cartuchos de extracción en fase sólida	30
3.5. Preparación de los estándares	31
3.6. Extracción del jugo de caña	31
3.7. Extracción en fase sólida (EFS)	31
3.8. Cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR ( <i>HPLC</i> en inglés)	33
3.8.1. Límite máximo de detección del MS en el equipo	34
3.8.2. Curva de calibración del MS	34
3.9. Análisis estadístico	34

### **Capítulo 4**

#### **Resultados y discusión**

4.1. Obtención de la harina de residuos de camarón	35
4.2. Desmineralización de la mitad de la harina	35
4.3. Caracterización de las harinas entera y desmineralizada	36
4.4. Extracción del jugo de caña	37
4.5. Cuantificación por CLAR ( <i>HPLC</i> )	38
4.5.1. Límite máximo de detección del MS	38
4.5.2. Curva de calibración del MS	38
4.5.3. Porcentaje de recobro del MS	38

## **Capítulo 5**

<b>Conclusiones y recomendaciones</b>	42
5.1. Conclusiones	42
5.2. Recomendaciones	43
<b>Bibliografía</b>	44

<b>Índice de tablas</b>	<b>Pág.</b>
Tabla 2.1. Composición física de la caña de azúcar (Subirós-Ruiz, 1995)	6
Tabla 2.2. Composición química de caña de azúcar (Larrahondo, 1995)	6
Tabla 2.3. Composición del jugo de caña de azúcar (Larrahondo, 1995)	7
Tabla 2.4. Estados productores e ingenios azucareros (SIAP, 2017)	9
Tabla 2.5. Información de cierres en producción correspondiente a la zafra 2016 en México (SIAP, 2017)	10
Tabla 2.6. Parámetros de eficiencia, información de cierres (SIAP, 2017)	11
Tabla 2.7. Microorganismos presentes en el jugo de caña (Serrano, 2006)	14
Tabla 2.8. Espectro de actividad del Metam de Sodio (Lainco, 2017)	16
Tabla 2.9. Procedimiento general de la EFS (CROMLAB, 2017)	26
Tabla 3.1. Condiciones establecidas para la cuantificación de MS por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR ( <i>HPLC, high performance liquid chromatography</i> )	33
Tabla 4.1. Caracterización de las harinas de camarón	36
Tabla 4.2. Porcentaje de recuperación con diferentes mezclas metanol/agua	39
Tabla 4.3. Porcentaje de recuperación con diferentes volúmenes de disolución pasada por el cartucho	40
Tabla 4.4. Porcentaje de recuperación en las diferentes fracciones de volumen de elución	40
Tabla 4.5. Porcentaje de recuperación con diferentes cartuchos de EFS	41

<b>Índice de figuras</b>	<b>Pág.</b>
Fig. 1.1. Estructura del metam de sodio (NCBI, 2017)	2
Fig. 2.1. Estructura de la sacarosa (NCBI, 2017)	5
Fig. 2.2. Diagrama de flujo del proceso de producción de azúcar estándar (Domínguez-Manjarrez <i>et al.</i> , 2014)	13
Fig. 2.3. Reacción de inversión de la sacarosa (Yerga, 2014)	14
Fig. 2.4. Síntesis general de dextranas a partir de sacarosa (Larrahondo, 1995)	14
Fig. 2.5. Reacción de descomposición de MS en soluciones ácidas (Lainco, 2017)	17
Fig. 2.6. Aparato de digestión / destilación para la determinación de CS <sub>2</sub> a partir de residuos de fungicidas de ditiocarbamato (Crnogorac y Schwack, 2009)	19
Fig. 2.7. Estructura de la quitina (Flores, 2008)	27
Fig. 2.8. Estructura de la quitosana (Flores, 2008)	28
Fig. 3.1. Esquema de la metodología	29
Fig. 3.2. Cartucho de EFS elaborado con adsorbente de harina de camarón	30
Fig. 3.3. Extracción en fase sólida (EFS) (Pawliszyn, 2002)	32
Fig. 3.4. Equipo de <i>HPLC</i> utilizado para la cuantificación del metam de sodio	33
Fig. 4.1. Esquema del cuerpo de un camarón (Franco-Zavaleta, 2010)	35
Fig. 4.2. Residuos de camarón obtenidos después del descabezado y pelado parcial de los camarones	35

Fig. 4.3. Harina del cefalotórax de camarón	35
Fig. 4.4. Agitación	36
Fig. 4.5. Filtración	36
Fig. 4.6. Harina húmeda	36
Fig. 4.7. Harina desmineralizada	36
Fig. 4.8. Determinación de humedad por termobalanza	37
Fig. 4.9. Determinación de cenizas, se observan los crisoles con las muestras en la campana	37
Fig. 4.10. Determinación de grasa, se observan dos equipos Soxhlet con la muestra en digestión	37
Fig. 4.11. Determinación de proteínas por método de Kjeldahl	37
Fig. 4.12. Determinación de fibra ( <i>kit</i> de enzimas para su determinación)	37
Fig. 4.13. Extracción del jugo de caña en un extractor casero	37
Fig. 4.14. Curva de calibración de la cuantificación de MS en CLAR	38
Fig. 4.15. Extracción en fase sólida con los cartuchos de harina de camarón	39

## Glosario

### Signos y abreviaturas empleadas

%R	Porcentaje de recobro
°C	Grado Celsius
µg	Microgramo
µL	Microlitro
ANOVA	Análisis de la varianza (en inglés, <i>ANalysis Of VAriance</i> )
<i>APCI</i>	Ionización química a presión atmosférica (en inglés, <i>Atmospheric-pressure chemical ionization</i> )
CCF	Cromatografía en capa fina
CCl <sub>4</sub>	Tetracloruro de carbono
CG	Cromatografía de gases
CL	Cromatografía de líquidos
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
CL-EM	Cromatografía líquida acoplada a espectrofotometría de masas
Cogollo	Parte superior de la caña de azúcar, con alto contenido en fibras y almidones en Costa Rica (Subirós-Ruiz, 1995)
CONAPESCA	Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, México
CS <sub>2</sub>	Disulfuro de carbono
<i>CTAB</i>	Bromuro de cetiltrimetilamonio por sus siglas en inglés
CV	Coefficiente de variación
DMD	Dimetildioxirano
DTC	Ditiocarbamato
<i>EDB</i>	Dibromuro de etileno por sus siglas en inglés
<i>EDTA</i>	Ácido etilendiaminotetraacético por sus siglas en inglés

EFS	Extracción en fase sólida
ELL	Extracción líquido-líquido
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, México
<i>ESI</i>	Ionización por electrospray (en inglés, <i>Electrospray ionization</i> )
<i>FAO</i>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (por sus siglas en inglés: <i>Food and Agriculture Organization</i> )
$\text{Fe}^{3+}$	Radical metálico de hierro
Fig.	Figura
Glúcidos	Otro nombre para los carbohidratos o hidratos de carbono. En esta tesis se usa este término para evitar posibles confusiones con el término azúcares que puede prestarse a pensar que son el azúcar o sacarosa, cuando este carbohidrato es también un glúcido
ha	Hectárea
<i>HILIC</i>	Siglas en inglés para cromatografía por interacción hidrofílica
<i>HPLC</i>	Cromatografía líquida de alta resolución (en inglés, <i>High-performance liquid chromatography</i> )
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública, México
L	Litro
<i>LC-APCI-MS</i>	Siglas en inglés para cromatografía de líquidos acoplada a ionización química a presión atmosférica y espectrometría de masas
<i>LOD</i>	Límite de detección (en inglés, <i>Limit of detection</i> )
M	Molar
Mamones	Tallos no desarrollados de la caña de azúcar en Costa Rica (Subirós-Ruiz, 1995)
Masa	En esta tesis se usa la palabra masa ya que peso es una variable diferente
	Diferencias entre masa y peso (Nieves, 2015):

Características de masa	Características de peso
1. Es la cantidad de materia que tiene un cuerpo.	1. Es la fuerza que ocasiona la caída de los cuerpos.
2. Es una magnitud escalar.	2. Es una magnitud vectorial.
3. Se mide con la balanza.	3. Se mide con el dinamómetro.
4. Su valor es constante, es decir, independiente de la altitud y latitud.	4. Varía según su posición, es decir, depende de la altitud y latitud.
5. Sus unidades de medida son el gramo (g) y el kilogramo (kg).	5. Sus unidades de medida en el Sistema Internacional son la dina y el Newton.
6. Sufre aceleraciones	6. Produce aceleraciones.

mg	Miligramo
min	Minuto
MIT	Metil isotiocianato
mL	Mililitro
Molederos	Tallos limpios de la caña de azúcar en Costa Rica (Subirós-Ruiz, 1995)
MS	Metam de sodio
N	Nitrógeno elemental
NaCl	Cloruro de sodio
NaSH	Hydrogenosulfuro de sodio (en química no existe sodoso, por lo que es incorrecto llamar a las sales de sodio <i>sódicas</i> , aunque las personas que traducen las etiquetas de los reactivos químicos probablemente copian del diccionario de la lengua española que tiene esta aberración química, junto con <i>cálcico</i> , <i>potásico</i> , etc.)
nm	Nanómetro
ODS	Octadecil sílice
PDB	Paradichlorobenzeno
pH	Potencial de iones hidronio
PIB	Producto interno bruto, México
ppm	Partes por millón

R <sup>2</sup>	Coeficiente de correlación
rpm	Revoluciones por minuto
S	Azufre elemental
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México
SE	Secretaría de Economía, México
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México
TON	Tonelada
TON/HA	Tonelada por Hectárea
UV	Ultra violeta
V	Volts
Vis	Visible
	<b>Delárabe hispánico <i>sáfray</i> este delárabe clásico <i>safrah</i>'viaje<sup>1</sup>, por el que hacían los temporeros en época de recolección</b>
Zafra	1. Cosechadelacañadulce 2. Fabricacióndelazúcardecañay, por extensión, delderemolacha 3. Tiempoquedural <b>zafra</b> (fabricacióndelazúcar) (RAE, 2017)
λ	Longitud de onda

Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

## Resumen

El proceso de extracción del jugo de caña es el punto de mayor contaminación en los ingenios azucareros por lo que se añade el plaguicida N-metil ditiocarbamato de sodio o metam de sodio (MS) para inhibir el desarrollo de *Leuconostoc mesenteroides* que forma polisacáridos y daña los jugos. El metam de sodio (MS), perteneciente a la familia de los ditiocarbamatos, es una sustancia química que posee actividad fungicida, insecticida, nematocida y herbicida. Para la cuantificación de residuos de plaguicidas se han desarrollado varios métodos de preparación de la muestra, tales como extracción tipo Soxhlet, en fase sólida, microextracción líquido-líquido, extracción sólido-líquido, extracción asistida por ultrasonido, así como por microondas y la microextracción en fase sólida. Estos métodos deben ser rápidos, fáciles, baratos, eficaces, resistentes y seguros. Por ello, en esta investigación se aplicó el método de extracción en fase sólida (EFS) del plaguicida MS presente en el jugo de caña empleando como adsorbente harina de cefalotórax de camarón y una fase comercial, octadecil-silice C18(J.T. Baker®), como control. El objetivo de la investigación fue cuantificar y comparar por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), la extracción en fase sólida (EFS) del MS presente en 1 mL jugo de caña, utilizando dos tipos de adsorbentes, harina de residuos de camarón desmineralizada y entera, además del control comercial de octadecil-silice C18 (J.T. Baker®) y eluido con 3 mL de metanol:agua 60:40. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron  $8.145^{\delta\pm 0.032}$ ,  $36.291^{\delta\pm 0.055}$  y  $47.380^{\delta\pm 0.037}$ , para las harinas desmineralizada y entera y para el control, respectivamente, presentando una desviación estándar estas dos últimas de 7.84. Esto indica que las condiciones estudiadas en esta fase de la investigación pueden ser mejoradas con objeto de que el desempeño del material de bajo costo sea comparable con el comercial.

Palabras clave: Metam de sodio (MS) en agua, extracción, harina de residuos de camarón, octadecil-silice C18, cromatografía de líquidos, jugo de caña de azúcar

## Capítulo 1

### Introducción

#### 1.1. Planteamiento de problema

El proceso de extracción del jugo de caña es el punto de mayor contaminación en los ingenios azucareros por lo que se añade el plaguicida N-metil ditiocarbamato de sodio o metam de sodio (MS) para inhibir el crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* que forma polisacáridos y daña los jugos (Sampedro-Márquez, 2016). El metam de sodio (MS) (Fig.1), perteneciente a la familia de los ditiocarbamatos, es una sustancia química que posee actividad fungicida, insecticida, nematocida y herbicida (Alejo-Munguía, 2017; Bernal-González *et al.*, 2017).

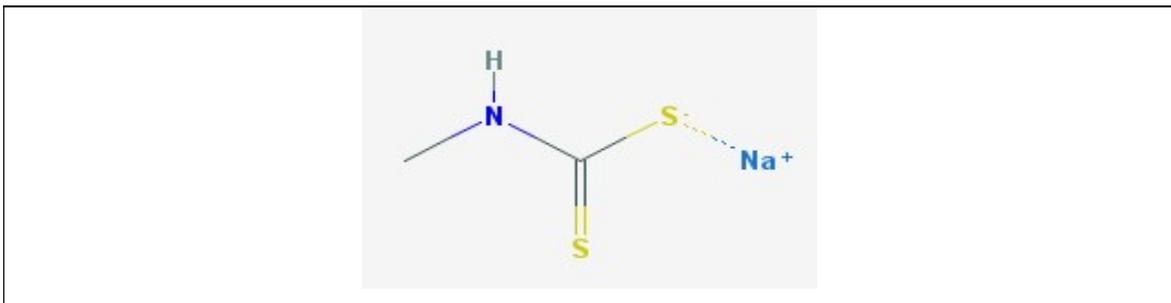


Fig. 1.1. Estructura del metam de sodio (NCBI, 2017)

Para la cuantificación de residuos de plaguicidas se han desarrollado varios métodos de preparación de la muestra, tales como extracción tipo Soxhlet, en fase sólida, microextracción líquido-líquido, extracción sólido-líquido, extracción asistida por ultrasonido, así como por microondas y la microextracción en fase sólida. Estos métodos deben ser rápidos, fáciles, baratos, eficaces, resistentes y seguros.

Este último ha resultado ser bastante eficiente (Borja-Urzola, 2017) y, por ello, en esta investigación se aplicará el método de extracción en fase sólida (EFS) del plaguicida MS presente en el jugo de caña empleando como adsorbente un material de bajo costo que ha demostrado su eficiencia (Durán-Olvera *et al.*,

2016), la harina de residuos de camarón usando como control una fase comercial, octadecil-silice C18 (J.T. Baker®).

Asimismo, se cuantificaron y compararon los resultados del adsorbente en estudio y el control utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o *HPLC* por sus siglas en inglés, bajo diferentes factores de operación.

## 1.2. Hipótesis

**Para esta investigación se consideró la hipótesis**

**Nula  $H_0$** = El origen del adsorbente en la extracción en fase sólida (EFS) del MS presente en el jugo de caña no produce efectos sobre la cuantificación por *HPLC*.

**Y la hipótesis**

**Alternativa  $H_a$** = El origen del adsorbente en la extracción en fase sólida (EFS) del MS presente en el jugo de caña produce efectos sobre la cuantificación por *HPLC*.

## 1.3. Objetivos

Cuantificar por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR (*HPLC por sus siglas en inglés*), la extracción en fase sólida (EFS) del MS presente en el jugo de caña utilizando dos tipos de adsorbentes, las harinas de cefalotórax de camarón entera y desmineralizada, así como comparar su desempeño con un control comercial de octadecil-silice C18 (J.T. Baker®).

## 1.4. Justificación e importancia del tema

De acuerdo con datos de la FAO, en el 2013, el nivel de productividad de los ingenios azucareros en México, así como los rendimientos en el campo y en la fabricación, son mayores al promedio mundial, encontrándose dentro de los 10 primeros lugares; sin embargo, los costos de producción también superan a los de otros países, lo cual, los hace menos competitivos (Netafim, 2017).

Para estar en posibilidades de competir en una economía global, es necesario que se reduzcan los costos de producción en términos de competencia técnica, productiva y económica.

Por otro lado, las técnicas utilizadas actualmente para la extracción en fase sólida del metam de sodio, impactan negativamente al utilizar polímeros sintéticos que, al ser costosos, representan un gasto elevado para los laboratorios analíticos.

Derivado de lo anterior, es necesario implementar técnicas sencillas y poco costosas, innovadoras y diversificadas, que permitan reducir costos económicos y ambientales y elevar así, el nivel de competitividad. Es por esto que en este proyecto se busca una forma más económica y mucho más amigable con el ambiente para la extracción del metam de sodio utilizando un material abundante, barato y biodegradable como lo son las harinas obtenidas a partir de los residuos de camarón.

En 2010, la producción anual nacional de camarón fue de 127,527 toneladas, de acuerdo con SAGARPA-CONAPESCA (2011). De este total se generan de 20 a 35% de su masa total como residuos durante el proceso de limpieza del camarón, debido a que únicamente la parte abdominal de camarón es aprovechada como alimento. Estos residuos tienen una composición de 44.7% de proteína, 26.3% de cenizas, 20.7% de fibra cruda, 5.2% de grasa, y 3.1% de otros hidratos de carbono. De ellos se puede separar la quitina, del 14 al 27%, un polímero estructuralmente parecido a la celulosa, por lo que existe la posibilidad de utilizar las harinas obtenidas del cefalotórax y exoesqueleto del camarón como adsorbente en la extracción en fase sólida de un plaguicida (MS) obteniendo porcentajes de recuperación similares a las columnas comerciales más utilizadas de octadecil-silice C18 (J.T. Baker®) (de Oliveira-Arias, 2014; Flores, 2004).

## Capítulo 2.

### Fundamento teórico y antecedentes

#### 2.1. La caña azucarera

##### 2.1.1. Características de la caña de azúcar

La caña de azúcar, *Saccharum officinarum*, es una gramínea tropical. Una hierba tropical alta y perenne que se alza en la base para producir tallos macizos no ramificados, de tres a cinco metros de altura y entre cinco a seis centímetros de diámetro(Blackburn, 1984).

El tallo contiene un jugo rico en azúcar **sacarosa**, un disacárido compuesto por dos monosacáridos: D-glucosa y D-fructosa, condensados en grupos glucosídicos a través de enlaces tipo éter, cuya fórmula condensada es  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , que para su consumo se extrae y cristaliza mediante un proceso químico(Sampedro-Márquez, 2016).

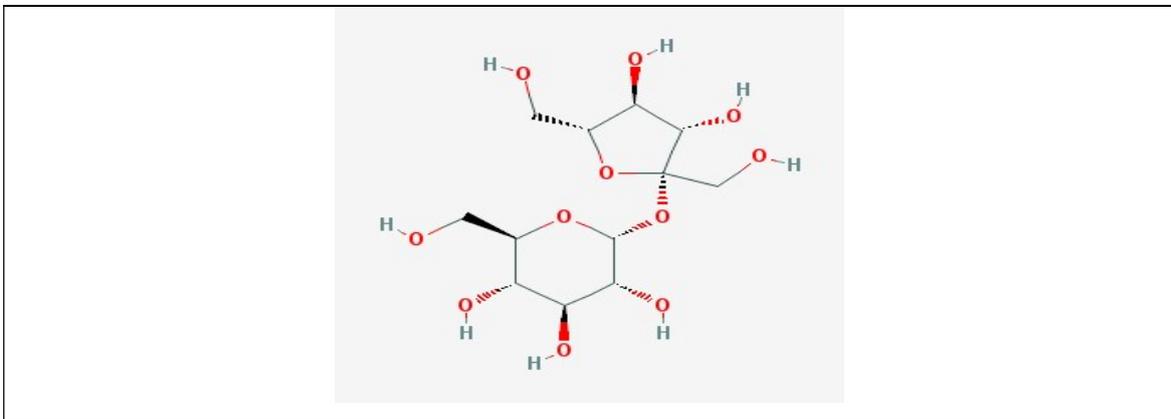


Fig. 2.1. Estructura de la sacarosa(NCBI, 2016)

Las tierras en donde se cultiva tienen que ser lugares calientes y soleados para que el fenómeno de la fotosíntesis se oriente hacia la producción de hidratos de carbono, como la celulosa y otras materias que constituyen el follaje y el soporte fibroso del tallo (SIAP, 2017). Económicamente hablando, el tallo es la parte más importante de la planta ya que, por medio del proceso industrial a partir de éste se

obtienen la sacarosa y otros derivados como la melaza, bagazo y cachaza (Subirós-Ruiz, 1995).

Durante su desarrollo, la siembra requiere de una adecuada cantidad de agua para que se permita la absorción, transporte y asimilación de los nutrimentos. El periodo de crecimiento varía entre los 11 y 17 meses, dependiendo de la variedad de caña y de la zona (SIAP, 2017).

### 2.1.2. Composición de la caña de azúcar

La composición vegetativa de la planta de la caña de azúcar son los tallos limpios o molederos, los mamones (tallos no desarrollados), el cogollo (parte superior de la caña, con alto contenido en fibras y almidones) y hojas y las raíces (Subirós-Ruiz, 1995). El porcentaje de cada una de sus partes se muestra en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1. Composición física de las partes de la caña de azúcar (Subirós-Ruiz, 1995)**

Partes	Porcentaje (%)
Tallos limpios	71.8
Cogollo	12.58
Hojas y otros	8.70
Mamones	6.92

La caña se compone de agua, los sólidos solubles totales (sacarosa, glúcidos reductores y otros constituyentes) y de fibra. Los contenidos porcentuales se muestran en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.2. Composición química de caña de azúcar (Larrahondo, 1995)**

Nutriente	Porcentaje (%)
Agua	73 a 76
Sólidos	24 a 27
Sólidos solubles (brix)	10 a 16
Fibra (seca)	11 a 16

De acuerdo con Larrahondo (1995), la calidad de la caña se reconoce por la cantidad de azúcar recuperable, lo cual depende de características tales como el

alto contenido de sacarosa, bajo contenido de materiales extraños y de sólidos solubles diferentes de la sacarosa y bajos niveles de fibra.

### 2.1.3. Composición nutrimental del jugo de caña de azúcar

El jugo de caña está compuesto principalmente por el disacárido sacarosa y otros glúcidos monosacáridos como la glucosa y fructosa, los cuales son glúcidos reductores, cuyo contenido en el jugo aumenta por causa del deterioro o falta de maduración de la caña.

Además de los glúcidos existen otros constituyentes químicos en bajos porcentajes, como sales orgánicas e inorgánicas, ácidos orgánicos y aminoácidos entre otros, los cuales se muestran en la Tabla 2.3.

**Tabla 2.3. Composición del jugo de caña de azúcar (Larrahondo, 1995)**

Nutriente	Porcentaje (%)
Glúcidos	75 a 92
Sacarosa	70 a 88
Glucosa	2 a 4
Fructosa	2 a 4
Sales	3.0 a 3.4
Inorgánicas	1.5 a 4.5
Orgánicas	1 a 3
Ácidos orgánicos	1.5 a 5.5
Aminoácidos	1.5 a 2.5
Otros no glúcidos	
Proteína	0.5 a 0.6
Almidones	0.001 a 0.050
Gomas	0.3 a 0.6
Ceras, grasas, etc.	0.15 a 0.50
Compuestos fenólicos	0.1 a 0.8

#### **2.1.4. La industria azucarera en México**

La agroindustria de la caña de azúcar es una actividad que ha sido una importante fuente de ingresos para México desde hace quinientos años. Es un cultivo cuyo procesamiento requiere de mucha mano de obra, por lo que representa una relevante fuente de empleo en el campo (Alejo-Munguía, 2017).

La caña de azúcar es producida en 15 estados de la república, con un total de 52 ingenios azucareros. El estado con mayor número de ingenios es Veracruz, seguido de Jalisco y San Luis Potosí con 19, 6 y 4 respectivamente. Los estados productores, así como el número y nombre de los ingenios azucareros de todos los estados del país se muestran en la Tabla 2.4 (SIAP, 2017).

En México la industria azucarera es históricamente una de las más importantes, debido a su relevancia económica y social en el campo; genera más de 2.2 millones de empleos, tanto en forma directa como indirecta; se desarrolla en 15 entidades federativas y 227 municipios, donde habitan más de 12 millones de personas, y generan un valor de producción primaria de alrededor de 30 mil millones de pesos (SE, 2012).

La agroindustria azucarera en México contribuye con poco más de 0.5% en el producto nacional bruto; con el 2.32% en el producto del sector manufacturero; y con el 12.5% en el producto del sector alimentario (Domínguez-Manjarrez *et al.*, 2014).

En la Tabla 2.5 se muestran los datos relacionados con los cierres de producción de la zafra en 2016 (SIAP, 2017).

De acuerdo con la FAO, México se encuentra en el sexto lugar de áreas cultivadas de la caña de azúcar, que junto con otros 14 países (Brasil, India, China, Tailandia, Pakistán, Cuba, Colombia, Australia, EE.UU., Filipinas, Sudáfrica, Argentina, Myanmar, Bangladesh) concentran el 86.0% del área y el 87.1% de la producción mundial.

**Tabla 2.4. Estados productores e ingenios azucareros (SIAP, 2017)**

Estado	Ingenio azucarero	Número de ingenios	
Campeche	La Joya	1	
Colima	Quesería	1	
Chiapas	Huixtla y Pujilic (Cía. La Fe)	2	
Jalisco	Bellavista José María Martínez (Tala) José María Morelos Melchor Ocampo San Francisco Ameca Tamazula	6	
Michoacán	Lázaro Cárdenas Pedernales Santa Clara	3	
Morelos	Casasano (La Abeja) y Emiliano Zapata	2	
Nayarit	El Molino y Puga	2	
Oaxaca	Adolfo López Mateos El refugio Pablo Machado (La margarita)	3	
Puebla	Atencingo, Calipam	2	
Quintana Roo	San Rafael de Pucté	1	
San Luis Potosí	Alianza Popular Plan de Ayala Plan de San Luis San Miguel del Naranjo	4	
Sinaloa	El Dorado	1	
Tabasco	Azsuremex-Tenosique Presidente Benito Juárez Santa Rosalía	3	
Tamaulipas	Aarón Sáenz Garza y El Mante	2	
Veracruz	Central Motzorongo Central Progreso Constancia Cuatrotolapam El Carmen El Higo El Modelo El Potrero La Gloria La Providencia	La Providencia, central Mahuixtlán Pánuco San Cristóbal ZCMX San José de Abajo San Miguelito San Nicolás San Pedro Tres Valles	19
Total		52	

**Tabla 2.5. Información de cierres en producción correspondiente a la zafra 2016 en México (SIAP, 2017)**

Estado	Número de días de zafra	Hectáreas cosechadas (ha)	Caña molida bruta (TON)	Azúcar producida (TON)	Miel final producida (TON)	Alcohol producido (Miles de L)
Campeche	168	14,821	792,519	82,428	31,648	-
Colima	217	17,794	1,425,200	162,549	58,840	-
Chiapas	171	30,503	2,785,136	302,307	102,718	6,045
Jalisco	173	74,393	6,762,177	792,502	255,854	4,185
Michoacán	170	15,099	1,399,332	160,028	55,773	-
Morelos	177	16,033	1,645,455	228,157	58,785	-
Nayarit	227	31,316	2,838,567	333,149	109,762	-
Oaxaca	184	53,944	3,297,594	372,013	154,469	-
Puebla	192	15,382	1,810,879	228,797	73,424	-
Quintana Roo	191	30,090	1,335,437	129,960	49,966	-
San Luis Potosí	217	89,869	5,399,255	618,024	183,844	-
Sinaloa	66	2,984	264,043	25,769	9,542	-
Tabasco	138	38,034	1,959,237	200,103	75,614	-
Tamaulipas	188	25,017	1,612,531	160,361	64,014	1,799
Veracruz	166	323,650	20,861,246	2,320,901	707,551	-
<b>TOTAL</b>	<b>176</b>	<b>778,930</b>	<b>54,188,609</b>	<b>6,117,048</b>	<b>1,991,803</b>	<b>12,029</b>

En México se observa que el estado con mayor número de hectáreas cultivadas es Veracruz, que representa 36.7% del total nacional. En segundo lugar, se encuentra Jalisco con 11.4%, sigue San Luis Potosí con 10.3%, seguido de los otros doce estados (SIAP, 2017).

Considerando los costos de todos los ingenios mexicanos como los costos de la materia prima y de transformación para 2005 y 2009, se deriva que el costo de producción de azúcar se ha incrementado en este periodo. Se precisa que el crecimiento de los costos totales se incrementó en 16.9% en promedio anual durante el periodo de 2005 y 2009, los cuales se explican principalmente por el incremento del costo de la materia prima (caña molida), la cual se incrementó en

un 21.2% en promedio anual. En proporción, cerca de 75% de los costos totales son la materia prima para la elaboración de azúcar que, a su vez, se determinan por el precio de referencia de la caña (SE, 2012). Por lo anterior, resulta necesario optimizar los procesos productivos de la cadena de valor de azúcar; en la Tabla 2.6 se muestran los parámetros de eficiencia obtenidos al cierre del 2016. En esta tabla se observa que los estados de Puebla, Morelos y Michoacán tiene los mayores rendimientos tanto en el campo (TON/HA) como en fábrica (%), así como la mayor eficiencia en fábrica (%) (SIAP, 2017).

**Tabla 2.6. Parámetros de eficiencia, información de cierres (SIAP, 2017)**

Estado	Rendimiento en campo (TON/HA)	Rendimiento en fábrica (%)	Eficiencia en fábrica (%)
Campeche	53.47	10.40	80.86
Colima	80.10	11.41	84.59
Chiapas	91.31	10.85	83.04
Jalisco	90.90	11.72	84.29
Michoacán	92.68	11.44	84.38
Morelos	102.63	13.87	86.08
Nayarit	90.64	11.74	82.87
Oaxaca	61.13	11.28	84.74
Puebla	117.72	12.63	84.26
Quintana Roo	44.38	9.73	80.95
San Luis Potosí	60.08	11.45	82.43
Sinaloa	88.47	9.76	84.60
Tabasco	51.51	10.21	80.49
Tamaulipas	64.46	9.94	74.93
Veracruz	64.46	11.13	83.99
TOTAL	69.57	11.29	83.42

A nivel nacional, debido a que el azúcar es un producto de origen agroindustrial, existen diferentes tipos de precio de acuerdo al estado o fase en el que se encuentra el producto, es decir desde que es un producto primario (caña de azúcar) hasta que es un producto agroindustrial (azúcar). En este sentido, los precios para este edulcorante natural son: el precio de referencia por tonelada de azúcar, el precio de referencia para el pago de caña de azúcar (precio pagado al

productor primario), precios al mayoreo y menudeo en centrales de abasto y precios al consumidor. De acuerdo con estimaciones propias, el precio de referencia ponderado de azúcar para pago de caña a los productores podría ser entre 7,973 y 8,000 pesos, lo que representaría un aumento a tasa anual de 12.4 por ciento (SE, 2012).

Por otra parte, el consumo de azúcar per cápita ha aumentado en 45.6% desde 1970, esto quiere decir que cada uno de nosotros consumimos entre 42 y 52 kilos de azúcar al año, ocupando el tercer lugar de consumo mundial de azúcar, únicamente después de Brasil, que ocupa el primer lugar y Rusia con el segundo. El aumento en el consumo se debe a que se consume en muchos alimentos industrializados como caramelos, panes, etc. (SIAP, 2017). Actualmente es uno de los cinco productos básicos alimenticios junto con maíz, frijol, trigo y café (SIAP, 2017), ya que hay que recordar que al término de la revolución mexicana la desnutrición por una ingesta calórica muy baja era un problema severo que logró subsanarse con el consumo de azúcar.

De acuerdo con el análisis de datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, ENSANUT, 2012 (Gutiérrez et al., 2012), en México entre el 57.8% y 84.6% de los individuos, dependiendo el grupo de edad y sexo, tienen un consumo usual inadecuado de glúcidos añadidos, aproximadamente del 17% del total de energía consumida diariamente (por arriba del límite superior recomendado que es >10% del total de energía consumida) a nivel nacional (INSP, 2017), lo que genera una demanda nacional de grandes cantidades de edulcorantes, tanto de azúcar como de mieles fructosadas de maíz, que son las que aparecen en las etiquetas de alimentos y bebidas no alcohólicas con el nombre de “azúcares”, importadas de los Estados Unidos, país que tienen enormes excedentes de maíz y que lo está exportando en forma de mieles fructosadas causando problemas enormes de salud en todos los países donde estas mieles son adicionadas a los alimentos y bebidas no alcohólicas (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2012, 2013, 2014; Durán-de-Bazúa, 2017).

## 2.2. Microorganismos indeseables en el jugo de caña

Durante la extracción del jugo en el proceso de elaboración de azúcar (Fig. 2.2) se presentan pérdidas de azúcar de hasta un 62% (Serrano, 2006), debido a que la caña de azúcar naturalmente entra al proceso con microorganismos que trae desde el campo, como por la falta de asepsia generalizada en los molinos de caña y que el jugo es un medio rico en nutrientes aunado a factores ambientales que favorecen su desarrollo durante el proceso como el pH, la temperatura y la concentración de sacarosa, los microorganismos se multiplicarán, incidiendo esto en una merma en la productividad del proceso por la transformación de la sacarosa a glúcidos reductores por la acción de la enzima invertasa observado en la Figura 2.3, ácidos y otros polisacáridos como dextranas, por la acción de la enzima dextranasacarasa (Jiménez, 2005), se observa la reacción en la Figura 2.4. Estas enzimas provienen de los microorganismos mostrados en la Tabla 2.7.

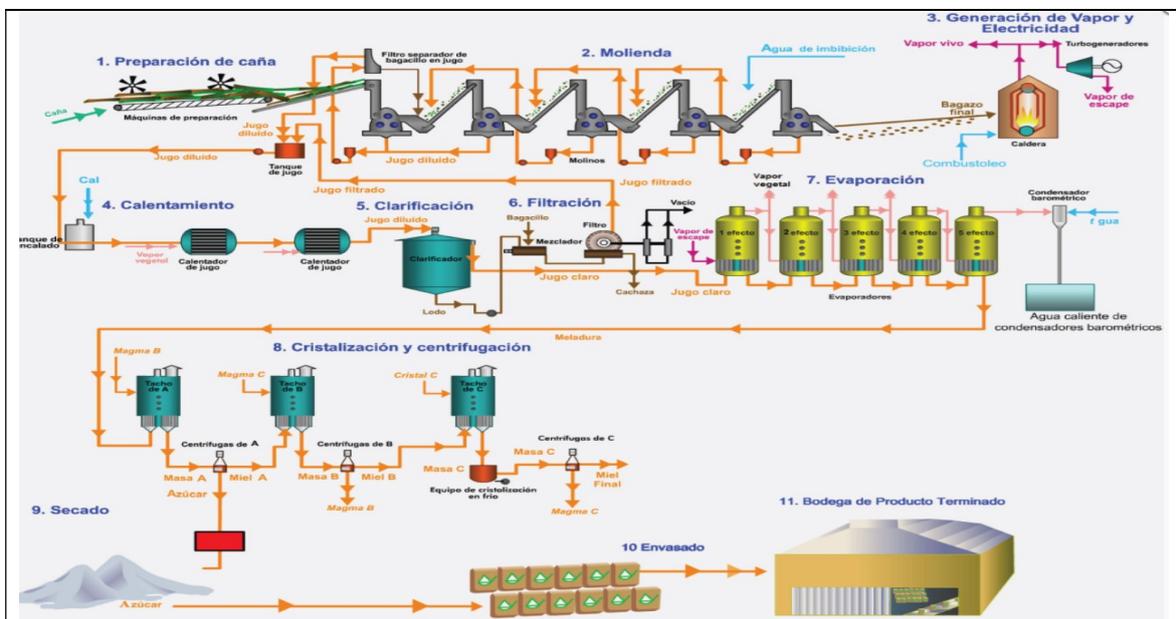


Fig. 2.2. Diagrama de flujo del proceso de producción de azúcar estándar (Domínguez-Manjarrez et al., 2014)

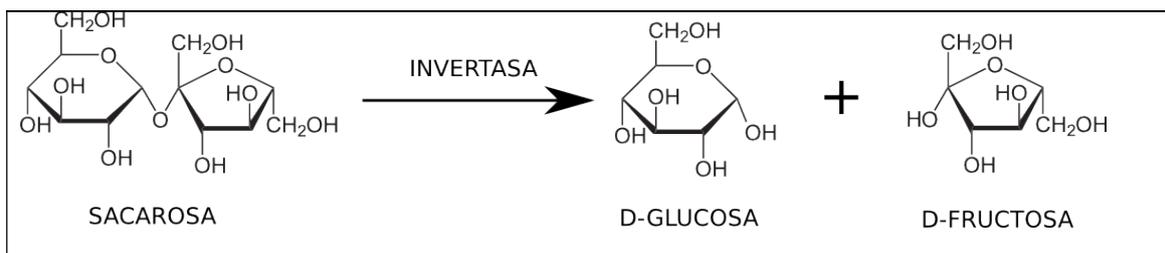


Fig. 2.3. Reacción de inversión de la sacarosa (Yerga, 2014)

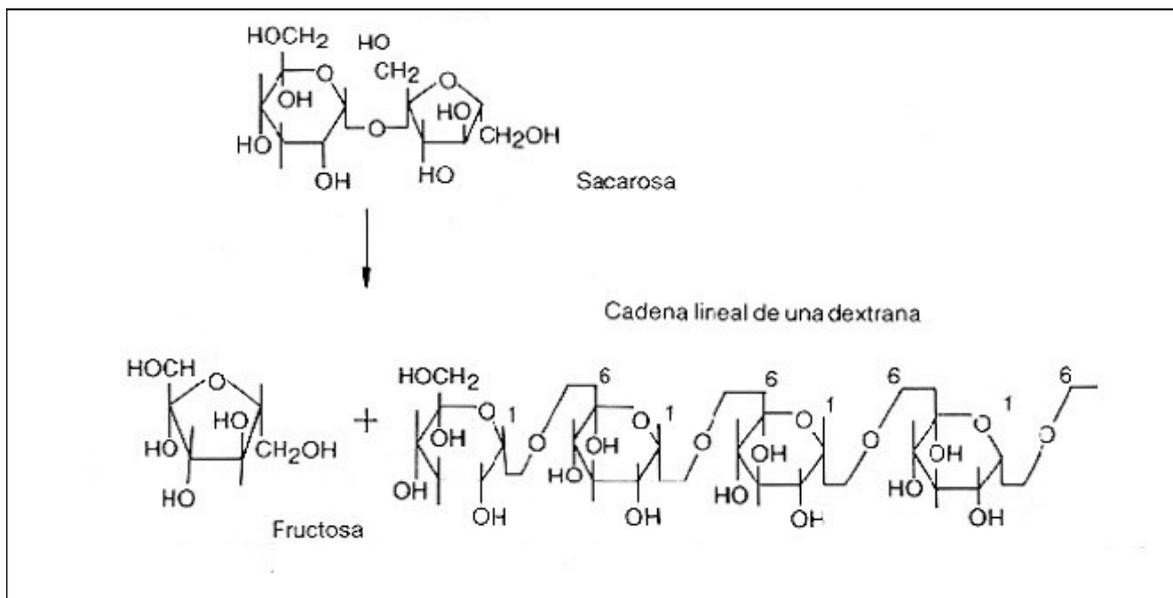


Fig. 2.4. Síntesis general de dextranas a partir de sacarosa (Larrañondo, 1995)

Tabla 2.7. Microorganismos presentes en el jugo de caña (Serrano, 2006)

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

La síntesis de dextranas a partir de mono y disacáridos, al alargar el tamaño de la cadena de carbonos hasta formar polisacáridos de elevada masa molecular, formados por glucosas unidas por enlaces  $\alpha$  (1-6) al menos en el 50%, con ramificaciones enlazadas  $\alpha$  (1-3) aunque también puede presentar otras uniones  $\alpha$  (1-2) o  $\alpha$  (1-4), es la responsable de la disminución del rendimiento de la producción de azúcar en los ingenios azucareros no solamente porque provoca pérdidas significativas de azúcar, sino porque causa problemas en el proceso de producción de azúcar al incrementar la viscosidad de los fluidos, bloqueando los equipos, obstruyendo tuberías, coladores y bombas, dando como consecuencia la reducción en el rendimiento global industrial (Jiménez, 2005).

A pesar de haber una gran diversidad de especies de microorganismos presentes en la caña de azúcar, sólo hay algunas especies que se desarrollan en el jugo más repetidamente que otras, tales como 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*, que son las que producen grandes cantidades de dextrana cuando se desarrollan con la sacarosa (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011), por lo que adquieren una gran importancia económica al consumir la sacarosa y formar polisacáridos (Serrano, 2006).

### **2.3. Metam de sodio para eliminar a los microorganismos indeseables**

Debido a las grandes pérdidas presentadas durante el proceso que tiene el jugo de caña, la eliminación de los microorganismos anteriores ha cobrado prioridad dentro de la industria azucarera. Para esto se ha implementado el uso de biocidas, los cuales son utilizados para la limpieza y desinfección de la caña de azúcar. Algunos de los productos químicos más utilizados dentro de la industria azucarera en México son algunos bactericidas como el di-metilditiocarbamato de sodio, etilen-bis-ditiocarbamato de sodio, cloruro de di-alquildimetilamonio y otras sales cuaternarias de amonio como bifluoruro de amonio y formaldehído (Bernal-González *et al.*, 2014) y algunos biocidas como el triclosán, el dióxido de cloro y el

peróxido de hidrógeno. El metam de sodio tiene como materia activa el N-metil ditiocarbamato de sodio, que es un plaguicida perteneciente a la familia de los ditiocarbamatos, el cual posee actividad fungicida, insecticida, nematicida y herbicida, actuando frente a multitud de organismos mostrados en la Tabla 2.8.

Acción	Especies
Fungicida	<i>Armillaria spp.</i> <i>Fusarium spp.</i> <i>Phytophthora spp.</i> <i>Plasmodiophora brassicae</i> <i>Rhizoctonia spp.</i> <i>Verticillium spp.</i> <i>Sclerotinia spp.</i> <i>Pythium spp.</i>
Nematicida	<i>Hoplolaimus spp.</i> <i>Meloidogyne spp.</i> <i>Pratylenchus spp.</i> <i>Ditylenchus spp.</i> <i>Rotylenchus spp.</i> Otros nematodos.
Insecticida	Elatéridos (gusanos del alambre) Melolóntidos (gusanos blancos) Noctúidos (gusanos grises y rosquillas) Larvas terrícolas de otros insectos.
Herbicida	Especies herbáceas anuales ( <i>Convolvulus</i> , <i>Chenopodium</i> , <i>Malva</i> , <i>Portulaca</i> , etc.) Algunas perennes ( <i>Oxalis</i> , etc.)

El ditiocarbamato de sodio que, como ya se mencionó se conoce como metam de sodio o MS, es ampliamente manejado en la industria azucarera durante la extracción del jugo de caña debido a su labor como inhibidor del desarrollo de *Leuconostoc mesenteroides*, importante responsable de la formación de polisacáridos como dextranas y levanas (Bernal-González *et al.*, 2014).

El MS se descompone fácilmente en el ambiente por contacto con la humedad del suelo y en ambientes acuáticos, por lo que es considerado un producto fácilmente biodegradable. En diluciones acuosas se descompone en el compuesto activo y volátil llamado metil isotiocianato (MIT), que en el suelo se difunde en forma de gas (Zarco-Mercado *et al.*, 2017).

La difusión y descomposición de MSes un proceso complejo que depende de varios factores, como pH, temperatura, humedad, textura, contenido en materia orgánica. En soluciones neutras, el metam-sodio se descompone en metil isotiocianato (MIT) e hidrogenosulfuro de sodio (NaSH) (Lainco, 2017).

En soluciones alcalinas diluidas se produce una reacción de oxidación, caracterizada por la formación de azufre elemental (S), MIT e hidróxido de sodio. Y en soluciones ácidas, como es el caso de jugo de caña cuyo pH es de 5.4 (Bernal-González *et al.*, 2014) se produce una descomposición no oxidativa, mostrada en la Figura 2.5, dando como productos el MIT, y otros secundarios como el sulfuro de sodio, disulfuro de carbono y metilamina (Lainco, 2017).

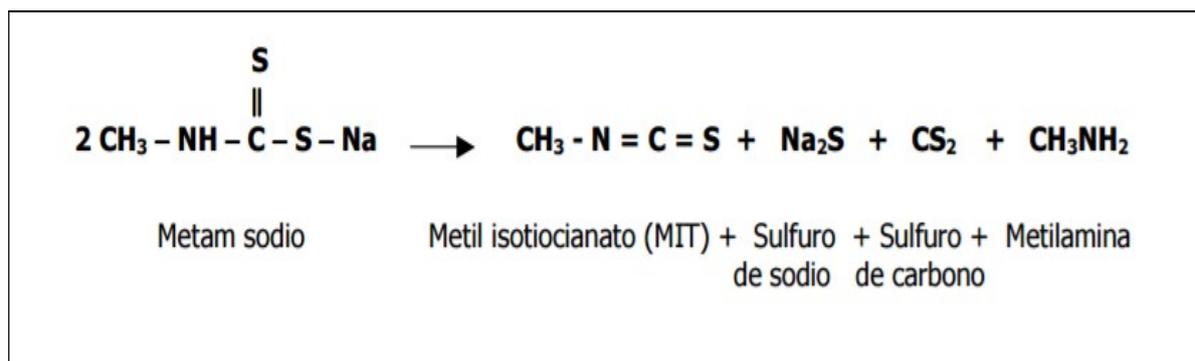


Fig. 2.5. Reacción de descomposición de MS en soluciones ácidas (Lainco, 2017)

La funcionalidad biocida del metil isotiocianato (MIT), radica en su carácter quelante de algunos metales transcendentales para el funcionamiento de enzimas(Lainco, 2017).

Ejemplo de esto es su obstrucción en el desarrollo celular debido a una quelación de la enzima citocromo-oxidasa mitocondrial con radical metálico de hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), imposibilitando la absorción de oxígeno, bloqueando así la respiración celular, lo que impide la funcionalidad de la cadena transportadora de energía y causa la apoptosis del microorganismo(Lainco, 2017).

## 2.4. Métodos usuales para la medición de ditiocarbamatos

La determinación de la concentración de los plaguicidas es muy importante para obtener los productos agrícolas inocuos para la salud humana, por ellos se han desarrollado diferentes métodos de análisis de ditiocarbamatos (DTC).

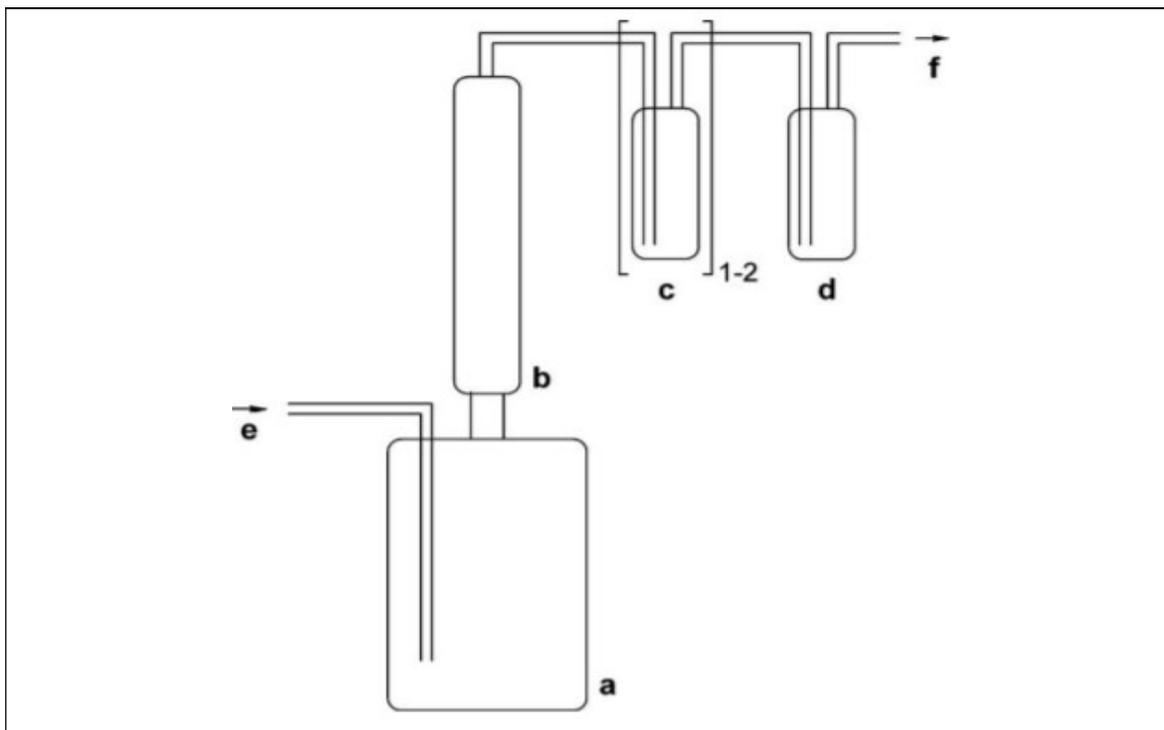
### 2.4.1. Espectrofotometría

Debido a la dificultad para extraer los DTC de muestras de plantas homogeneizadas, es que se ha dado el desarrollo de métodos de análisis de residuos usando  $CS_2$  como marcador colectivo, debido a la reacción de descomposición que tienen los DTC por hidrólisis ácida (Zarco-Mercado *et al.*, 2017).

La determinación fotométrica se realiza después de llevar a cabo la digestión y destilación de los  $CS_2$  a partir de residuos de fungicidas de ditiocarbamato mostrado en la Figura 2.6, con el uso de un reactivo de dietanolamina y acetato de cobre disuelto en etanol. Se forman dos complejos de quelatos (1:1 y 1:2) con máximos de absorción de 380 nm y 435 nm, dependiendo de la relación Cu: $CS_2$ . Por lo tanto, se utilizan dos reactivos de color concentrados de manera diferente de 0,016 g/L y 0,048 g/L de acetato de cobre para la determinación de 200 a 1000  $\mu g$  y <200  $\mu g$  respectivamente (Crnogorac y Schwack, 2009).

Soluciones acuosas de hidróxido de potasio, así como de plomo o acetato de zinc o hierro son eficaces para eliminar el sulfuro de hidrógeno y otras interferencias no especificadas de la corriente de gas  $CS_2$ . Además, se puede utilizar cloruro de estaño(II) durante la digestión como agente reductor, lo que mejora las recuperaciones de DTC. Esta técnica tiene un límite de detección (LOD) de 0.1 mg/kg, que se puede alcanzar usando una muestra de 500g (Crnogorac y Schwack, 2009).





**Fig. 2.6. Aparato de digestión / destilación para la determinación de  $\text{CS}_2$  a partir de residuos de fungicidas de ditiocarbamato (Crnogorac y Schwack, 2009):** La muestra se pesa en el matraz (a), se cubre con ácido diluido y se calienta a reflujo (b). La liberación de  $\text{CS}_2$  es empujada a través de todo el sistema por una corriente de nitrógeno (e) o aplicando un ligero vacío (f), pasando una o dos soluciones de lavado para limpieza (c) y finalmente la solución de reactivo para absorción de  $\text{CS}_2$  (d). Se puede usar un segundo tubo de absorción para controlar el rompimiento debido a la saturación

#### 2.4.2. Espectrofotometría de absorción atómica

Basada en la ley de Lambert and Beer, los electrones de los átomos encontrados en el atomizador pueden ser promovidos a orbitales más altos por un instante mediante la absorción de una cantidad de energía. Esta cantidad de energía (o longitud de onda) se refiere específicamente a una transición de electrones en un elemento particular, como la cantidad de energía que se pone en la llama es conocida, y la cantidad restante en el otro lado (el detector) se puede medir.

La medición de ditiocarbamatos por esta técnica se da por la reacción quelante del cobre (II) con dietilditiocarbamato de sodio en una solución alcalina formando un complejo de ditiocarbamato de cobre; teniendo una coloración de amarillo a café de acuerdo con la cantidad de metal presente. El color es medido en solución

acuosa a la cual se le adiciona citrato para prevenir interferencias debido al hierro y la precipitación de fosfatos. El complejo de carbamato de cobre puede ser extraído con tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) y finalmente se lee la cantidad de cobre que no se pudo quelar por espectrometría de absorción atómica (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011; Kirke *et al.*, 1996; Skoog *et al.*, 2005).

### **2.4.3. Cromatografía en capa fina**

Una cromatografía en capa fina (CCF) consiste en la distribución que tiene un analito entre el disolvente y una capa fina de adsorbente, es poco eficiente por lo que se utiliza como una técnica cualitativa. En esta se utiliza una placa recubierta con una capa delgada de un adsorbente como el gel de sílice o alúmina, en la parte inferior de la placa se coloca un punto de la disolución muestra. Posteriormente la placa se introduce en un diluyente de tal manera que sólo la parte inferior donde se encuentra la muestra quede sumergida en el líquido. Este eluyente es la fase móvil y asciende por la placa de CCF por capilaridad a medida que el eluyente pasa por el lugar donde está la muestra se establece un equilibrio entre las moléculas de cada uno de los componentes en la muestra que son adsorbidas que se encuentran en disolución, diferenciándose de esta manera por su fuerza de adsorción y solubilidad (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011; Skoog *et al.*, 2005).

Sin embargo, los compuestos que contienen azufre no difieren sustancialmente de compuestos que contengan oxígeno, ya que contribuye a la polaridad de la sustancia casi igual que un átomo de oxígeno. Por tanto, la presencia de azufre en la molécula requiere reactivos de detección específica (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011; Skoog *et al.*, 2005).

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 (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011; Skoog *et al.*, 2005).

### **2.4.4. Cromatografía de gases**

Se realiza a través de la cuantificación de sulfuro de carbono ( $\text{CS}_2$ ), producto que se mide cuantitativamente después de la digestión ácida de éstos. El  $\text{CS}_2$  formado se mide en espacio superior (conocido por su traducción literal del inglés “*headspace*” como “de cabeza”) y cromatografía de gases con detector fotométrico de flama y un filtro de azufre o un detector de captura de electrones. Se realiza un muestreo de hortalizas y frutas para analizar e inmediatamente se inicia el tratamiento con la molienda de la muestra. Se coloca una muestra representativa en una botella de vidrio de 250 mL con tapa roscada y caucho de silicona (hermético al gas). Se realiza el tratamiento con ácido clorhídrico y se coloca en el baño de agua a  $80^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Se retira la botella cerrada del baño de agua y se agita vigorosamente por 2 minutos cada 15 minutos por 1 hora. Se toma una alícuota adecuada (10:100) del espacio de cabeza la cual es inyectada inmediatamente al cromatógrafo de gases. Se compara la altura del pico con un gráfico de calibración y se registra el nivel de disulfuro de carbono en la muestra. Se ha utilizado con éxito con una temperatura del horno de  $60^\circ\text{C}$  y una temperatura del detector de  $100^\circ\text{C}$  (Panel on determination of dithiocarbamate residues, 1981).

#### **2.4.5. Voltametría cíclica**

Es una técnica electro-analítica dependiente de la medición de las corrientes en función de un potencial aplicado. Se basa en la medición de la corriente en una celda electroquímica en condiciones que faciliten la polarización de un electrodo de trabajo, por concentración completa, de forma que la velocidad de oxidación o de reducción del analito está limitada por la velocidad de transferencia de masa del analito a la superficie del electrodo.

En 2013 fue utilizado por Chen y Chen para determinar la concentración de plaguicidas (Carbofuran). Todas las mediciones electroquímicas utilizaron una interfaz electroquímica SI-1287. Se utilizó un electrodo de platino pulido con  $0.3 \mu\text{L}$  de  $\text{AlO}_2$ . La voltamperometría cíclica fue de 0 a  $+1.3 \text{ V}$ . Los volúmenes cíclicos

mostraron un registro entre 0 V y 1.2 V. Se realizaron 20 repeticiones de cada medición a  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . Los valores de pH de las muestras oscilaron entre 6.5 y 6.8, respectivamente. La corriente de pico y dos índices de área específicos calculados a partir de las curvas de voltametría cíclica sirven como las variables dependientes. Las concentraciones de plaguicidas tipo carbofuran se utilizaron como variables independientes.

Los resultados indicaron que los valores numéricos de la zona voltamograma cíclico varía de 0.5 a 0.9 V, el mejor valor del índice de la concentración de los plaguicidas. La precisión de este índice es bueno y la exactitud de la técnica de determinación con la ecuación de calibración está dentro de 5 mg/L en la ecuación de calibración propuesta (Chen y Chen, 2013; Skoog *et al.*, 2005).

#### **2.4.6. Cromatografía de líquidos por alta resolución (HPLC)**

##### **2.4.6.1. Cromatografía líquida con fotometría**

Existen otros métodos para la determinación directa de DTC, en los cuales aniones de DTC son accesibles para análisis después de un tratamiento alcalino en presencia de agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (*EDTA* en inglés). Los residuos de DTC sólo permanecen en las superficies de las frutas y hortalizas, por lo que se puede realizar la extracción superficial de estos con una solución acuosa de *EDTA* y su posterior separación en columna Sephadex LH-20 con *EDTA* acuoso 0.1 M como eluyente (Gustafsson y Fahlgren, 1983).

Gustafsson y Fahlgren (1983), determinaron las concentraciones de los fungicidas tiram, ziram y zineb por cromatografía de líquidos de alta resolución CLAR-UV en una columna de fase reversa (Nucleosil RP-18) después de dos técnicas de extracción separadas. El tiram se extrajo por cloroformo y se inyectó directamente en el CLAR. Ziram y zineb fueron extraídos de la superficie de los cultivos con *EDTA* alcalino con L-Cisteína. Posteriormente, los aniones DTC se extrajeron en un disolvente orgánico con hidrogenosulfato de tetrabutilamonio y se

derivatizaron con yoduro de metilo para formar S-metilditiocarbamato, finalmente analizados con el detector UV a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 272 nm. Los recobros promedio reportados fueron de 59 a 85%, con límites de detección (*LOD* en inglés) de 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg y 0.01 mg/kg obtenidos para el tiram, zineb y ziram, respectivamente.

Irth *et al.* (1986) determinaron zineb, maneb y tiram en suelo. Para zineb y maneb se hizo uso de la extracción con una solución alcalina acuosa de *EDTA* y preconcentración selectiva como pares de iones en una precolumna C18, que se cargó en línea con bromuro de cetiltrimetilamonio (*CTAB* en inglés). Únicamente el tiram se extrajo con diclorometano usando una columna de fase inversa y una complejación posterior con cobre (II). Los recobros reportados de zineb, maneb y thiram fueron altos (> 98%) con *LOD* de zineb y maneb de 0.1 mg/kg. Los *LOD* para el tiram fueron mucho más bajos (0.005 a 0.01 mg/kg).

Topuz *et al.* (2005) publicaron un método para la determinación de maneb en diferentes jugos de frutas usando dos columnas de fase reversa (Luna CN y C18) con diferentes mecanismos de retención. Se probaron dos procedimientos de extracción utilizando diclorometano: Extracción en fase sólida (ESF) y extracción líquido-líquido (ELL), donde se observó que la EFS fue mejor. Se reportaron recuperaciones de 90 a 101% y un *LOD* de 0.1 mg/L.

Arvizu-Bernal y Ramos-Medina (2011) cuantificaron el ditiocarbamato de sodio contenido en el jugo de la caña de azúcar. Después de un tratamiento previo con dos tipos de extracciones, en fase sólida y líquido-líquido (EFS y ELL), realizaron la inyección al CLAR, empleando una columna cromatográfica de octadecil sílice, ODS (C18) de 10 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro interno y partículas esféricas de 5  $\mu\text{m}$ , con una velocidad de flujo de 1.1 mLmin<sup>-1</sup> usando como fase móvil agua:acetonitrilo (70:30) y empleando un detector UV con  $\lambda=200$  nm.

#### **2.4.6.2. Cromatografía líquida con espectrometría de masas**

Con base en la preparación de muestras y derivatización con yoduro de metilo introducido por Gustafsson y Fahlgren (1983), el recobro de los cartuchos Sep-PAK C18, que se usan para cuantificar zineb, maneb y mancozeb en muestras de agua ambiental por cromatografía de líquidos acoplada a ionización por electroasperjado y espectrometría de masas (*ESI-CL-MS* en inglés) para producir iones negativos permiten una recuperación media a nivel sub-ppm que puede ser del 79% con un coeficiente de variación del 29%.

También se han descrito varios métodos de ionización química a presión atmosférica (*APCI* en inglés), como los *LC-APCI-MS* en modo de ión positivo. Picóet al. (2004) publicaron un método *LC-APCI-MS*, para la determinación de DTC neutros solamente (es decir, tiram, dazomet y disulfiram) en diferentes materiales vegetales, plantas. Después de cortar y homogeneizar las muestras, la extracción y limpieza se realizó mediante dispersión en fase sólida de matriz y elución en columna con diclorometano/metanol obteniendo recuperaciones de 60 a 101% (desviación estándar 4 a 21%).

Crnogorac y Schwack (2009) publicaron un método de *LC-MS* para las tres subclases de DTC (es decir, DMD, EBD y PDB) usando una nueva fase polimérica alcalina estable mediante cromatografía por interacción hidrofílica (*HILIC* en inglés) y una fase móvil simple que comprendía acetonitrilo y amoníaco acuoso. Utilizaron una solución amortiguadora de hidrogenocarbonato de sodio (pH de .12) para la extracción superficial de muestras enteras que contenía D,L-penicilamina para estabilizar los DTC. Utilizaron DMD deuterada y EBD como marcadores internos, permitiendo el ensayo de dilución de isótopos y compensando las pérdidas de los extractos por degradación. Operaron el espectrómetro de masas simple cuadrupolo en modo de electroasperjado de ionización por electroaspray (ESI) negativo. Se determinaron *LOD* ( $CS_2$ ) de 16  $\mu g/kg$ , 24  $\mu g/kg$  y 20  $\mu g/kg$  para DMD, EBD y PBD, respectivamente obteniéndose recuperaciones en el intervalo de 90 a 100% a diferentes niveles. En lo que respecta a la selectividad y la sensibilidad, prefirieron *LC-tandem MS* (*LC-MS2*) sobre *LC-MS*, si se desean tener *LOD* bajos.

## **2.5. Extracción en fase sólida (preparación de la muestra)**

Para la cuantificación de residuos de plaguicidas se han desarrollado varios métodos de preparación de la muestra, una de las etapas más importantes en el análisis, ya que en esta etapa del proceso se realiza la extracción del y (los) analito(s) de interés. Los métodos de preparación más comúnmente utilizados son los de extracción tipo Soxhlet, en fase sólida, microextracción líquido-líquido, extracción sólido-líquido, extracción asistida por ultrasonido, así como por microondas y la microextracción en fase sólida (Borja-Urzola, 2017).

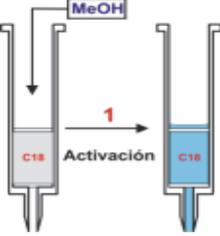
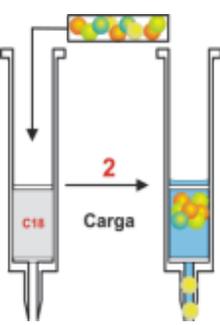
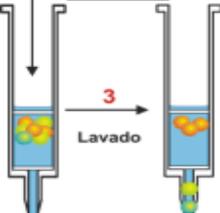
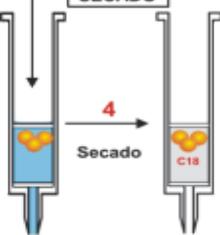
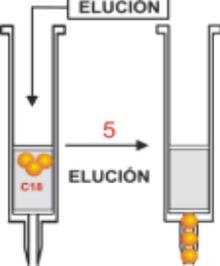
La purificación por extracción en fase sólida es una técnica de extracción (Tabla 2.9), que se basa en la retención sobre una fase estacionaria sólida con naturaleza adsorbente sólido de los compuestos deseados disueltos en una muestra líquida. La adición de un eluyente permite eliminar los componentes de la matriz que interfieren, para después eluir y concentrar los analitos de interés (Borja-Urzola, 2017; Skoog *et al.*, 2005).

El éxito de la EFS se basa en el grado de interacción que tengan los analitos de interés de la muestra con su disolvente y la fase estacionaria. La EFS resulta una excelente opción para los procesos de purificación debido a la reducción del volumen de disolventes, tiempo de análisis, costos del mismo y una mayor diversidad de fases estacionarias que tienen cartuchos comerciales con una gran variedad de polaridades (Borja-Urzola, 2017).

### **2.5.1. Adsorbentes**

Las fases estacionarias empleadas en la EFS son similares a las utilizadas en cromatografía de líquidos. De acuerdo con el carácter químico del grupo funcional unido a la sílice o al copolímero, las fases resultantes se pueden clasificar en: no polares, polares o de intercambio iónico. La elección de los disolventes utilizados depende de la naturaleza de la fase estacionaria (Berrueta *et al.*, 1995).

**Tabla 2.9. Procedimiento general de la EFS (CROMLAB, 2017)**

Etapa	Proceso	
Acondicionamiento	La activación del adsorbente y de los grupos funcionales se consigue al pasar un volumen de solvente o mezcla de solventes apropiado a través de la columna. Para activar adsorbentes hidrofóbicos se usa generalmente metanol o acetonitrilo, mientras que para los hidrofílicos se usa hexano o cloruro de metileno	
Carga de muestra	Aplicar la muestra en la parte superior del lecho de adsorbente. Los contaminantes de matriz pueden pasar por la columna sin ser retenidos y otros componentes de la matriz pueden retenerse más o menos fuertemente en la superficie del adsorbente. Para obtener la máxima eficacia se debe controlar el caudal de la muestra. Si se desea incrementar el caudal de una muestra viscosa se pueden usar adsorbentes de 90 o 140mm. La capacidad de intercambio y la selectividad no se ven afectadas	
Lavado	El lavado permite la eliminación de cualquier resto de compuestos que puedan interferir manteniendo los analitos en el lecho de adsorbente. Se pueden usar solventes o mezcla de solventes de diferente tipo para mejorar la eficacia del lavado	
Secado	Las trazas de solvente se eliminan haciendo circular aire a través de la columna durante 2 a 10 minutos. Esta etapa mejora el rendimiento de extracción	
Elución	Se pasa un solvente adecuado por la columna para eliminar la interacción analito-solvente y eluir el 100% de los compuestos de interés. El solvente adecuado ha de tener la máxima interacción con el analito y una interacción mínima con las demás impurezas, dejándolas en el lecho de adsorbente. El volumen de elución ha de ser el menor posible para mantener alto el factor de concentración	

*Octadecil-sílice C18*. Para formar la fase de extracción sólida se recubre o se liga a un compuesto orgánico hidrofóbico a sílice en polvo. En este caso los grupos funcionales ligados al empaquetamiento atraen a los compuestos hidrofóbicos de la muestra por interacciones de van der Waals y los extraen de la disolución acuosa (Skoog *et al.*, 2005).

## 2.6. Uso de materiales de bajo costo para la extracción

### 2.6.1. Quitina

Es el amino-polisacárido natural más abundante, se encuentra principalmente en el exoesqueleto de crustáceos, insectos y hongos. Se estima que se produce anualmente casi tanto como la celulosa. La quitina posee una estructura lineal de poli- $[\beta\text{-}(1\text{-}4)\text{-}2\text{-acetamido-}2\text{-desoxi-D-glucopiranososa}]$  (Figura 2.7), de alta masa molecular. Al igual que la celulosa, funciona naturalmente como un polisacárido estructural. Es blanca, dura, inelástica, altamente hidrofóbica e insoluble en agua y es la principal fuente de contaminación superficial en las zonas costeras (Durán-Olvera *et al.*, 2016; Kumar, 2000).

Debido a su abundancia, su obtención como una fuente renovable no tóxica y biodegradable la ha convertido en los últimos años en un nuevo material funcional, el cual tiene la posibilidad de remplazar a los polímeros derivados del petróleo (Ortega-Granados, 2011; Sarabia-Bañuelos, 2011).

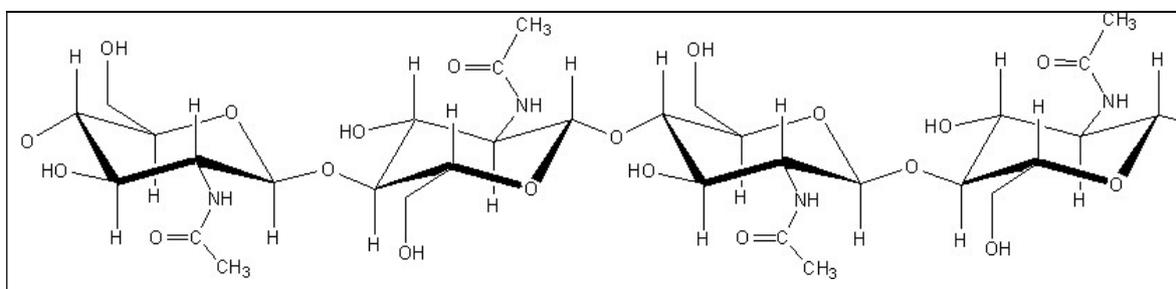


Fig. 2.7. Estructura de la quitina (Flores, 2008)

## 2.6.2. Quitosana

Se trata de un polisacárido de alta masa molecular, obtenido por desacetilación parcial de la quitina (Figura 2.8). Es decir, se quita parte del grupo acetil de la quitina, por tratamiento con álcali fuerte. Este nuevo polímero sintético (como es una goma termina en -ana), cuenta con mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Se ha descrito como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de alta masa molecular, de fácil aplicación y ambientalmente amigable. La presencia de grupos de aminas en la cadena polimérica ha hecho de la quitosana uno de los materiales más versátiles que se estudian, ya que le confiere una mayor polaridad que la quitina, lo cual implicaría una mejor capacidad de absorción de compuestos polares (como es el caso del metam de sodio) (Sarabia-Bañuelos, 2011).

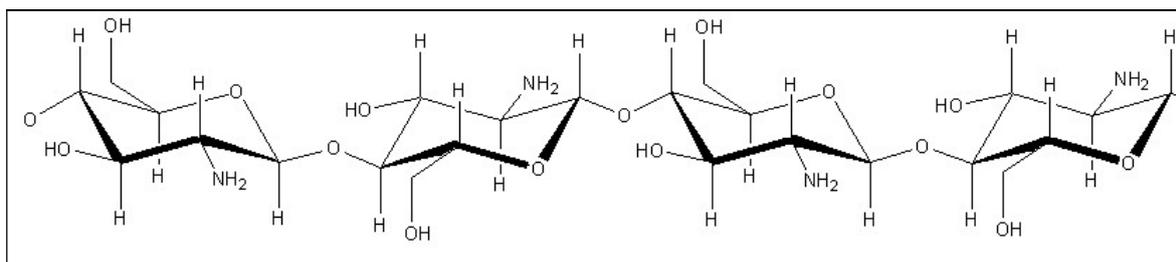


Fig. 2.8. Estructura de la quitosana (Flores, 2008)

Tomando en cuenta estos antecedentes y fundamentos teóricos, a continuación se presenta la metodología empleada para alcanzar los objetivos establecidos en esta investigación.

## Capítulo 3 Metodología

### 3.1. Desarrollo experimental

En la Fig. 3.1 se presenta el esquema de bloques de la estrategia experimental.

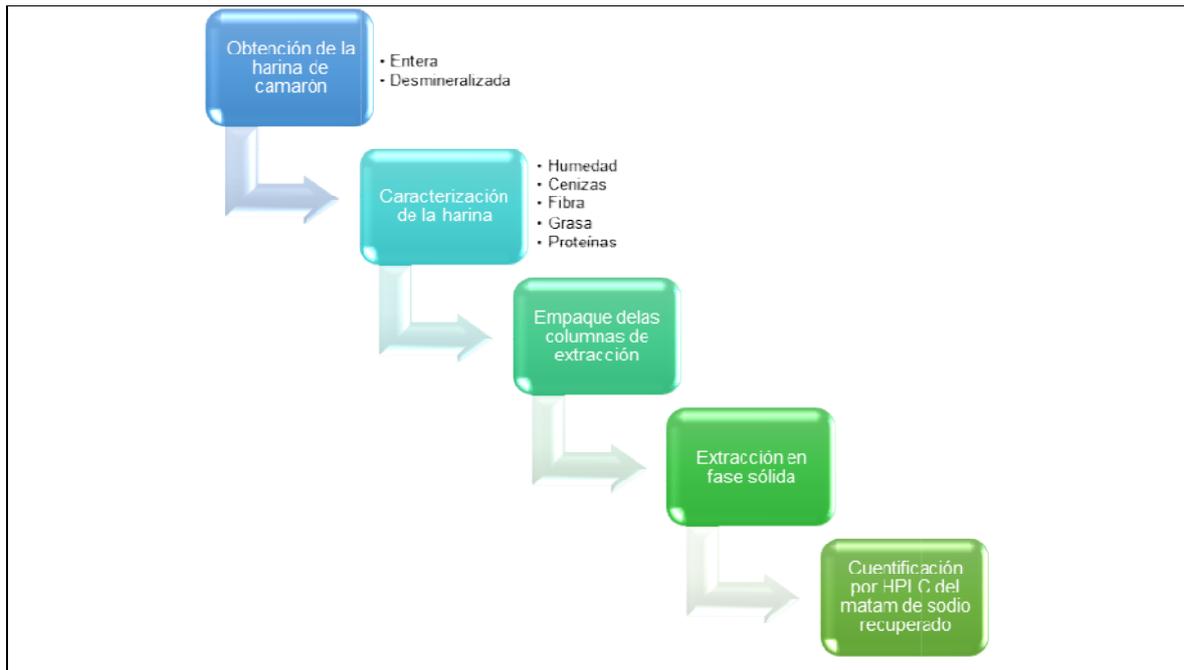


Fig. 3.1. Esquema de la metodología

### 3.2. Obtención de las harinas de residuos de camarón

A partir de los residuos de camarón adquiridos en la Central de Abastos, "La Nueva Viga", de la Ciudad de México, se obtuvieron los cefalotórax y exoesqueletos de camarón, los cuales se lavaron a chorro de agua y se enjuagaron con agua destilada. Posteriormente, se secaron en una estufa convencional a  $60^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  por 18 horas. El lote fue molido en licuadora durante 5 minutos, por intervalos de 30 segundos y tamizado en tamiz del No. 100 (Bárcenas-Ochoa, 2010; Ramírez-Cruz *et al.*, 2003). Para obtener las harinas desmineralizadas, se utilizó *EDTA* 0.5 M, con agitación constante por dos horas,

con una relación 1:9 (masa:volumen), se filtraron con tela de seda y se enjuagaron con agua destilada y desionizada.

### 3.3. Caracterización de las harinas

Se caracterizaron usando las siguientes variables:

- Determinación de humedad mediante una termobalanza (OHAUS MB200) (Kirk *et al.*, 1996)
- Determinación de materia grasa por el método de Soxhlet (James, 1999)
- Determinación de cenizas por el método de calcinación utilizando una mufla FURNANCE 4800 T (0-1100°C) (Kirk *et al.*, 1996)
- Determinación de proteína por el método de Kjeldahl (Nielsen, 1998)
- Determinación de fibra mediante método gravimétrico y enzimático (*kit* de ensayo de fibra dietética de Sigma-Aldrich®).

### 3.4. Cartuchos de extracción en fase sólida

Con las harinas obtenidas (entera y desmineralizada) se empacaron 54 cartuchos (Fig. 3.2) de cada una de las harinas, en jeringas de plástico desechables (Sensimedical ®) con capacidad de 5 mL, empleando una masa de 0.5 g de harina. Para ello se elaboraron tapones de fibra de vidrio previamente lavada con metanol grado *HPLC*, colocándolos en la base de la jeringa y en la parte superior del adsorbente (harinas).



**Fig. 3.2. Cartucho de EFS. Elaborado con adsorbente de harina de camarón**

### **3.5. Preparación de los estándares**

Se utilizó MS como *analytical standard*  $\geq 95\%$  (Sigma-Aldrich), realizando pruebas de estabilidad de la solución analítica (50 mg/L). Terminadas las pruebas se preparó una curva patrón según Lorenzo *et al.* (2014). Posteriormente, se realizó la validación de la curva patrón según lo establecidos en la guía de la Agencia para Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, *FDA Draft Guidance*, en inglés (Revicki, 2007).

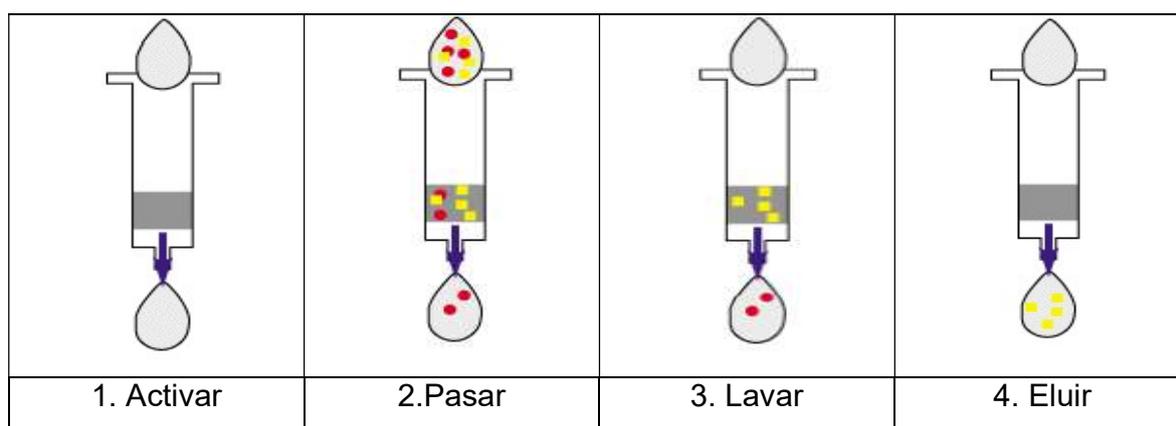
### **3.6. Extracción del jugo de caña**

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 (Bossi *et al.*, 2002; Gustafsson y Fahlgren, 1983; Gustafsson y Thompson, 1981; Hartmann *et al.*, 2000; Mullins y Kirkbright, 1987; Picó *et al.*, 2004; Stout *et al.*, 1998). 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 *et al.*, 2006) complementándolo con otro método para la extracción de carbamatos de jugos de manzana, cereza y fresa (Sagrati *et al.*, 2007). De la caña almacenada en refrigeración se procedió a la extracción del jugo, con la ayuda de un extractor de tipo casero, para realizar las pruebas correspondientes de un mismo lote.

### **3.7. Extracción en fase sólida (EFS)**

Los procedimientos de purificación por extracción en fase sólida 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).

En esta investigación se usaron harinas de cefalotórax y exoesqueletos de camarón, enteras y desmineralizadas y como control octadecil-sílice C18. El plaguicida MS fue aislado de la matriz, extrayéndolo con un fluido adecuado. Una vez que se consiguió esto se empleó la secuencia que aparece en la Figura 3.3, tomada de 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 la eliminación del mayor número de interferencias posibles; 4. Eluir los compuestos de interés mediante el paso del volumen necesario de un disolvente adecuado**

**Fig. 3.3. Extracción en fase sólida (EFS) (Pawliszyn, 2002)**

Se tomaron 10 mL de las matrices de estudio: metanol, agua y muestra de jugo de caña, adicionadas con 10 mL de una dilución  $30 \text{ mgL}^{-1}$  del estándar analítico del plaguicida de estudio, MS (Sigma-Aldrich®) en metanol grado cromatográfico; se sometieron al baño sónico por 15 min; posteriormente, fueron centrifugadas por 15 minutos y los sobrenadantes se filtraron con una membrana de Nylon de  $0.45 \mu\text{m}$ . Finalmente, 3 mL de esta mezcla se hicieron pasar por los cartuchos de extracción con los diferentes adsorbentes (harina entera, harina desmineralizada y C18) previamente acondicionados con 5 mL de agua seguida de 5 mL de metanol. Para llevar a cabo la elución del compuesto de interés se utilizaron 1 mL, 3 mL y 5 mL de una mezcla de metanol/agua grado cromatográfico en diferentes proporciones. Las muestras eluidas se inyectaron en el CLAR (HPLC en inglés) por triplicado para su cuantificación.

### 3.8. Cuantificación por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR (HPLC en inglés)

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución PerkinElmer® (Fig. 3.4) y se realizó la adaptación de las condiciones establecidas por Arvizu-Bernal y Ramos-Medina (2011) para realizar la cuantificación de MS. En la Tabla 3.1 se presentan las condiciones empleadas.



Fig. 3.4. Equipo de HPLC utilizado para la cuantificación del metam de sodio

<b>Tabla 3.1. Condiciones establecidas para la cuantificación de MS por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR (HPLC, high performance liquid chromatography)</b>		
<i>Condición</i>	<i>Arvizu-Bernal y Ramos-Medina (2011)</i>	<i>Adaptación en este experimento</i>
Columna	100 mm x 4 mm Nucleosil RP-18 (5 µm)	100 mm x 4 mm Hypersil™ ODS C18 (5 µm)
Fase móvil	Agua/Acetonitrilo (50:50)	Agua/Acetonitrilo (50:50)
Velocidad de flujo	1.4 min <sup>-1</sup>	1.4 min <sup>-1</sup>
Volumen de inyección	20 µL	20 µL
Detector	UV, 210 nm	UV, 210 nm
Tiempo de corrida	10 min	5 min

### **3.8.1. Límite máximo de detección del MS en el equipo**

Para obtener el límite de detección del plaguicida en el equipo, se realizaron diluciones a partir de una concentración de  $50 \text{ mgL}^{-1}$ ; las cuales se inyectaron en el equipo de cromatografía de líquidos y como concentración límite se consideró aquella en la que el pico del compuesto aparecía, pero ya no era posible integrarlo adecuadamente (Arvizu-Bernal y Ramos-Medina, 2011).

### **3.8.2. Curva de calibración del MS**

Se realizó una curva de calibración de 10 puntos con concentraciones que fueron de 0 a  $50 \text{ mgL}^{-1}$  de MS en metanol. Las disoluciones de cada concentración fueron preparadas en el momento de la inyección en el CLAR. Cada concentración se inyectó por triplicado y la concentración media ( $25 \text{ mgL}^{-1}$ ) se inyectó 5 veces.

### **3.9. Análisis estadísticos**

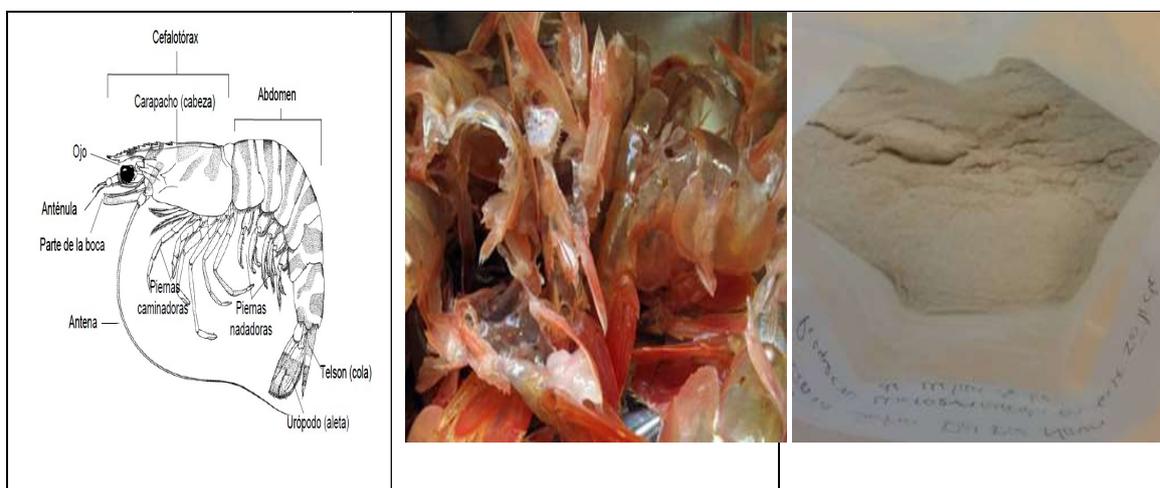
Para la comparación de las variables estudiadas se realizó la comprobación de diferencias significativas mediante un análisis de varianza (*anova* en inglés) multifactorial tipo III ( $P < 0.05$ ), con ayuda del software de análisis de datos estadístico StatGraphics®.

## Capítulo 4

### Resultados y discusión

#### 4.1. Obtención de la harina de residuos de camarón

En primera instancia se realizó la obtención de la harina de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Fig. 4.1), conseguida a partir de los residuos adquiridos gratuitamente en el local 26 de la Central de Abastos en la Ciudad de México “La Nueva Viga” (Fig. 4.2). En la Fig. 4.3 se presenta la harina después de la limpieza del cefalotórax del camarón y su secado, molienda y tamizado.



**Fig. 4.1. Esquema del cuerpo de un camarón (Franco-Zavaleta, 2010)**

**Fig. 4.2. Residuos de camarón obtenidos después del descabezado de los camarones**

**Fig. 4.3. Harina del cefalotórax de camarón**

#### 4.2. Desmineralización de la mitad de la harina

Posteriormente, se procedió a desmineralizar la mitad de la harina obtenida agitando la harina con *EDTA* 0.5 M (Fig. 4.4). Después, se filtró la mezcla de harina con *EDTA* en un matraz tipo Kitasato con tela de seda (Fig. 4.5), obteniendo un producto húmedo después de la filtración (Fig. 4.6). Finalmente, la harina seca desmineralizada (Fig. 4.7) se almacenó en el cuarto frío a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ .



Fig. 4.4. Agitación



Fig. 4.5. Filtración



Fig. 4.6. Harina húmeda



Fig. 4.7. Harina desmineralizada

### 4.3. Caracterización de las harinas enteras y desmineralizadas

En la Tabla 4.1 se presentan los resultados de la determinación del porcentaje de humedad (Fig. 4.8), porcentaje de cenizas por calcinación (Fig. 4.9), porcentaje de grasa cruda (Fig. 4.10), contenido de nitrógeno (proteína cruda) (Fig. 4.11), así como el contenido de fibra (Fig. 4.12).

Se observa que únicamente se pierden el 13.5% de los minerales en la harina desmineralizada tras el tratamiento con EDTA, con respecto a la harina inicial. Se puede notar que la humedad es mayor en la harina entera, ya que a pesar de haberse metido el mismo tiempo al horno los residuos del camarón y la harina desmineralizada, la harina tiene una mayor superficie de contacto, por lo que su secado fue mejor que la de los residuos sin moler.

**Tabla 4.1. Caracterización de las harinas de camarón**

<i>Determinación (%)</i>	<i>Harina entera</i>	<i>Harina desmineralizada</i>
Humedad	6.40 $\delta \pm 0.000$	5.33 $\delta \pm 0.058$
Cenizas	35.64 $\delta \pm 0.998$	22.24 $\delta \pm 0.628$
Grasa cruda	0.31 $\delta \pm 0.020$	0.33 $\delta \pm 0.012$
Proteína	30.26 $\delta \pm 0.404$	43.91 $\delta \pm 0.089$
Fibra	27.44 $\delta \pm 0.036$	28.16 $\delta \pm 0.047$



**Fig. 4.8. Determinación de humedad por termobalanza**



**Fig. 4.9. Determinación de cenizas, se observan los crisoles con las muestras en la campana**



**Fig. 4.10. Determinación de grasa, se observan dos equipos Soxhlet con la muestra en digestión**



**Fig. 4.11. Determinación de proteínas por método de Kjeldahl**



**Fig. 4.12. Determinación de fibra (kit de enzimas para su determinación)**

#### **4.4. Extracción del jugo de caña**

Por cada 8 trozos de caña (300 g aproximadamente) se obtuvieron 200 mL de jugo de caña (Fig. 4.13). El jugo se recolectó en un frasco de vidrio transparente de 500 mL y se conservó en refrigeración.



**Fig. 4.13. Extracción del jugo de caña en un extractor casero**

## 4.5. Cuantificación de MS por CLAR

### 4.5.1. Límite máximo de detección del MS

La concentración límite para el compuesto MS en metanol fue de  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$ . Además de integrarse sin problemas el pico del compuesto, fue al menos 10 veces mayor que el ruido de fondo.

### 4.5.2. Curva de calibración del MS

Con la regresión lineal se pudo comprobar la linealidad de la recta, indicada por el coeficiente de correlación. Del mismo modo, se obtuvo la ecuación de la recta, la cual sirve para calcular la concentración del Metam Sodio (x) en la matriz de metanol (Fig. 4.14). El coeficiente de variación (C.V.) para el punto medio fue de 5.92% indicando que hay poca variabilidad debida a la inyección de la muestra.

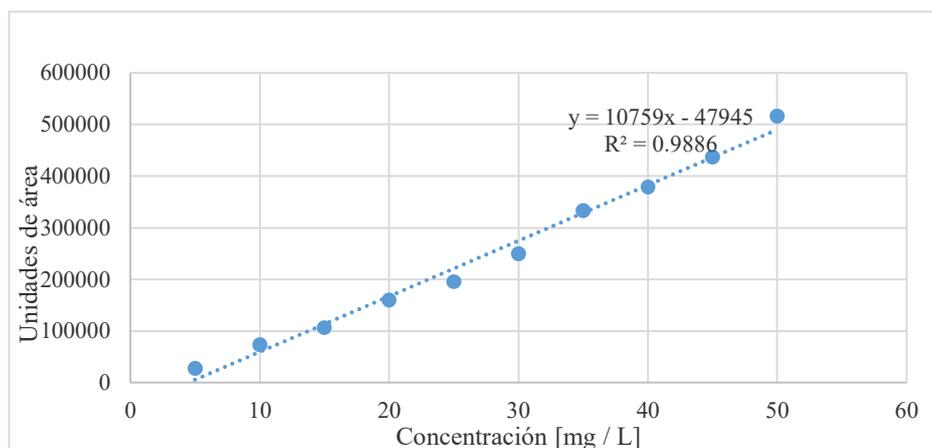


Fig. 4.14. Curva de calibración de la cuantificación del MS por CLAR

### 4.5.3. Porcentaje de recobro del MS

Para poder analizar la recuperación del Metam Sodio después de realizadas las extracciones con los cartuchos de harina de camarón entera (tal como se observa

en la Fig. 4.15), el MS se cuantificó tanto en la disolución inicial, como en el producto eluido.

Se realizaron las primeras eluciones con 3mL de eluyente y diferentes mezclas metanol/agua (Tabla 4.2), en donde al realizar la elución de la muestra con un porcentaje de agua mayor al 40% y realizar la inyección de ésta se observó que los picos provenientes tanto del metanol como del Metam de sodio se ensanchaban demasiado y no se lograba una buena separación entre ellos, por lo que se decidió realizar las eluciones con la mezcla metanol/agua en proporción de 60:40, ya que con ellas se obtuvo el mayor porcentaje de recuperación.



**Fig. 4.15. Extracción en fase sólida con los cartuchos de harina de camarón**

**Tabla 4.2. Porcentaje de recuperación con diferentes mezclas metanol/agua**

Metanol: agua	Recuperación MS (%)
100:0	0.752 <sup>δ</sup> ± 0.648
90:10	0.954 <sup>δ</sup> ± 0.211
80:20	3.520 <sup>δ</sup> ± 0.082
70:30	7.569 <sup>δ</sup> ± 0.102
60:40	12.864 <sup>δ</sup> ± 0.092

El siguiente factor que se consideró fue el volumen de la disolución que se pasaba por el cartucho. Para esto se probaron 3 volúmenes diferentes: 5, 3 y 1 mL. Se observa en la Tabla 4.3, que el volumen de ruptura es pequeño, es decir, que a mayor volumen se tiene una menor retención del compuesto. Por tanto, el mejor volumen para obtener la mayor extracción de los tres estudiados es el de 1 mL.

**Tabla 4.3. Porcentaje de recuperación con diferentes volúmenes de disolución pasada por el cartucho**

Disolución (mL)	MS no retenido (%)	Recuperación de MS (%)
1	12.144 <sup>δ ± 0.114</sup>	36.291 <sup>δ ± 0.055</sup>
3	55.432 <sup>δ ± 0.084</sup>	12.864 <sup>δ ± 0.092</sup>
5	89.002 <sup>δ ± 0.2040</sup>	8.089 <sup>δ ± 0.029</sup>

Una vez establecida la mejor mezcla para el eluyente y la cantidad de disolución que se debe pasar por el cartucho de extracción, se procedió a establecer la cantidad de eluyente necesario para recuperar todo el compuesto. Para ello se recuperaron las fracciones después de cada mililitro de eluyente, obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 4.4.

Tras realizar un análisis estadístico se determinó que no existe diferencia significativa entre las fracciones a partir de 3 mL, por lo que el volumen de elución seleccionado fue de 3 mL.

**Tabla 4.4. Porcentaje de recuperación en las diferentes fracciones de volumen de elución**

Fracción (mL)	Recuperación en la fracción de MS (%)	Recuperación total de MS (%)
1	47.380 <sup>δ ± 0.037</sup>	47.380
2	4.103 <sup>δ ± 0.030</sup>	51.484
3	2.763 <sup>δ ± 0.060</sup>	54.247
4	1.090 <sup>δ ± 0.068</sup>	55.337
5	0.162 <sup>δ ± 0.221</sup>	55.499

Por último, con las condiciones establecidas se procedió a probar la recuperación en los tres cartuchos: con harina entera, con harina desmineralizada y usando los cartuchos comerciales C18.

Al analizar los resultados de la Tabla 4.5, puede verse que existe diferencia significativa entre cada uno de ellos, siendo el material comercial usado como control el que dio la recuperación más alta.

Cartucho	Recuperación MS (%)
Octadecil-sílice C18 (J.T. Baker®)	47.380 <sup>δ ± 0.037</sup>
Harina de camarón desmineralizada	8.145 <sup>δ ± 0.032</sup>
Harina de camarón entera	36.291 <sup>δ ± 0.055</sup>

## Capítulo 5

### Conclusiones y recomendaciones

#### 5.1. Conclusiones

De acuerdo con los objetivos de esta investigación que eran: Cuantificar por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR (*HPLC por sus siglas en inglés*), la extracción en fase sólida (EFS) del MS presente en el jugo de caña utilizando dos tipos de adsorbentes, las harinas de cefalotórax de camarón entera y desmineralizada y comparar su desempeño con un control comercial de octadecil-sílice C18 (J.T. Baker®) se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Se observó que los resultados obtenidos en las determinaciones de humedad, ceniza, fibra, proteínas y grasa realizadas fueron similares con respecto a los resultados en otros estudios (Flores, 2004, 2008).
- Se realizó de manera experimental la optimización del método de extracción en fase sólida. Al observar si había diferencias significativas al variar los parámetros, con los resultados obtenidos, se concluye que las mejores condiciones de extracción para este biocida en los cartuchos son las siguientes: eluyente: metanol/agua (60:40), volumen de eluyente: 1 mL y volumen de muestra: 1 mL.
- Tras cuantificar el MS extraído, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, se pudo determinar que síhubieron diferencias significativas debidas al origen del adsorbente en la extracción en fase sólida (EFS) del MS presentando un coeficiente de variación de 7.84.
- Se obtuvo el mejor porcentaje de recuperación con la columna comercial de octadecil-sílice C18 (J.T. Baker®) con un porcentaje de  $47.380^{\delta} \pm 0.037$ , seguida de las columnas de harina de camarón entera con un porcentaje de

$36.291^{\delta \pm 0.055}$  y, por último, con el menor porcentaje de recuperación de  $8.145^{\delta \pm 0.032}$ , las columnas que tienen como adsorbente la harina de camarón desmineralizada. Esto indica que las condiciones estudiadas en esta fase de la investigación pueden ser mejoradas con objeto de que el desempeño del material de bajo costo sea comparable con el comercial. La desmineralización definitivamente altera las características químicas del polímero natural obtenido de los residuos de camarón por lo que deberá estudiarse esto con mayor profundidad.

## 5.2. Recomendaciones

Debido a que las columnas de harina de residuos de camarón parecen ser un adsorbente poco polar se recomienda estudiar sus características químicas y, posteriormente, probar su uso con plaguicidas organofosforados, organoclorados y herbicidas poco polares.

Para la optimización del funcionamiento de las columnas, específicamente para la extracción del metam de sodio, se recomienda estudiar el efecto de la extracción de los polímeros de los residuos (quitina-quitosana) ya que probablemente su proporción sea la que esté determinando su capacidad adsorbente.

Sarabia-Bañuelos (2011) menciona que la diferencia entre quitina y quitosana es su grado de desacetilación, por lo que esta característica podría ser determinante para su uso como material de empaque de las columnas de EFS. Esta proporción podría obtenerse con cambios en el procedimiento de solubilización patentado por la UNAM (Durán-Domínguez-de-Bazúa *et al.*, 2004) para mejorar la recuperación del MS esperando que fuese mayor que la del material comercial de octadecil-sílice C18 (J.T. Baker®) reduciendo el costo de producción de las columnas.

## Bibliografía

- Alejo-Munguía, S. (2017). **Fotodescomposición de biocidas utilizados en la industria azucarera**. Tesis profesional de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Marzo 27. Ciudad de México, México.
- Arvizu-Bernal, D. I., Ramos-Medina, J. C. (2011). **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 profesional de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Diciembre 2. México D.F., México.
- Bárcenas-Ochoa, E. M. (2010). **Biopolímeros de cefalotórax y exoesqueleto del camarón. Uso de aditivos para modificar sus propiedades mecánicas**. Tesis profesional de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Agosto 23. México D.F., México.
- Bernal-González, M., Mercado-Saldaña, M. F., Durán-de-Bazúa, C. (2014). Uso del ditiocarbamato de sodio como agente biocida contra *Leuconostocmesenteroides* en los ingenios azucareros. Parte 4. Efectos de algunos factores de proceso sobre la degradación de uno de sus subproductos, el disulfuro de carbono (CS<sub>2</sub>): Métodos analíticos. *ATAM*. 27(4), 19-25.
- Bernal-González, M., Zarco-Mercado, H. E., Durán-de-Bazúa, C. (2017). Uso del ditiocarbamato de sodio como agente biocida contra *Leuconostoc mesenteroides* en los ingenios azucareros. Parte 5. Identificación de bacterias mesófilas aerobias predominantes en el jugo de caña de un ingenio y su susceptibilidad a tres biocidas. *ATAM*. 30(1), 31-39.
- Berrueta, L. A., Gallo, B., Vicente, F. (1995). A review of solid phase extraction: basic principles and new developments. *Chromatographia*. 40(7-8), 474-483.
- Blackburn, F. (1984). Sugar-cane. Longman, 414 p. New York, EE.UU.
- Borja-Urzola, A. C. (2017). **Influencia de la materia orgánica en la extracción en fase sólida de la atrazina y dos de sus metabolitos de degradación en muestras acuosas. Caso de estudio canales de Xochimilco, Cd.Mx.,**

- México.** Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Enero 31. Ciudad de México, México.
- Bossi, R., Vejrup, K. V., Mogensen, B. B., Asman, W. A. H. (2002). Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 957(1), 27-36.
- Chen, J., Chen, C. (2013). A new data analysis method to determine pesticide concentrations by cyclic voltammetry. *Measurement*. 46(6), 1828-1833.
- Crnogorac, G., Schwack, W. (2009). Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 28(1), 40-50.
- CROMLAB. 2017. [En línea] Disponible en: [http://www.cromlab.es/EFS\\_Principal.htm](http://www.cromlab.es/EFS_Principal.htm) CROMLAB, S.L. [Último acceso el 02 de mayo de 2017]
- Colombo, R., Lanças, F. M., Yariwake, J. H. (2006). 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.
- de Oliveira Arias, J. L., Rombaldi, C., Caldas, S. S., Primel, E. G. (2014). Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1360, 66-75.
- DOF. (2009). Norma Oficial Mexicana. Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. Jueves 24 de septiembre de 2009. Diario Oficial (Primera Sección). Tabla 21 – Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal. El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
- Domínguez-Manjarrez, C. A., Bravo-Alvarez, H., Sosa-Echeverría, R. (2014). Prevención, minimización y control de la contaminación ambiental en un

- ingenio azucarero de México. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*. 15(4), 549-560. <http://www.revistas.unam.mx/index.php/ingenieria/article/view/45900>
- Durán-de-Bazúa, M.C. (2017). Aditivos: Negocios a la Moda. Parte IV. ***RD-ICUAP***. 3(2)1-15.  
[http://www.icuap.buap.mx/docs/revista\\_ocho/articulos\\_largos/aditivos.pdf](http://www.icuap.buap.mx/docs/revista_ocho/articulos_largos/aditivos.pdf)
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2014). Aditivos: Negocios a la moda. Mejoramiento de la Parte 2. Edulcorantes y aditivos publicada en la revista ***ATAM***, 26(1):6-11 (2013). ***VirtualPro***. No. 154, Noviembre 2014. Tercera entrega. Bogotá, Colombia.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2013). Aditivos: Negocios a la moda. Parte 2. Edulcorantes y aditivos. ***ATAM***. 26(1), 6-11).
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2012). Aditivos: Negocios a la moda. Parte 1. Edulcorantes. ***ATAM***. 25(4), 23-28.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C., Barrera-Rodríguez, S., Flores-Ortega, R. A. (2004). Extracción ecológica de quitina y subproductos. Solicitud de Registro: Octubre 1, 2004. Facultad de Química, UNAM. IMPI. PA/a/2004/009517. Patente Núm. 264482 otorgada el 12 de febrero de 2009. México D.F. México.
- Durán-Olvera, J. M., Magaña-Pérez, G., Ayala-Tirado, R. C., García-Gómez, R., Amabilis-Sosa, L. E., Durán-de-Bazúa, M. C., Solís-Fuentes, J. A. (2016). Uso de quitina y quitosana procedentes de residuos de camarón en la purificación de jugos de caña (*Saccharum officinarum*). *Revista Química Central de la Facultad de Ciencias Químicas (Ecuador)*. 5(1), 27-40.  
<http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/QUIMICA/article/view/884/PDF>
- Flores, R.A. (2004). **Bioplástico de quitina: Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos**. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Facultad de Química, UNAM. Defensa: Agosto 20. México D.F., México.
- Flores, R. A. (2008). **Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón**. Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Facultad de Química, UNAM. Defensa: Abril 25. México D.F., México.

- Franco-Zavaleta, M. E. (2010). *Extracción de astaxantina a partir de residuos de camarón ensilados por métodos ácido y bacteriano*. Tesis de Doctorado, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F., México.
- Gustafsson, K. H., Fahlgren, C. H. (1983). Determination of dithiocarbamate fungicides in vegetable food stuffs by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 31(2), 461-463.
- Gustafsson, K. H., Thompson, R. A. (1981). High-pressure liquid chromatographic determination of fungicidal dithiocarbamates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29(4), 729-732.
- Gutiérrez, J. P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M., Hernández-Ávila, M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. México. Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Mor., México.
- Hartmann, H., Burhenne, J., Müller, K., Frede, H. G., Spiteller, M. (2000). Rapid target analysis for pesticides in water by online coated capillary microextraction combined with liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*. 83(3), 762-770.
- Irth, H., De Jong, G. J., Brinkman, U. T., Frei, R. W. (1986). Metallic copper-containing post-column reactor for the detection of thiram and disulfiram in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 370, 439-447.
- INSP. (2017). El consumo de azúcar en México y la nueva directriz de la OMS para su reducción global. [En línea]. Disponible en: <https://www.insp.mx/epppo/blog/3609-consumo-azucar-mexico-nueva-directriz-oms.html> [Último acceso el 24 de abril de 2017]
- James, C.S. 1999. *Analytical Chemistry of Foods*. Second Edition, ASPEN Publishers. New York, EE.UU.
- Jiménez, E. R. (2005). La dextranasa a lo largo de la Industria azucarera. *Biotecnología Aplicada*. 22(1), 11-19.
- Kirk, R.S., Sawyer, R. Egan, H. (1996). *Composición y análisis de alimentos*. Pearson. Segunda edición. Editorial CECSA. México D.F., México.

- Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*. 46(1), 1-27.
- LAINCO. 2017. LAINCO, S.A. [En línea]. Disponible en: <http://www.lainco.cat/files/pdf/0efc17cb80ce26f0838fa0b01d159f0e.pdf> [Último acceso el 25 de abril de 2017]
- Larrahondo, J. E. (1995). Calidad de la caña de azúcar. El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia. Eds. Cassalet, C, pp. 337-354. Bogotá, Colombia.
- Lorenzo, C., Serrano-Díaz, J., Plaza, M., Quintanilla, C., Alonso, G. L. (2014). Fast methodology of analysing major steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*. 157, 518-523.
- Mullins, F. G., Kirkbright, G. F. (1987). Determination of sodium N-methylthiocarbamate (metham sodium) and methyl isothiocyanate in aqueous samples by high-performance liquid chromatography using a micellar mobile phase. *Analyst*. 112(5), 701-703.
- NCBI. (2016). Centro Nacional de Información de Biotecnología. Base de datos PubChem Compuesto; CID = 5366415, [En línea] Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5366415> [Último acceso el 27 de noviembre de 2016].
- NCBI. (2017). Centro Nacional de Información de Biotecnología. Base de datos PubChem Compuesto; CID = 5988, [En línea] Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5988> [Último acceso el 01 de mayo de 2017].
- Netafim. (2017). Caña de Azúcar. [En línea]. Disponible en: <http://www.sugarcane crops.com/s/introduction/> [Último acceso 24 de junio de 2017].
- Nielsen, S. (1998). *Food Analysis*. Second Edition. Aspen Publication, pp. 203-233. Gaithersburg, EE.UU.
- Nieves Barrios. (2015). Masa versus peso. Diferencias entre peso y masa. [En línea]. Disponible en: <http://cienciasprimeroeso.blogspot.mx/2015/04/masa-versus-peso.html> [Último acceso 24 de junio de 2017].

- Ortega-Granados, J.A. (2011). **Efecto del recubrimiento de fresas usando quitina-quitosana obtenida de cefalotórax y exoesqueleto de camarón en su vida de anaquel a temperatura ambiente (20±2°C) y refrigeración (4°C)**. Tesis profesional de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 29. México D.F.
- Panel on determination of dithiocarbamate residues. (1981). Determination of residues of dithiocarbamate pesticides in foodstuffs by a headspace method. *The Analyst*. 106(1264), 782-787.
- Pawliszyn, J. (2002). Sampling and sample preparation for field and laboratory: fundamentals and new directions in sample preparation. *Elsevier*. 37, 1-1131.
- Picó, Y., Blasco, C., Font, G. (2004). Environmental and food applications of LC–tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview. *Mass Spectrometry Reviews*. 23(1), 45-85.
- RAE. (2017). Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española. [En línea]. Disponible en:<https://www.rae.es>[Último acceso 24 de junio de 2017].
- Ramírez-Cruz, M. A., García-Gómez, R. S., Flores-Argüello, I., Gálvez-Mariscal, A., Durán-de-Bazúa, C. (2003). Empleo de una enzima quitinolítica de *Serratia marcescens* para la obtención de carotenoproteínas a partir del cefalotórax de camarón. *Tecnología, Ciencia, Educación (IMIQ, Mex)*. 18(1), 32-39.
- Revicki, D. A. (2007). FDA draft guidance and health-outcomes research. *TheLancet*. 369(9561), 540-542.
- SAGARPA-CONAPESCA. 2011. *Anuario estadístico de pesca 2010*. 305 pp. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, México. [En línea]. Disponible en: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuacultura-y-pesca> [Último acceso 27 de septiembre de 2016].
- Sagrati, G., Manes, J., Giardiná, D., Damiani, P., Picó, Y. (2007). Analysis of carbamate and phenylurea pesticide residues in fruit juices by solid-phase microextraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1147(2), 135-143.
- Sampedro-Márquez, N.A. (2016). **Aislamiento de las bacterias *Weissella confusa* y *Leuconostoc mesenteroides* en jugos de caña de un ingenio**

- azucarero estudiando su susceptibilidad a dos biocidas comerciales.**  
Tesis profesional de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM.  
Defensa: Mayo 27. Ciudad de México, México.
- Sarabia-Bañuelos, P. (2011). Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: obtención de quitina y quitosana del cefalotórax de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Noviembre 18. México D.F., México.
- SE. (2012). Secretaría de Economía. Dirección General de Industrias Básicas. *Análisis de la situación económica, tecnológica y de política comercial del sector edulcorantes en México.*[En línea]. Disponible en: [http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/Analisis\\_Sectorial\\_Mercado\\_Edulcorantes.pdf](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/Analisis_Sectorial_Mercado_Edulcorantes.pdf) [Último acceso 24 de abril de 2017].
- 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 (2017). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México. [En línea]. Disponible en: <http://www.campomexicano.gob.mx/azcf/reportes/reportes.php?tipo=CIERRE> [Último acceso 24 de abril de 2017].
- Skoog, D., West, D., Holler, J., Crouch, S. (2005). *Fundamentos de química analítica*. Octava edición. Editorial Cengage Learning. México D.F., México.
- Stout, S. J., Dacunha, A. R., Picard, G. L., Safarpour, M. M. (1998). Simplification of analytical methods in pesticide residue analysis by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*. 81(4), 685-690.
- Subirós-Ruiz, F. (1995). Cultivo de la caña de azúcar. EUNED, Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica.
- Topuz, S., Özhan, G., Alpertunga, B. (2005). Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD. *Food Control*. 16(1), 87-92.

Yerga, Daniel. (2014). La miel, fuente de energía y química. [En línea]. Disponible en:

<https://quimicosonador.wordpress.com/2014/01/27/la-miel-fuente-de-energia-y-quimica/> [Último acceso 24 de julio de 2017].

Zarco-Mercado, H. E., Sampedro-Márquez, N. A., Alejo-Munguía, S., Del Río-Nava, T. S., Bernal-González, M., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. C. (2017). Manual sobre metodologías para la identificación de bacterias mesófilas aerobias predominantes en el jugo de caña de un ingenio y su susceptibilidad a tres biocidas y para el aislamiento de las bacterias *Weissella confusa* y *Leuconostoc mesenteroides* en jugos de caña y metodologías para la determinación de Metam Sodio ( $C_2H_4NS_2-Na$ ) por cromatografía de líquidos y por extracción en fase sólida, de sus productos de fotodescomposición metilamina ( $CH_3NH_2$ ) e isotiocianato de metilo ( $C_2H_3NS$ , MITC en inglés) con la determinación de la dimetiltiourea ( $C_3H_8N_2S$ ) y metiltiourea ( $C_2H_6N_2S$ ) derivados del MITC Y del subproducto del Metam Sodio: disulfuro de carbono ( $CS_2$ ) en ingenios azucareros. Pub. UNAM, DGAPA-PAPIIT y Facultad de Química. Proyecto clave IN102214. Eds. Marisela Bernal González, Rolando Salvador García-Gómez, Landy Irene Ramírez-Burgos, María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa. 414 págs. Ciudad de México, México.