



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

OPTIMIZACIÓN DE LA MICROEXTRACCIÓN EN FASE
SÓLIDA (SPME) PARA DETERMINACIÓN DE
PLAGUICIDAS ORGANOCCLORADOS EN AGUA POTABLE

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA

SANDRA ANGÉLICA BENÍTEZ REYES



CDMX., 2020



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:	PROFESOR: ALBERTO COLIN SEGUNDO
VOCAL:	PROFESOR: JOSÉ ELÍAS BECERRIL BRAVO
SECRETARIO:	PROFESOR: JUAN MANUEL RODRÍGUEZ
1ER. SUPLENTE:	PROFESOR: MIGUEL ÁNGEL ROSALES CÉSAR
2DO. SUPLENTE:	PROFESOR: JUAN ROLANDO VÁZQUEZ MIRANDA

EL PROYECTO SE DESARROLLÓ EN EL LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, EDIFICIO 5 DEL INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM.

CIRCUITO ESCOLAR S/N, CIUDAD UNIVERSITARIA, DELEGACIÓN COYOACÁN, MÉXICO, CDMX., C.P. 04510

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Elías Becerril Bravo

SUSTENTANTE:

Sandra Angélica Benítez Reyes

Este proyecto se realizó con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM a través del Programa de apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME 2015).

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado de Certificación Mexicana, S. C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la calidad de conformidad con los requisitos de la norma Internacional ISO9001:2015.

No. De certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el periodo del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020.

Índice general

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ABREVIATURAS	V
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	5
2.1. CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES	5
2.2. BIFENILOS POLICLORADOS	6
2.3. PLAGUICIDAS	6
2.3.1. CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS	7
2.3.2. PROPIEDADES FÍSICAS IMPORTANTES	10
2.4. PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS	14
2.4.1. CARACTERÍSTICAS	15
2.4.2. NORMATIVIDAD	20
2.5. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS	22
2.5.1. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN	23
2.5.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS	24
2.6. MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)	25
2.6.1. METODOLOGÍA DE LA SPME	27
2.6.2. PARÁMETROS QUE AFECTAN LA SPME	32
2.6.3. SPME FRENTE A LAS TÉCNICAS CLÁSICAS DE EXTRACCIÓN	35
2.7. OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS	41
3. OBJETIVOS	43
3.1. OBJETIVO GENERAL	43
3.2. OBJETIVOS PARTICULARES	43
4. HIPÓTESIS	43

5. METODOLOGÍA	44
5.1. MATERIALES Y EQUIPOS	44
5.1.1. REACTIVOS	44
5.1.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS	48
5.2. METODOLOGÍA	50
5.2.1. PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES ESTÁNDAR DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS	50
5.2.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN POR HS-SPME	50
5.2.3. DESARROLLO DEL MÉTODO INICIAL	51
5.2.4. SELECCIÓN DE LA FASE DE EXTRACCIÓN	56
5.2.5. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN	57
5.2.6. TRATAMIENTO DE DATOS	59
5.2.7. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL MÉTODO	59
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
6.1. SELECCIÓN DE LA FASE DE EXTRACCIÓN	62
6.2. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN	65
6.2.1. SUPERFICIE DE RESPUESTA	67
6.3. CURVAS DE CALIBRACIÓN Y DESEMPEÑO DEL MÉTODO	69
6.4. ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA POTABLE	74
7. CONCLUSIONES	76
ANEXO 1. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA SELECCIÓN DE FASE DE EXTRACCIÓN.	78
ANEXO 2. EFECTOS PRINCIPALES DE LA TEMPERATURA, CONCENTRACIÓN DE NACL Y TIEMPO EN LA SPME DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS.	84
ANEXO 3. DIAGRAMAS DE PARETO ESTANDARIZADOS PARA LA SPME DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS.	87
ANEXO 4. GRÁFICOS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DE CADA ANALITO.	90
ANEXO 5. CURVAS DE CALIBRACIÓN.	93
REFERENCIAS	96

Índice de tablas

<i>Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas por su toxicidad.</i>	7
<i>Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas por su campo de acción.</i>	8
<i>Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas orgánicos por su grupo funcional.</i>	9
<i>Tabla 4. Plaguicidas organoclorados listados en el Convenio de Estocolmo.</i>	15
<i>Tabla 5. Clasificación por uso y toxicidad de algunos plaguicidas organoclorados.</i>	16
<i>Tabla 6. Propiedades físicas relevantes de los plaguicidas organoclorados.</i>	17
<i>Tabla 7. Límites máximos permisibles de plaguicidas en agua de consumo establecidos en México, EUA y por la OMS.</i>	21
<i>Tabla 8. Algunas fases de SPME comerciales.</i>	34
<i>Tabla 9. Características principales de LLE, SPE y SPME</i>	39
<i>Tabla 10. Estructura química de los analitos presentes en el estándar.</i>	44
<i>Tabla 11. Iones fragmento diagnóstico para el análisis SIM.</i>	55
<i>Tabla 12. Matriz de experimentos para la selección de fase extractante</i>	56
<i>Tabla 13. Matriz de experimentos para la optimización de SPME.</i>	58
<i>Tabla 14. Factores y niveles del diseño experimental Box-Behnken 3³.</i>	59
<i>Tabla 15. Prueba de rangos múltiples para el factor fase por cada analito.</i>	63
<i>Tabla 16. Efecto relativo de las variables estudiadas para la SPME de POCs.</i>	66
<i>Tabla 17. Parámetros estadísticos para las regresiones lineales para la cuantificación de POCs a un nivel de confianza del 95%.</i>	70
<i>Tabla 18. Parámetros de evaluación del desempeño del método.</i>	71
<i>Tabla 19. Aceptación del método según los parámetros de referencia.</i>	72
<i>Tabla 20. Sitios de muestreo</i>	74
<i>Tabla 21. Análisis de muestras de agua potable</i>	75

Índice de figuras

<i>Figura 1. Clasificación de los plaguicidas por su estructura química.</i>	10
<i>Figura 2. Pasos del proceso analítico general.</i>	22
<i>Figura 3. Esquema de una fase comercial de SPME, a) protegida y b) fase extractante expuesta.</i>	26
<i>Figura 5. Sistema para SPME por inmersión directa</i>	29
<i>Figura 6. Metodología de SPME por head-space, a) sistema para SPME por head-space, b) exposición de la fase para la extracción de los analitos, c) inyección al cromatógrafo de gases</i>	31
<i>Figura 7. Efecto del tiempo de extracción en la cantidad de analito extraída</i>	35
<i>Figura 8. Resumen comparativo de la extracción de plaguicidas organoclorados por extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida. Fuente: NMX-AA-071-SCFI-2018</i>	37
<i>Figura 9. Sistema de extracción HS-SPME.</i>	51
<i>Figura 10. Programa de temperatura para el análisis cromatográfico.</i>	52
<i>Figura 11. Cromatograma típico en modo SIM para la mezcla de POCs a una concentración de 6 µg/L.</i>	54
<i>Figura 12. Diseño experimental Box-Behnken para la optimización tres factores en tres niveles.</i>	58
<i>Figura 13. Gráfico comparativo de las respuestas obtenidas con tres fases de extracción distintas.</i>	64
<i>Figura 14. Superficie de respuesta estimada en unidades de deseabilidad.</i>	68

Abreviaturas

BPCs	Bifenilos policlorados
CAR	Carboxen
COPs	Contaminantes Orgánicos Persistentes
DDE	Diseño de Experimentos
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DI	Inmersión directa
DVB	Divinilbenceno
EPA	Agencia de protección ambiental (Estados Unidos) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la
FAO	Agricultura
GC	Cromatografía de gases
HCH	Hexaclorociclohexano
HS	Head-Space
LLE	Extracción Líquido-Líquido
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
LPME	microextracción en fase líquida
MS	Espectrometría de masas
OC	Compuesto Organoclorado
PBDEs	Polibromodifenil éteres
PDMS	Polidimetilsiloxano
PFA s	Per y polifluoroalquilos
PM	Peso molecular
POCs	Plaguicidas Organoclorados
PV	Presión de vapor
RSM	Metodología de superficie de respuesta
SBSE	Extracción por sorción con barra de agitación
SDME	microextracción en gota
SI	Sistema Internacional de Unidades
SPE	Extracción en Fase Sólida
SPME	Microextracción en Fase Sólida
TOC	Carbono orgánico total
USAEME	Microextracción Emulsificación Asistida por Ultrasonido
USAEME	microextracción-emulsificación asistida por ultrasonido

Resumen

Se optimizaron las condiciones de extracción (fase extractante, porcentaje de NaCl añadido, así como temperatura y tiempo de extracción) para el análisis de 20 plaguicidas organoclorados y un bifenilo policlorado usando microextracción en fase sólida (SPME) seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Para la implementación del método se diseñó un programa cromatográfico que permitiera la separación de los analitos. Todas las extracciones se llevaron a cabo en la modalidad head-space (HS), utilizando una fase de divinilbenceno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS).

La obtención de las condiciones de tratamiento de la muestra que aumentan simultáneamente el área de señal cromatográfica de los analitos se llevó a cabo utilizando un diseño experimental Box-Behnken 3^3 (tres factores en tres niveles) y aplicando una metodología de superficie de respuesta (RSM) para el análisis estadístico y el cálculo de los valores óptimos de cada factor.

Además se realizó una prevalidación del método con la finalidad de evaluar su desempeño analítico e identificar los factores a mejorar para su futura implementación en el monitoreo de la calidad de agua potable de acuerdo a los parámetros establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000).

Las curvas de calibración para todos los plaguicidas se construyeron en el intervalo lineal de 1 $\mu\text{g/L}$ a 6 $\mu\text{g/L}$, obteniendo coeficientes de correlación entre 0.9646-0.9999, límites de cuantificación (LC) de 0.5 a 2.9 $\mu\text{g/L}$ y límites de detección (LD) de 0.2 a 1.4 $\mu\text{g/L}$.

1. Introducción

El agua es esencial para la vida, pero la cantidad de agua disponible en la Tierra es limitada y, con el rápido avance de la industrialización y el acelerado crecimiento de las poblaciones humanas aumenta la demanda de agua de alta calidad para fines domésticos y actividades económicas, incrementando la presión sobre este valioso recurso, cuya calidad puede verse comprometida por la presencia de contaminantes como agentes infecciosos y productos químicos tóxicos.^{1,2}

El agua de consumo inocua (agua potable) es adecuada para todos los usos domésticos habituales, incluida la higiene personal, y no ocasiona ningún riesgo significativo para la salud cuando se consume durante toda una vida, teniendo en cuenta las diferentes vulnerabilidades que pueden presentar las personas en las distintas etapas de su vida.³

El acceso al agua potable ha sido reconocido por la ONU como un derecho humano fundamental; todas las personas deben disponer de un suministro suficiente, inocuo y accesible. Es por esto que en el año 2000, la ONU planteó proveer agua segura a las personas alrededor del mundo y promover el uso sostenible de los recursos como parte de los Objetivos de Desarrollo del Milenio y, más recientemente se incluyó entre los 17 objetivos de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible el objetivo número 7: Garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos.^{1,4,5}

La mejora del acceso al agua potable proporciona beneficios tangibles para la salud, por lo que debe realizarse el máximo esfuerzo para lograr que el agua de consumo sea lo más inocua posible. La gestión de la calidad de agua contribuye directa e indirectamente al cumplimiento de estos objetivos y, la verificación de la calidad del

agua de consumo proporciona información sobre el funcionamiento general del sistema de abastecimiento de agua y sobre la calidad final del agua suministrada a los consumidores.^{3,6}

Los llamados contaminantes orgánicos persistentes (COPs) es un grupo de compuestos considerado como prioritario por su alta toxicidad, persistencia y bioacumulación; este grupo incluye a los compuestos orgánicos policlorados como plaguicidas y bifenilos. A pesar de los efectos nocivos de estos compuestos la Norma Oficial Mexicana sobre agua para uso y consumo humano, NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000), solo incluye límites máximos permisibles para un grupo reducido de plaguicidas organoclorados.

Comúnmente la calidad del agua se determina comparando las características físicas y químicas de una muestra de agua con estándares o normas de calidad. Las normas y estándares de calidad para agua potable están diseñados para hacer posible el suministro de agua limpia y segura para el consumo humano. Estas están basadas usualmente en niveles de toxicidad aceptables evaluados científicamente para humanos u organismos acuáticos² y suelen indicar los límites de concentración máximos permisibles de los contaminantes así como los métodos analíticos recomendados.

Para verificar el cumplimiento de dichas normas es necesario el monitoreo continuo de la calidad del agua. Existe una amplia variedad de métodos analíticos para la extracción, determinación y cuantificación de compuestos químicos en agua; sin embargo los métodos convencionales como la extracción líquido-líquido y la extracción en fase sólida involucran el uso de grandes volúmenes de muestra o de disolventes orgánicos contradiciendo los principios de la química verde y representando un riesgo ambiental.

Actualmente, la tendencia es la búsqueda de métodos que permitan llevar a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo de muestras minimizando los residuos generados a la vez que se disminuye el tiempo de análisis y el uso de reactivos químicos, enfocándose principalmente en el tratamiento de la muestra. De entre las técnicas que han surgido siguiendo esta filosofía, la microextracción en fase sólida (SPME) es una de las más destacadas pues conjunta los pasos de extracción, preconcentración e inyección en un sólo paso, además de que puede acoplarse fácilmente a un sistema de cromatografía de gases o de líquidos.

En este trabajo se determinaron las condiciones de tiempo, temperatura y concentración de NaCl que favorecen la extracción simultánea de 21 plaguicidas organoclorados y un bifenilo policlorado, es decir la combinación de valores de estos factores en la aplicación de la SPME que generan un aumento en el área de señal cromatográfica para la mayoría de los analitos al analizarlos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Las ventajas que presenta este método son la disminución del volumen de muestra requerido, la eliminación de residuos generados en su tratamiento y la disminución del tiempo de extracción frente a los métodos tradicionalmente utilizados como la extracción líquido-líquido y la extracción en fase sólida.

2. Antecedentes

La contaminación de las fuentes de agua dulce con compuestos químicos industriales, que son liberados deliberadamente al ambiente, es uno de los problemas ambientales clave de hoy en día. Más de una tercera parte del agua dulce renovable accesible en la tierra se usa para fines agrícolas, industriales y domésticos, y la mayoría de estas actividades conducen a la contaminación de agua con diversos compuestos sintéticos.⁷

2.1. Contaminantes Orgánicos Persistentes

De entre los varios tipos de contaminantes presentes en el agua, los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) como los plaguicidas organoclorados (POCs), los bifenilos policlorados (BPCs), polibromodifenil éteres (PBDEs) y los per- y polifluoroalquilos (PFAs) y sus productos de degradación han sido los más investigados en las últimas décadas debido a su persistencia, toxicidad, distribución global, su potencial bioacumulación y su difícil disposición y manejo directo por tratamientos biológicos. Muchos COPs son mutagénicos y carcinógenos, algunos dañan los sistemas endócrino y nervioso humanos además de poner en peligro el balance ecológico.⁸⁻¹⁰

En mayo del 2004 entró en vigencia el Convenio de Estocolmo, el cual es un tratado internacional que tiene como objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente frente a los contaminantes orgánicos persistentes. En él más de 150 países, incluido México, se comprometieron a tomar medidas para eliminar o reducir la introducción de COPs al ambiente, promover prácticas y tecnologías que permitan reemplazarlos y prevenir el desarrollo de nuevos COPs. El convenio incluye una lista de compuestos químicos para la eliminación o restricción de su uso a nivel global.¹¹

Los compuestos organoclorados tales como los bifenilos policlorados y los plaguicidas clorados son conocidos por ser contaminantes orgánicos persistentes (COPs) de origen exclusivamente antropogénico.⁹

2.2. Bifenilos policlorados

Los bifenilos policlorados se producen reemplazando los átomos de hidrógeno de un bifenilo con átomos de cloro, son tóxicos, suelen ser muy estables y no se degradan fácilmente, por lo que son considerados COPs.²

Este grupo incluye algunos compuestos que se han usado como lubricantes y colorantes en equipo eléctrico, así como en otras aplicaciones industriales como pigmentos y plastificantes.¹²

2.3. Plaguicidas

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés) un plaguicida se define como cualquier sustancia o mezcla de sustancias con ingredientes químicos o biológicos destinados a repeler, destruir o controlar cualquier plaga o a regular el crecimiento de las plantas.¹³

El uso de plaguicidas es importante para la protección de las regiones agrícolas y el control de enfermedades, sin embargo, casi todos son tóxicos, estables y persistentes, lo cual daña seriamente los ecosistemas y pone en riesgo la salud humana cuando permean al agua.^{2,8}

2.3.1. Clasificación de los plaguicidas

Existen diversas maneras de clasificar los plaguicidas, algunas de las más importantes son por su toxicidad (Tabla 1), por su campo de acción (Tabla 2) y por su estructura química (Tabla 3).^{14,15}

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas por su toxicidad.

Clasificación OMS		LD ₅₀ para ratas (mg/kg peso corporal)	
		Oral	Tópica
Ia	Extremadamente peligroso	<5	<50
Ib	Altamente peligroso	5-50	50-200
II	Moderadamente peligroso	50-2000	200-2000
III	Ligeramente peligroso	>2000	>2000
U	Poco probable que presente peligro agudo	5000 o más	

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas por su campo de acción.

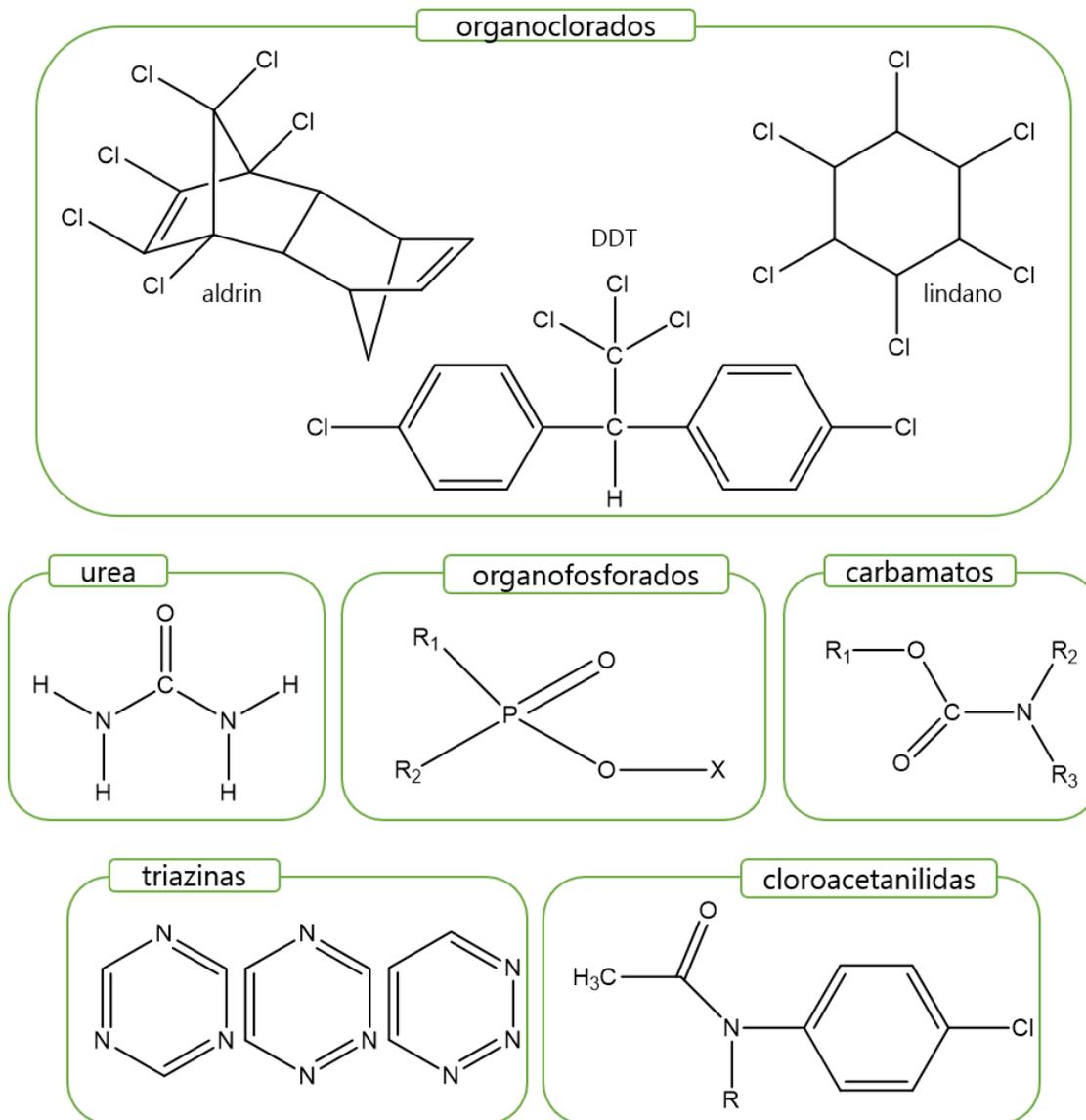
Clasificación	Organismo objetivo (uso principal)
Acaricidas	Ácaros
Aficidas	Áfidos
Bactericidas	Bacterias
Fumigantes	Plagas en edificios, transportes, campos, etc.
Fungicidas	Hongos
Herbicidas	Plantas
Insecticidas	Insectos
Ixodicidas	Garrapatas
Larvicidas	Insectos en etapa larvaria
Molusquicidas	Moluscos
Nematocidas	Nematodos
Rodenticida	Roedores

En general, la clasificación de los plaguicidas por su estructura química se divide en dos grandes grupos: plaguicidas orgánicos e inorgánicos.

Los plaguicidas inorgánicos suelen ser compuestos de azufre, cobre y otros elementos, mientras que los plaguicidas orgánicos son compuestos principalmente de carbono que usualmente contienen heteroátomos como oxígenos, azufre, fósforo, cloro y flúor. Además estos plaguicidas pueden dividirse en subcategorías basadas en sus grupos funcionales.¹⁶

Tabla 3. Clasificación de los plaguicidas orgánicos por su grupo funcional.

Clasificación	Características
Organoclorados	Análogos del DDT, hexaclorociclohexanos, y compuestos ciclodieno.
Organofosforados	Ésteres del ácido fosfórico.
Triazinas	Heterociclos análogos al benceno, en los que tres átomos de nitrógeno sustituyen a tres átomos de carbono.
Ureas y ureas sustituidas	Compuestos orgánicos con fórmula general $\text{CO}(\text{NR}_2)_2$, donde $\text{R}=\text{H}$, alquilo, arilo, etc.
Carbamatos	Compuestos orgánicos derivados del carbamato (NR_2COOR).
Cloroacetanilidas	Derivados de la anilina, donde el nitrógeno forma una amina terciaria. Su fórmula general es $\text{C}_x\text{H}_y\text{ClNO}_2$



R = H, alquilo, arilo, etc.

Figura 1. Clasificación de los plaguicidas por su estructura química.

2.3.2. Propiedades físicas importantes¹⁷⁻¹⁹

Las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas aportan información sobre su impacto en el ambiente. Para este trabajo es relevante conocer aquellas propiedades que permitan predecir su comportamiento en sistemas acuosos y elegir la técnica de preparación de la muestra y análisis instrumental.

2.3.2.1. Peso Molecular

El peso molecular (PM) de cualquier compuesto es la suma de los pesos atómicos individuales de todos los átomos que componen la molécula en cuestión. El peso molecular puede usarse como un criterio de identificación de compuestos, excepto en el caso de isómeros.

2.3.2.2. Presión de vapor

La presión de vapor (PV) es una medida de la volatilidad de una sustancia. En los plaguicidas, un alto valor de PV puede causar deriva a la atmósfera y contaminación ambiental; por el contrario, un plaguicida con baja presión de vapor no se mueve al aire, por lo que tiene potencial de acumularse en agua o en suelos. La unidad del SI para expresar la presión de vapor de cualquier compuesto es el pascal ($\text{Pa}=\text{N}/\text{m}^2$) o milipascal.

2.3.2.3. Solubilidad

La solubilidad (S) de una sustancia es una medida de la cantidad de ésta que puede estar disuelta en un volumen determinado de disolvente. Suele expresarse en unidades de masa del soluto sobre volumen de disolvente (g/L, mg/L, etc.). Es importante mencionar que la solubilidad de un compuesto puede estar influenciada por factores como la temperatura y el pH. La solubilidad de los plaguicidas en agua es un parámetro importante pues a mayor solubilidad, tenderán a acumularse en el agua y no en los suelos o la biota.

2.3.2.4. Coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow})

Es la relación medida en el equilibrio de la masa disuelta entre fases del mismo volumen de n-octanol y agua:

$$K_{ow} = \frac{\text{Concentración en } n - \text{octanol}}{\text{concentración en agua}}$$

Se trata de un parámetro adimensional que permite predecir otras propiedades de los plaguicidas y otros compuestos orgánicos con pesos moleculares menores a 500. Los valores de K_{ow} para muchos compuestos orgánicos suelen ser muy grandes, por lo que también es comúnmente expresado el $\log K_{ow}$ (logaritmo base 10 de K_{ow}).

El K_{ow} se considera un buen indicador de la bioacumulación de los plaguicidas en los organismos y dentro de la cadena alimentaria. Los plaguicidas con valores positivos de $\log K_{ow}$ tienen mayor probabilidad de tener efectos de bioacumulación.

Los valores de K_{ow} están generalmente influenciados por la polaridad del compuesto y sus propiedades físicas generales. Los plaguicidas polares tienden a ser más solubles en agua y por lo tanto tienen menores valores de K_{ow} . Además, el K_{ow} suele mayor a mayores valores de densidad, peso molecular, volumen molar, y área de superficie molecular.

2.3.2.5. Coeficiente de adsorción suelo/agua (K_{oc})

Muchos plaguicidas son no polares e hidrófobos y por lo tanto, poco solubles en agua. Este tipo de contaminantes tiende a adsorberse en los suelos y sedimentos que contienen grandes cantidades de materia orgánica no polar. El coeficiente de adsorción suelo/agua, también llamado coeficiente de adsorción de carbono orgánico, es una medida de la tendencia del compuesto a ser retenido en estos sistemas:

$$K_d = \frac{\text{Concentración en suelo}}{\text{concentración en agua}}$$

$$K_{oc} = \frac{K_d \times 100}{\% \text{ carbono orgánico}}$$

El K_{oc} es un parámetro adimensional y su valor depende del contenido de materia orgánica en el suelo, de su pH y de la polaridad del plaguicida.

2.3.2.6. Constante de Henry

La constante de Henry es una medida de la concentración de un compuesto en el aire sobre su concentración en el agua. Expresa la tendencia del compuesto a volatilizarse de disolución acuosa al aire. En ocasiones se mide, sin embargo usualmente es calculado como se muestra a continuación.

$$H = \frac{16.04 \times PV \times PM}{T \times S}$$

Donde PV = presión de vapor (en pascales)

PM = peso molecular

T = temperatura

S = Solubilidad

Un plaguicida con un alto valor de H se volatiliza más fácilmente del agua al aire y puede distribuirse en áreas grandes. Inversamente, un plaguicida con una constante de Henry pequeña tenderá a persistir en el agua y puede o no ser adsorbido al suelo o sedimentos.

2.4. Plaguicidas Organoclorados

Los plaguicidas organoclorados fueron los primeros plaguicidas orgánicos sintéticos, ampliamente utilizados, especialmente en el siglo XX, en los ámbitos de la agricultura y la salud pública para el control de plagas y enfermedades; pero debido a su toxicidad y persistencia comenzaron a ser prohibidos en los países desarrollados en la década de los 70. Los plaguicidas que alguna vez fueron de uso común incluyen el diclorodifeniltricloroetano (DDT), oxiclordano, dieldrín, hexaclorobenceno (BHC), hexaclorociclohexanos, heptacloro, entre otros.¹²

Muchos POCs se encuentran prohibidos por el Convenio de Estocolmo, (Tabla 4), sin embargo algunos de ellos aún tienen usos restringidos, por ejemplo el DDT en el control de la malaria. Debido a estos usos específicos, algunos de estos plaguicidas se encuentran disponibles en el mercado facilitando su uso ilegal.^{10,12}

Tabla 4. Plaguicidas organoclorados listados en el Convenio de Estocolmo.

	Uso	Recomendación
Aldrin	Ectoparacitida local, insecticida	Eliminación
alfa-HCH		Eliminación
beta-HCH		Eliminación
gama-HCH (Lindano)	Tratamiento de reserva para el control de sarna y pediculosis	Eliminación
beta-clordano	Ectoparacitida, insecticida, termiticida	Eliminación
dieldrin		Eliminación
endrin		Eliminación
heptacloro	Termiticida	Eliminación
DDT	Insecticida	Restricción. Finalidad aceptable: uso en la lucha contra los vectores de enfermedades (malaria)

2.4.1. Características

Los plaguicidas organoclorados son compuestos orgánicos que contienen en su estructura al menos cinco átomos de cloro enlazados covalentemente, la mayoría de estos compuestos presenta actividad biológica por lo que han sido utilizados como plaguicidas y muchos de ellos son considerados COPs.²

En este trabajo se analizaron 21 plaguicidas organoclorados, sus diferentes formas de identificación, clasificación por toxicidad y características relevantes se presentan en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Clasificación por uso y toxicidad de algunos plaguicidas organoclorados.

analito (nombres comunes)	uso	WHO Toxicidad
Tetracloroxileno, 2,4,5,6-tetracloro-m-xileno, 2,4,5,6-tetracloro-1,3-dimethylbenzene	SD	SD
DDD, 4,4'-DDD	insecticida, metabolito del DDT	O
DDE, 4,4'-DDE	metabolito del DDT	SD
DDT, 4,4' DDT	insecticida	II
Aldrin	insecticida	O
alfa-HCH, alfa-hexaclorociclohexano	insecticida	II
beta-HCH, beta-hexaclorociclohexano	SD	II
delta-HCH, delta-hexaclorociclohexano	SD	II
gama-HCH, Lindano	insecticida	II
alfa-clordano, cis-clordano	insecticida	II
gama-clordano, trans-clordano	insecticida	II
dieldrin	insecticida, metabolito del aldrin	SD
endosulfán I, alfa-endosulfán	insecticida	II
endosulfán II, beta-endosulfán	insecticida, acaricida	II
sulfato de endosulfán	metabolito del endosulfán	SD
endrin	insecticida, rodenticida	SD
aldehído de endrin	SD	SD
cetona de endrin	SD	SD
heptacloro	insecticida	O
epóxido de heptacloro	metabolito del heptacloro	III
metoxicloro	insecticida	U

II (moderadamente peligroso), III (ligeramente peligroso), U (poco probable que presente peligro agudo), O (considerado obsoleto por prohibición o restricción de uso), SD (sin dato).

Fuente: The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification

Tabla 6. Propiedades físicas relevantes de los plaguicidas organoclorados.

Número CAS	analito (nombres comunes)	Fórmula Molecular	PM	S (mg/L)	log Pow	PV (mPa)	H (Pa·m ³ /mol)	K _{oc}
877-09-8	Tetracloroxileno, 2,4,5,6-tetracloro-m-xileno, 2,4,5,6-tetracloro-1,3-dimethylbenzene	C ₈ H ₆ Cl ₄	243.948	SD	SD	SD	SD	SD
72-54-8	DDD, 4,4'-DDD	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	320.045	0.09	6.02	0.18	0.000004	131000
72-55-9	DDE, 4,4'-DDE	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	318.03	0.12	6.51	SD	SD	SD
50-29-3	DDT, 4,4'DDT	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	354.49	0.025	6.91	SD	SD	151000
309-00-2	Aldrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	364.914	0.027	6.5	8.6	17.2	17500
319-84-6	alfa-HCH, alfa-hexaclorociclohexano	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.832	2	3.82	5.99	SD	1888

Número CAS	analito (nombres comunes)	Fórmula Molecular	PM	S (mg/L)	log P _{ow}	PV (mPa)	H (Pa·m ³ /mol)	K _{oc}
319-85-7	beta-HCH, beta-hexaclorociclohexano	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.832	SD	SD	SD	SD	SD
319-86-8	delta-HCH, delta-hexaclorociclohexano	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.832	SD	SD	SD	SD	SD
58-89-9	gama-HCH, Lindano	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.832	8.52	3.5	4.4	1.48E-06	1270
5103-71-9	alfa-clordano, cis-clordano	C ₁₀ H ₆ Cl ₈	409.782	0.1	2.78	1.3	0.00039	20000
5103-74-2	gama-clordano, trans-clordano	C ₁₀ H ₆ Cl ₈	409.782	0.1	2.78	1.3	0.00039	20000
60-57-1	dieldrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	380.913	0.14	3.7	0.024	0.065	12000

Continuación Tabla 6.

Número CAS	analito (nombres comunes)	Fórmula Molecular	PM	S (mg/L)	log P _{OW}	PV (mPa)	H (Pa·m ³ /mol)	K _{oc}
959-98-8	endosulfán I, alfa-endosulfán	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.929	0.32	4.74	8.3	1.48	11500
33213-65-9	endosulfán II, beta-endosulfán	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.929	0.45	3.83	SD	SD	SD
1031-07-8	sulfato de endosulfán	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	422.928	0.48	3.66	SD	SD	5194
72-20-8	endrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	380.913	0.24	3.2	2E-07	0.148	10000
7421-93-4	aldehído de endrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	380.913	SD	SD	SD	SD	SD
53494-70-5	cetona de endrin	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	380.913	SD	SD	SD	SD	SD
76-44-8	heptacloro	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	373.321	0.056	5.44	53	353	24000
1024-57-3	epóxido de heptacloro	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O	389.32	0.2	4.98	SD	SD	22485
72-43-5	metoxicloro	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂	345.653	0.1	5.83	0.08	0.02	80000

Fuente: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire. Disponible en <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>

SD (sin dato)

Continuación Tabla 6.

2.4.2. Normatividad

Idealmente, un control eficaz de la calidad del agua de consumo se apoya en la existencia y aplicación de leyes, normas y códigos adecuados.³

En México la norma que determina el contenido máximo permisible de plaguicidas organoclorados en agua potable es la modificación a la norma NOM-127-SSA1-1994 Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

En la Tabla 7 se presentan los límites máximos permisibles de concentración de plaguicidas establecidos en dicha norma y se contrastan con los establecidos en Estados Unidos por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y en la Guía para la calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS).²⁰⁻²²

Por su parte, la Unión Europea establece 0.1 µg/L como la concentración individual máxima permisible para cualquier plaguicida o sus metabolitos y máximo 0.5 µg/L de concentración total de plaguicidas.

Tabla 7. Límites máximos permisibles de plaguicidas en agua de consumo establecidos en México, EUA y por la OMS.

	Número de registro CAS	NOM	EPA	OMS
		µg/L		
Aldrin	309-00-2	0.03 ^a	-	0.03 ^a
Dieldrin	60-57-1		-	
α-clordano	5103-71-9	0.20 ^b	2.00 ^b	0.20 ^b
γ-clordano	510-74-2			
DDT	50-29-3	1.00 ^b	-	1.00 ^c
Lindano	58-89-9	2.00	0.20	2.00
Hexaclorobenceno	118-74-1	1.00	1.00	-
Heptacloro	76-44-8	0.03 ^d	0.40	-
Epóxido de heptacloro	1024-57-3		0.20	-
Metoxicloro	72-43-5	20.00	40.00	20.00
2,4-D	94-75-7	30.00	70.00	30.00
Endrin	72-20-8	-	2.00	0.60

^a separados o combinados, ^b total de isómeros, ^c DDT y sus anabolitos, ^d combinados.

La NOM-127-SSA1-1994 (modificación 2000) no indica ningún método de análisis para estos contaminantes, sin embargo, en la NMX-AA-071-SCFI-2018 se sugieren dos métodos de extracción para la cuantificación de plaguicidas organoclorados en

matrices acuosas: extracción líquido-líquido (ELL) o extracción en fase sólida (SPE) seguidas del análisis instrumental por cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas o a un detector de captura de electrones.

2.5. Métodos analíticos para la determinación de Plaguicidas Organoclorados

Las etapas generales que constituyen un proceso analítico son: muestreo, pretratamiento de la muestra, tratamiento de la muestra y análisis (Figura 2).

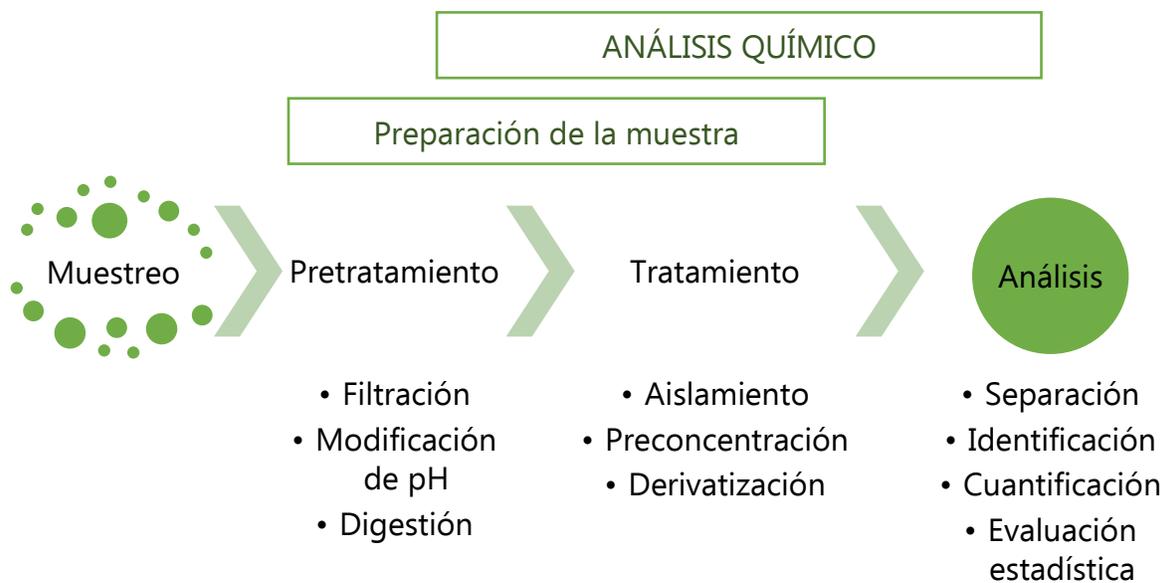


Figura 2. Pasos del proceso analítico general.

Debido a que los pasos del proceso analítico son secuenciales, la velocidad global del proceso se encuentra determinada por el paso más lento, comúnmente la preparación de la muestra, que es el primer paso en un método de análisis químico y que usualmente se centra en el aislamiento de los analitos y la eliminación de las

interferencias de la matriz, lo que la hace adecuada para el posterior análisis instrumental.^{23,24}

2.5.1. Técnicas de extracción y preconcentración

Es indispensable para el análisis de contaminantes orgánicos en agua obtener una fracción de la muestra con una concentración detectable de los analitos. Por lo que una parte fundamental del tratamiento de la muestra es la separación de los analitos de la matriz. Los métodos de separación se pueden dividir en dos grandes categorías: métodos de concentración, en los que el agua es removida del sistema dejando atrás las sustancias disueltas y, los métodos de aislamiento, en los que las sustancias disueltas son extraídas del agua. Los métodos de aislamiento o extracción de los analitos son los más utilizados en el análisis de compuestos orgánicos en agua. Además, para mejorar la sensibilidad de detección es deseable la preconcentración de los compuestos de interés durante el proceso de extracción.^{25,26}

Existe una variedad de métodos de preparación de muestra disponibles para la extracción y preconcentración de contaminantes en agua; la extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE) son empleadas con frecuencia. Sin embargo, estas técnicas suelen ser laboriosas, lentas, susceptibles a errores y/o generan una gran cantidad de residuos, pues requieren de volúmenes grandes de disolventes orgánicos para su ejecución, es por eso que este paso se considera el más potencialmente contaminante.^{27,28}

Las técnicas modernas de preparación de muestras buscan la miniaturización de los sistemas, el ahorro de tiempo y de recursos, cumpliendo así con los principios de la química analítica verde. Estas técnicas generalmente requieren de cantidades mucho más pequeñas de disolventes o prescinden de ellos. Algunos ejemplos son la

extracción por sorción con barra de agitación (SBSE), microextracción en gota (SDME), microextracción en fase líquida (LPME), microextracción-emulsificación asistida por ultrasonido (USAEME) y la microextracción en fase sólida (SPME).^{28,29}

2.5.2. Métodos de análisis de plaguicidas

Tanto la cromatografía de líquidos (LC) como la cromatografía de gases (GC) se han empleado para la separación de plaguicidas. En el caso de los POCs la cromatografía de gases resulta adecuada ya que este tipo de plaguicidas son, en general, volátiles y termoestables.

La detección de plaguicidas puede llevarse a cabo con alta sensibilidad mediante un detector de captura de electrones. Sin embargo, con el uso de esta técnica la identificación inequívoca de los analitos no es posible; mientras que la espectrometría de masas (MS) mejora la identificación y resolución, por lo que es una de las técnicas más recurrentes en publicaciones sobre la determinación analítica de plaguicidas en diversos tipos de matrices.^{30,31}

2.5.2.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

La GC es una técnica de separación en la que los componentes de una muestra son acarreados por un gas inerte (fase móvil) a lo largo de una columna capilar (fase estacionaria) donde se produce la separación basada en la capacidad de los componentes de distribuirse entre ambas fases. La GC consta de tres partes: inyección, separación y detección.

En un instrumento de GC-MS el cromatógrafo de gases está conectado a un espectrómetro de masas mediante una línea de transferencia de alta temperatura.

La muestra es introducida y vaporizada en el inyector del cromatógrafo, separada en la columna y finalmente el efluente es transferido directamente a la cámara de ionización del espectrómetro de masas eliminando la mayor parte del gas acarreador, ahí las moléculas (gas acarreador remanente, disolventes y analitos) se ionizan y los iones se separan de acuerdo a su relación masa/carga (m/z).

Cada compuesto presenta una fragmentación en iones característica, por lo que el espectro de masas obtenido provee información cualitativa que puede ser usada en la identificación del analito. Además el método se vuelve selectivo al monitorear relaciones m/z específicas, a este proceso se le conoce como monitoreo selectivo de iones (SIM). La corriente total de iones respecto al tiempo se usa para obtener el cromatograma correspondiente.³²

2.6. Microextracción en Fase Sólida (SPME)^{33,34,43,35-42}

La microextracción en fase sólida (SPME), originalmente desarrollada en 1990 por Arthur y Pawliszyn, es una técnica de preparación de muestras simple, rápida, sensible y libre de disolventes, en la que los analitos contenidos en la matriz se extraen sobre una fase polimérica adsorbente (fase extractante) que recubre una fibra de sílice (Figura 3), combinando la extracción, preconcentración y limpieza de la muestra en un solo paso; en algunos casos es posible también incluir el muestreo y la derivatización.⁴³ La SPME se puede aplicar a muestras gaseosas y sólidas, pero es más comúnmente utilizada en el tratamiento de muestras acuosas.

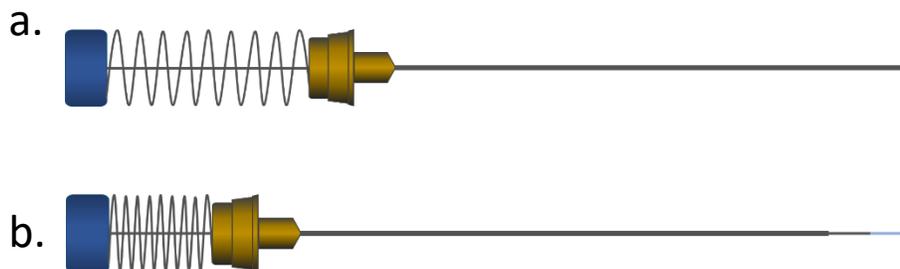


Figura 3. Esquema de una fase comercial de SPME, a) protegida y b) fase extractante expuesta.

En el enfoque tradicional de la SPME, el transporte de los analitos de la matriz a la fase extractante comienza tan pronto como esta es expuesta a la muestra, sin embargo el objetivo de la SPME nunca es la extracción exhaustiva. Existen dos posibles aproximaciones a emplear con esta técnica.

En una primera aproximación se busca un equilibrio de reparto entre la matriz de la muestra y la fase extractante a una temperatura determinada, en este caso las condiciones de agitación no afectan la cantidad final extraída. En la práctica, esto quiere decir que una vez alcanzado el equilibrio la cantidad extraída es constante dentro de los límites del error experimental e independiente del incremento del tiempo de extracción.

Una segunda aproximación es la extracción pre-equilibrio de corto tiempo, donde si la temperatura y agitación son constantes, la cantidad de analito extraído es proporcional al tiempo de extracción; por lo que la cuantificación de los analitos puede realizarse en función de la acumulación cronometrada de analitos en la fase.

2.6.1. Metodología de la SPME

En un primer paso, la fase extractante se expone a la muestra y los analitos con alta afinidad a esta fase son extraídos selectivamente. Posteriormente, la totalidad de lo extraído se desorbe en el inyector de un cromatógrafo para su análisis. Normalmente no se implementa ningún paso de limpieza intermedio.

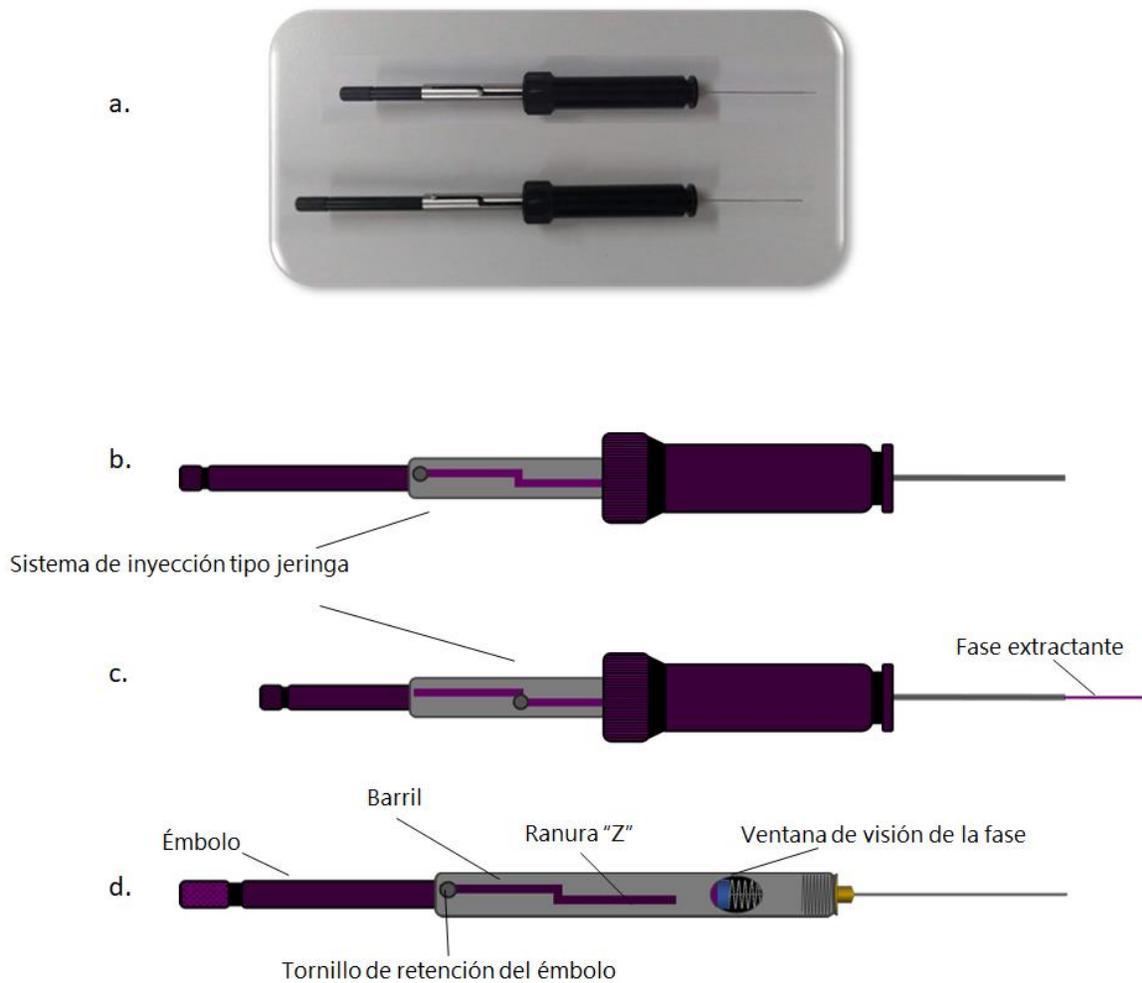


Figura 4. a) Dispositivo SPME comercial, b) esquema del dispositivo manual para SPME, c) esquema del dispositivo manual de SPME al exponer la fase extractante, c) Componentes principales del dispositivo SPME.

La extracción selectiva de los analitos por SPME simplifica la preparación de la muestra y generalmente conduce a ahorros significativos de tiempo y mejora la precisión de la detección. Además, debido a la configuración del dispositivo SPME (Figura 4) normalmente no hay interferentes o compuestos no deseados al momento de la desorción.

2.6.1.1. Inmersión directa (DI)

En el método de SPME por inmersión directa la fase extractante se introduce en la muestra, líquida o gaseosa, y los analitos son transportados directamente de la matriz a la fase extractante (Figura 5). En muestras gaseosas la convección natural del aire es suficiente para facilitar el equilibrio, en muestras acuosas se requiere agitación para favorecer la extracción, reduciendo el efecto causado por la "zona de agotamiento" generada cerca de la fase de extracción.

En la SPME por inmersión directa las condiciones de equilibrio pueden describirse como sigue:

$$n = \frac{K_{fs}V_fV_sC_o}{K_{fs}V_f + V_s}$$

Donde, n = número de moles extraídos por la fase extractante

K_{fs} = coeficiente de distribución fase/matriz

V_f = volumen de la fase

V_s = volumen de la muestra

C_o = concentración inicial del analito en la muestra

La K_{fs} depende de la composición química de la fase extractante, es similar al coeficiente de distribución octanol-agua (K_{ow}) y se expresa como:

$$K_{fs} = \frac{C_f}{C_s}$$

Donde, C_f = concentración al equilibrio en la fase extractante

C_s = concentración al equilibrio en la matriz de la muestra

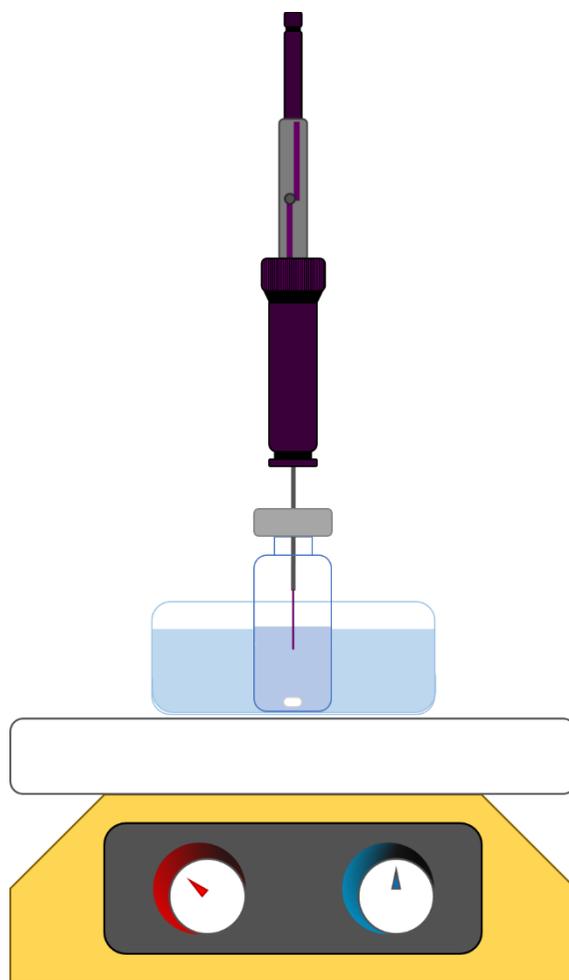


Figura 5. Sistema para SPME por inmersión directa

2.6.1.2. Head-Space (HS)

En la HS-SPME la fase extractante se expone a la fase vapor del sistema o *head-space* para la extracción de analitos volátiles y semivolátiles (Figura 6). Esta modificación obedece principalmente a la protección de la fase del daño por masas moleculares altas y otras interferencias no volátiles presentes en la matriz, sobre todo cuando el pretratamiento de la muestra modifica considerablemente la matriz.

En un sistema de este tipo la ecuación que describe el equilibrio debe considerar la presencia de una tercera fase (la fase vapor o *head-space*). El número de moles de analito extraído al equilibrio puede calcularse con la siguiente ecuación:

$$n = \frac{K_{fs}V_fV_sC_o}{K_{fs}V_f + K_{hs}V_h + V_s}$$

Donde K_{hs} es el coeficiente de distribución entre el *head-space* y la matriz de la muestra y V_h es el volumen del *head-space*.

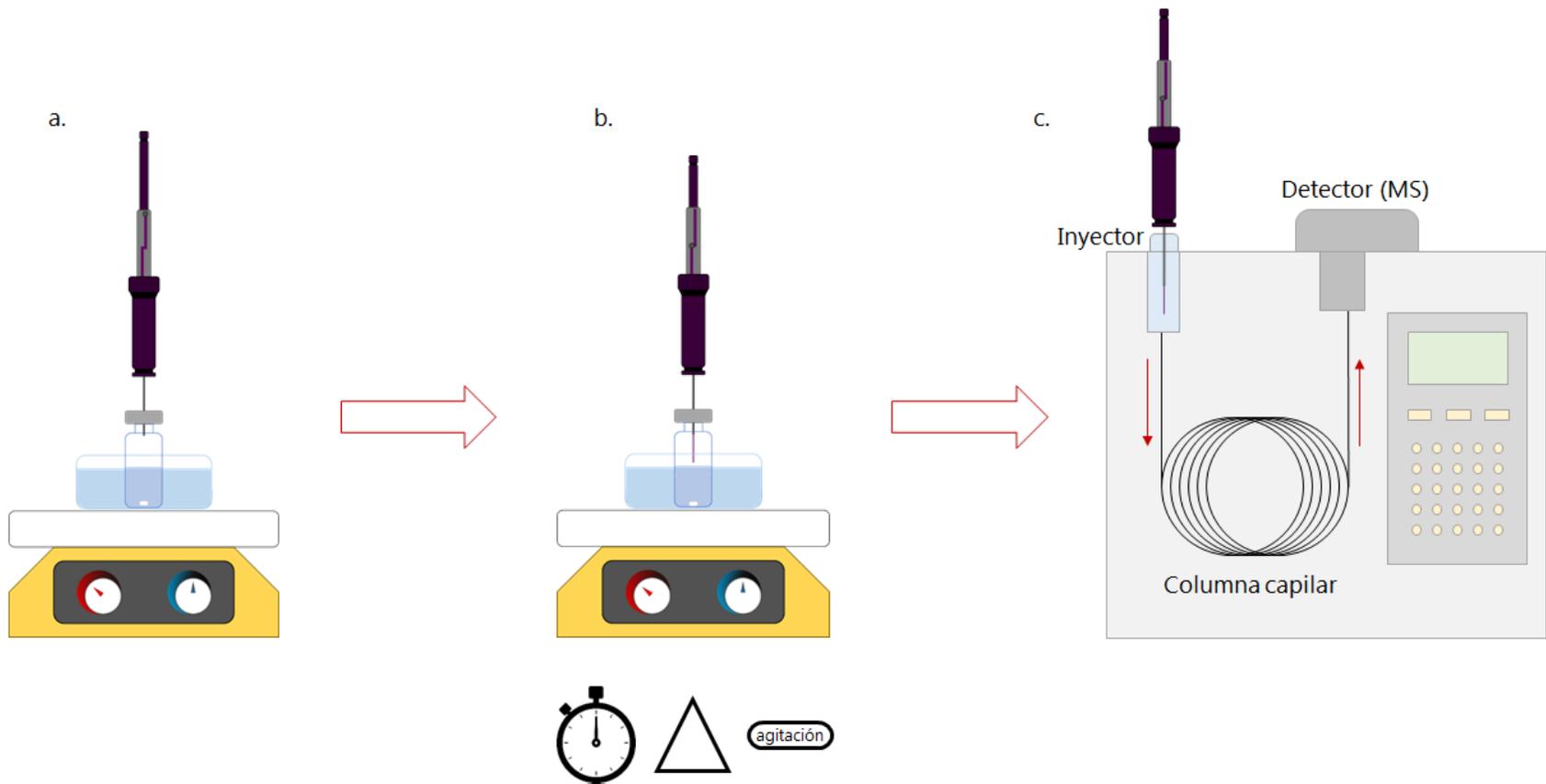


Figura 6. Metodología de SPME por head-space, a) sistema para SPME por head-space, b) exposición de la fase para la extracción de los analitos, c) inyección al cromatógrafo de gases

Cuando la fase está en HS, los analitos se remueven primero del espacio de cabeza, seguidos de la extracción indirecta de la matriz; la cantidad total extraída está típicamente limitada por las tasas de transferencia de masa de la muestra al *head-space*. Por lo tanto, los analitos volátiles se extraen más rápido que los semivolátiles; de hecho, los tiempos de equilibrio de analitos volátiles son más cortos por HS que por DI, bajo condiciones similares de agitación.

Debido a que la concentración de compuestos semivolátiles en la fase vapor a temperatura ambiente es comúnmente baja, la velocidad de extracción es sustancialmente menor y conduce a tiempos de extracción mayores. Sin embargo, el tiempo de extracción puede ser disminuido usando un sistema de agitación eficiente o incrementando la temperatura de extracción.

2.6.2. Parámetros que afectan la SPME

Algunos de los factores experimentales de los que depende la SPME son: el recubrimiento polimérico de la fase de extracción, el tipo de extracción, la temperatura y tiempo de extracción, la fuerza iónica de la disolución, el pH y tipo de agitación. Estos parámetros deben optimizarse o controlarse en aras de mejorar la selectividad y sensibilidad de la técnica.

El diseño de experimentos (DDE) es una herramienta que permite la evaluación y optimización simultánea de varios factores con un número reducido de experimentos. En este trabajo se aplica el DDE en la comparación de tres fases extractantes, así como en la obtención de los valores óptimos de NaCl añadido, tiempo y temperatura de extracción para la extracción por HS-SPME de una mezcla de 21 plaguicidas organoclorados y un bifenilo policlorado.

2.6.2.1. Fase extractante

La selección de la fase extractante es la primera etapa en la optimización de un método de SPME; ya que, como se vio en la sección 2.6, la cantidad de analitos extraídos es dependiente del coeficiente de distribución fase/matriz (K_{fs}). El empleo de una fase con un alto valor de K_{fs} para los analitos seleccionados puede mejorar significativamente la sensibilidad del método; la selectividad de la fase respecto a los analitos está determinada por el principio de polaridad.

El grosor de la fase también influye en la sensibilidad del método y el tiempo de extracción; a mayor volumen del recubrimiento la masa extraída será mayor, incrementando la sensibilidad pero con tiempos de equilibrio más prolongados.

Actualmente se encuentra disponible comercialmente una amplia variedad de fases de diferentes composiciones y grosores (Tabla 8).

1.1.1.1. Temperatura de extracción

La temperatura de extracción es otro factor con un impacto importante en la sensibilidad del método, pues el valor del coeficiente de distribución K_{fs} varía con la temperatura.

Generalmente, aumentar la temperatura favorece la difusión de los analitos, logrando un equilibrio más rápido. En el caso específico de la HS-SPME, el incremento de la temperatura conduce a un incremento de la concentración de los analitos en el *head-space* y permite disminuir los tiempos de extracción.

No obstante, puesto que la desorción de la fase extractante es un proceso endotérmico, el incremento de la temperatura del sistema tiene un efecto adverso

sobre el K_{fs} , llegando a disminuir la sensibilidad del método para los analitos más volátiles.

Tabla 8. Algunas fases de SPME comerciales.

Fase	Polaridad	Espesor (μm)
PDMS		100
(polidimetilsiloxano)	no polar	30
		7
PDMS/DVB		65
(polidimetilsiloxano-divinilbenceno)	bipolar	60
PA		85
(poliacrilato)	polar	85
CAR/PDMS		75
(carboxen-polidimetilsiloxano)	bipolar	85
CW/DVB		65
(carbowax-divinilbenceno)	polar	70
DVB/PDMS/CAR		50/30
(divinilbenceno-polidimetilsiloxano-carboxen)	bipolar	

1.1.1.2. Tiempo de extracción

Al desarrollar un método analítico por SPME es importante definir un tiempo de extracción. Este tiempo puede ser el mínimo necesario para llegar a las condiciones de equilibrio, sin embargo en el caso de los analitos con tiempos de equilibrio muy prolongados se prefiere trabajar con extracciones en el pre-equilibrio, donde el

control estricto del tiempo de extracción se vuelve fundamental ya que en estas condiciones incluso pequeñas variaciones del tiempo de extracción pueden afectar considerablemente la cantidad de analito extraída (Figura 7).

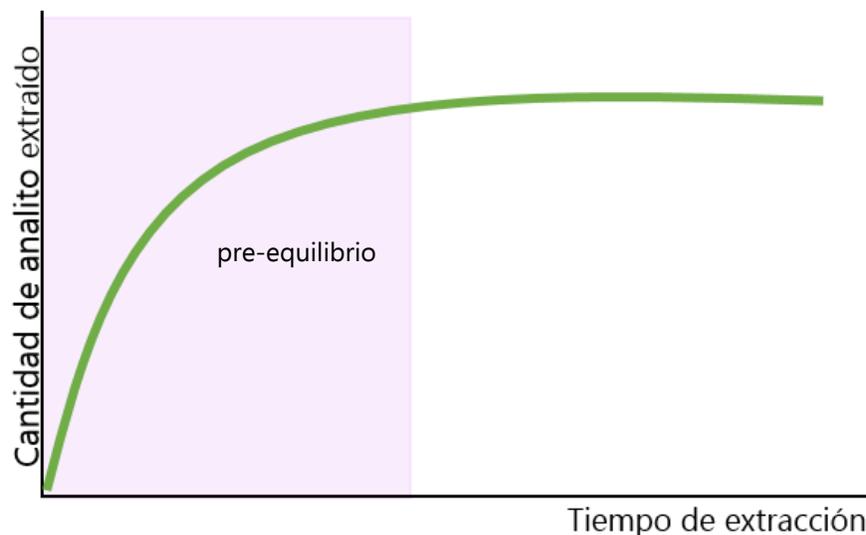


Figura 7. Efecto del tiempo de extracción en la cantidad de analito extraída

1.1.1.3. Adición de una sal inerte

La presencia de sales inertes (generalmente NaCl) en la muestra aumenta la K_{fs} de aquellos analitos que están presentes en forma no ionizada logrando aumentar la cantidad de analito extraída. Por el contrario, la adición de sal puede disminuir la sensibilidad del método si los analitos se encuentran ionizados. Esto se debe a que al aumentar la fuerza iónica de la disolución, aumenta el coeficiente de actividad de las especies iónicas.

2.6.3. SPME frente a las técnicas clásicas de extracción

Hasta la actualidad las normas internacionales recomiendan el uso de técnicas clásicas de extracción en el tratamiento de muestras para la determinación cualitativa y cuantitativa de plaguicidas organoclorados en matrices acuosas. La norma

internacional ISO 6468 sobre calidad de agua, así como el método 8081B de la EPA (USA) recomiendan la extracción líquido-líquido de los analitos; mientras que en México la NMX-AA-071-SCFI-2018 describe el procedimiento de tratamiento de muestras acuosas por extracción líquido-líquido (LLE) o por extracción en fase sólida (SPE).⁴⁴

Sin embargo la LLE y la SPE tienen algunas desventajas pues implican el uso de cantidades significativas de disolvente, requieren grandes volúmenes de muestra y al ser métodos exhaustivos involucran largos tiempos de preparación e incrementan los costos del análisis. En la figura 8 se comparan los procedimientos generales de extracción por LLE, SPE y SPME:

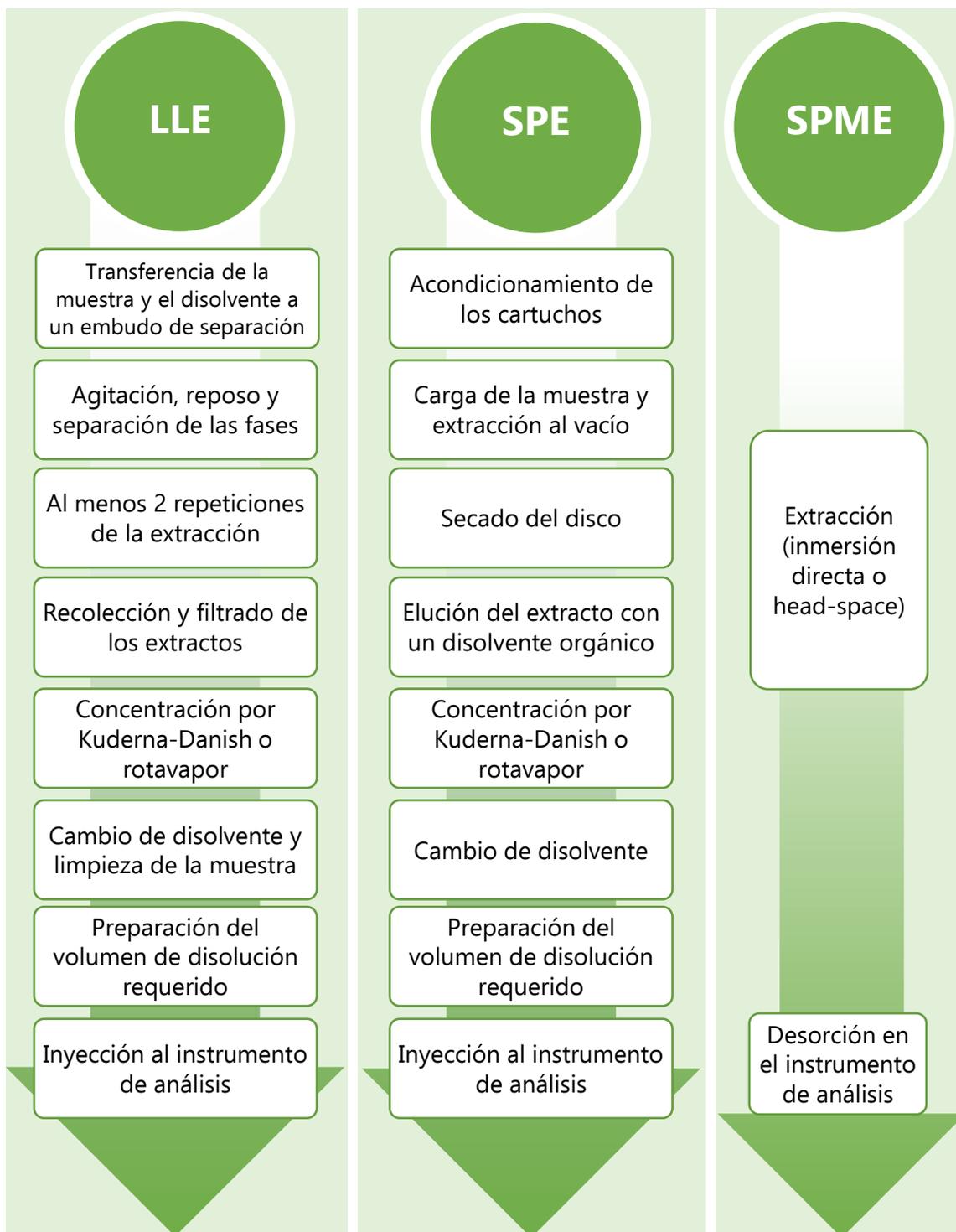


Figura 8. Resumen comparativo de la extracción de plaguicidas organoclorados por extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida.

Fuente: NMX-AA-071-SCFI-2018

El análisis rutinario de contaminantes en agua requiere el desarrollo de métodos de preparación e inyección de muestras de alta eficiencia menos tediosos y más ecológicos. La mayor dificultad en el desarrollo de nuevos métodos de alta eficiencia es el acoplamiento a los equipos de separación y detección.

SPME se desarrolló como una alternativa a los métodos tradicionales de extracción cubriendo la necesidad de un método rápido y fácilmente adaptable a los equipos de análisis instrumental que además armoniza con los principios de la química analítica verde. Algunas de sus principales ventajas frente a la LLE y la SPE son: minimiza o elimina el consumo de disolventes orgánicos, requiere de pequeños volúmenes de muestra, acorta el tiempo de preparación de muestra, simplifica la introducción de la muestra en el equipo de análisis instrumental, presenta la posibilidad de automatización y aplicación in-situ del método.^{45,46}

En la tabla siguiente se presenta una comparación de los tres métodos mencionados en esta sección para el tratamiento de muestras acuosas.

Tabla 9. Características principales de LLE, SPE y SPME

Características	LLE	SPE	SPME
Tipo de extracción	Exhaustiva con aplicaciones repetitivas	Exhaustiva	Principalmente no exhaustiva
Cuantificación	Métodos de calibración estándares ¹	Métodos de calibración estándares	Métodos de calibración estándar y métodos alternativos
Volumen de muestra aplicable	Mililitros a litros	Mililitros a litros (dependiente del volumen de rompimiento)	Microlitros a volúmenes ilimitadamente grandes (aplicaciones in-situ e in-vivo)
Aplicabilidad a matrices complejas	Todo tipo de matrices complejas	Limitada a líquidos que pueden ser filtrados o centrifugados	Todo tipo de matrices complejas
Capacidad de limpieza de la muestra	Pobre	Buena	Muy buena
Sensibilidad	Buena con factores de preconcentración elevados	Buena, limitada por el volumen de ruptura de los compuestos	Buena, para muestras pequeñas puede estar limitada por el volumen de la fase de extracción

Continuación Tabla 9.

Consumo de disolventes	Alto, grandes volúmenes de disolventes	Relativamente bajo	Innecesario o muy bajo
Volumen de la fase extractante	Grande	Grande	Pequeño
Selectividad de la fase de extracción	Pobre	Buena	Buena
Posible pretratamiento de la muestra	Principalmente ajuste de pH	Ajuste de pH, filtración y centrifugación para matrices complejas	Principalmente ajuste de pH
Aplicación in-situ/in-vivo	No aplicable	Raramente aplicable in-situ	Aplicable in-situ e in-vivo
Automatización	Pobre	Parcialmente, no común	Aplicable y bien documentada
Análisis de alto rendimiento	Pobre	Limitado a muestras de matriz simple	Bueno
Costo	Caro	Caro	Razonable ²
Optimización del método	Simple	Relativamente simple	Relativamente complicada

¹ Métodos de calibración estándares: calibración externa, calibración por estándar interno y calibración por adición estándar.

² Considerando el número de análisis que pueden realizarse usando un mismo dispositivo

Fuente (Boyaci E. et al., 2015)

2.7. Optimización y validación de métodos

En diseño y análisis de experimentos, la optimización se refiere a una técnica matemática que sirve para extraer información sobre el punto óptimo del modelo. Se define como punto óptimo la mejor combinación de valores de los factores estudiados considerando la región de operabilidad del método.

En ocasiones se requiere considerar más de una variable de respuesta del método para su optimización, sin embargo, la optimización simultánea presenta el problema de que los óptimos individuales para cada respuesta no son los mismos. Esto hace necesaria la búsqueda de un óptimo simultáneo, en el que todas las respuestas de interés logren un valor aceptable.⁴⁷

Una estrategia experimental de análisis que permite encontrar las condiciones óptimas de operación de un método es la metodología de superficie de respuesta (MSR).

Una vez que los parámetros seleccionados del método analítico han sido optimizados debe evaluarse el desempeño del método, esto puede realizarse mediante un proceso de verificación o de validación.

La verificación se define como la aportación de evidencia objetiva de que el método satisface los requisitos especificados. En una verificación el analista diseña una serie de pruebas de las que obtiene datos experimentales, considerados la evidencia objetiva, y a partir de ellos se calculan los parámetros de desempeño.⁴⁸ Algunos parámetros de desempeño típicos son: selectividad, sensibilidad, intervalo lineal, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC) y precisión.

La verificación de un método puede llevarse a un siguiente nivel, si se aporta evidencia de que los requisitos especificados son además adecuados para un uso específico y previsto; a esto se le conoce como validación.⁴⁹

Las actividades de verificación y validación de métodos están estrechamente relacionadas con el desarrollo del método, ya que muchas de las características que se evalúan en una validación, también lo son en mayor o menor medida, durante el desarrollo del método.⁵⁰

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Optimizar la microextracción en fase sólida (SPME) para la extracción de 21 plaguicidas organoclorados y 1 bifenilo policlorado en muestras acuosas mediante una metodología de superficie de respuestas (MSR).

3.2. Objetivos particulares

- Comparar la respuesta (área de señal cromatográfica) de tres fases extractantes distintas (PDMS, PDMS-DVB y DVB-CAR-PDMS) y determinar cuál es la mejor para el tratamiento de las muestras por SPME.
- Determinar el punto óptimo de los factores: tiempo de extracción, temperatura de extracción y porcentaje de NaCl añadido para la extracción de los plaguicidas y el bifenilo policlorado por SPME.
- Evaluar el desempeño del método de SPME seguido de GC-MS para la cuantificación de 22 analitos organoclorados.

4. Hipótesis

La microextracción en fase sólida seguida de análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) permitirá la extracción y determinación simultánea de 21 plaguicidas organoclorados y 1 bifenilo policlorado a nivel de trazas en muestras acuosas.

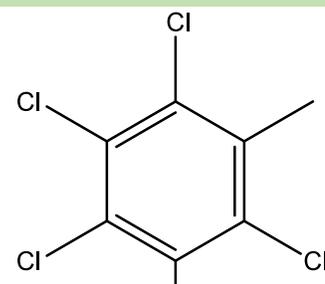
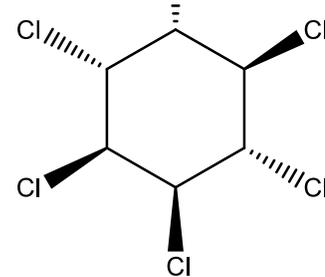
5. Metodología

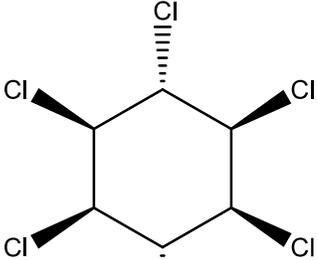
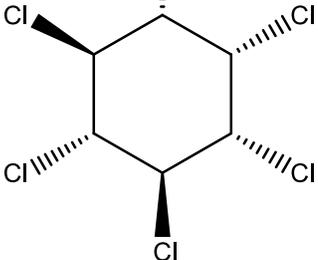
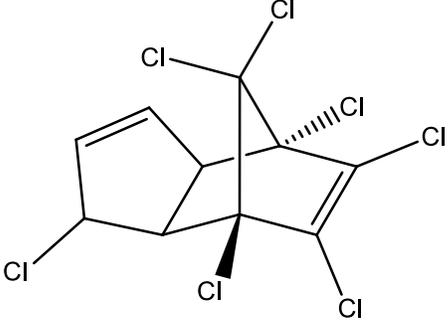
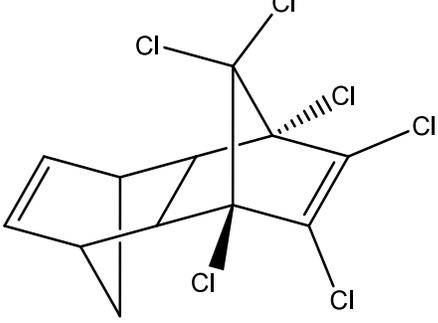
5.1. Materiales y Equipos

5.1.1. Reactivos

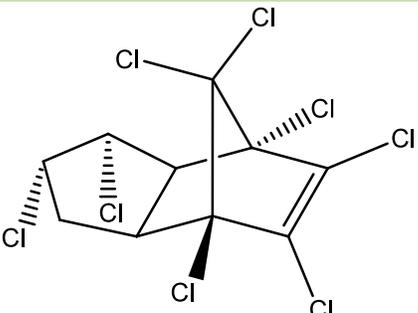
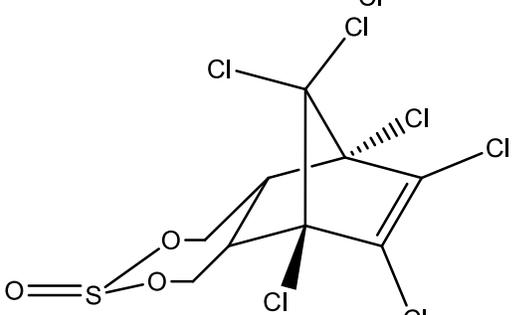
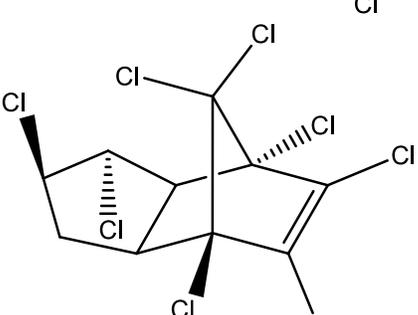
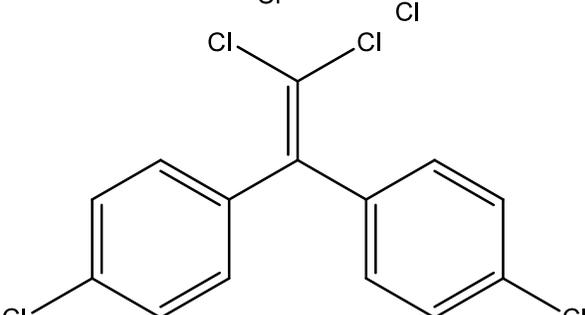
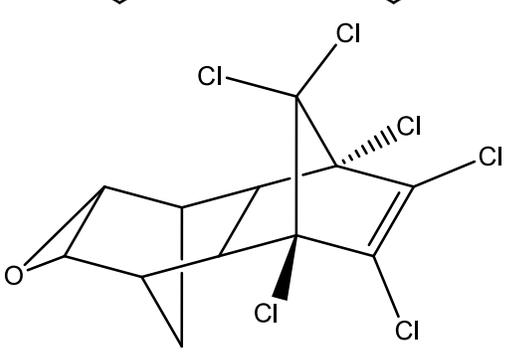
- Material de Referencia Certificado: EPA 8081 Pesticide Standard Mix SIGMA-ALDRICH, 200 µg/mL en hexano:tolueno (1:1), Lote #LRAB8649. En la Tabla 10 se enlistan los 22 compuestos organoclorados que contiene el estándar con su estructura química.

Tabla 10. Estructura química de los analitos presentes en el estándar.

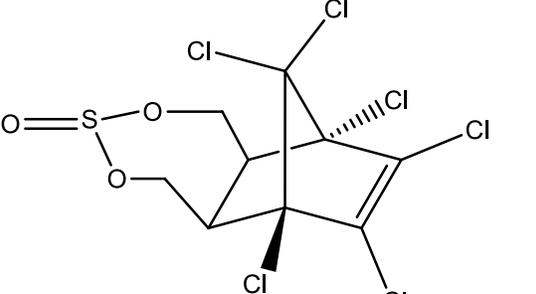
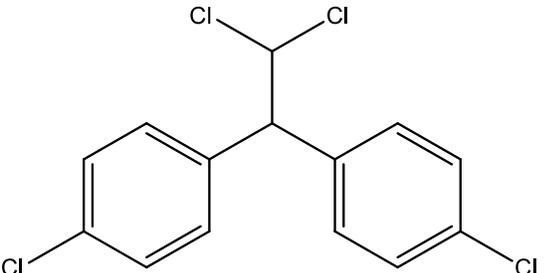
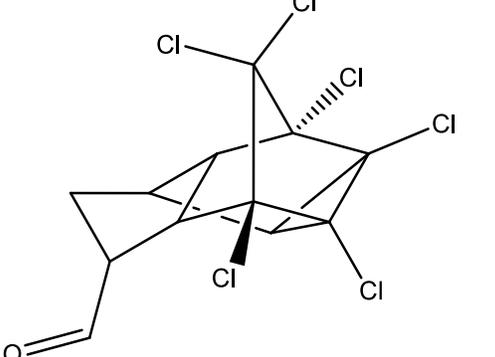
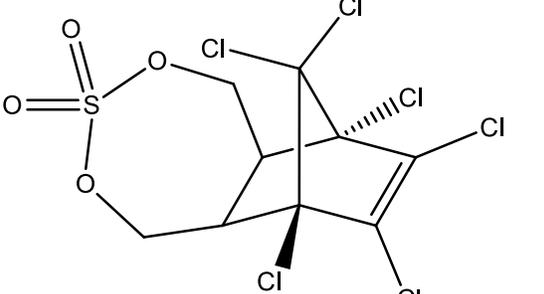
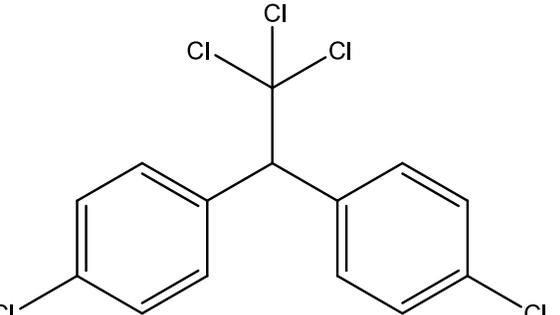
Analito	Estructura
tetracloroxileno	
alfa-HCH	

Analito	Estructura
gama-HCH	
delta-HCH	
heptacloro	
aldrin	

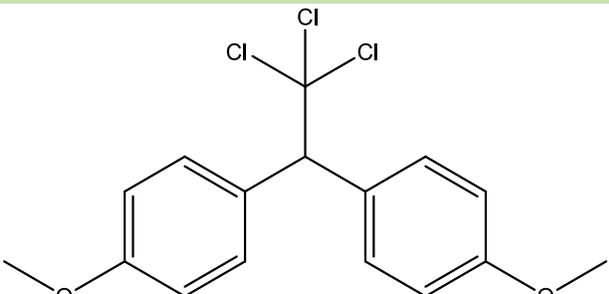
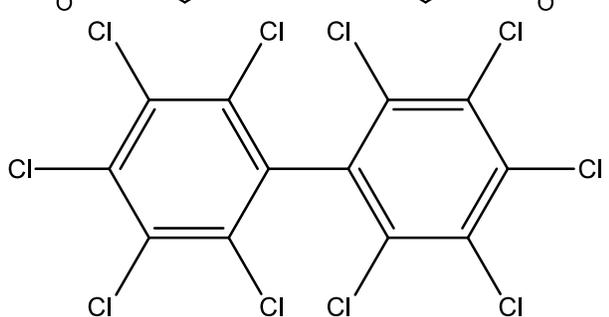
Continuación tabla 10

Analito	Estructura
alfa-clordano	
endosulfán I	
gama-clordano	
DDE	
dieldrin	

Continuación tabla 10

Analito	Estructura
endosulfán II	
DDD	
aldehído de endrin	
sulfato de endosulfán	
DDT	

Continuación tabla 10

Analito	Estructura
Metoxicloro	
Decaclorobifenilo	

Continuación tabla 10

- Agua Tipo I, resistividad 18.2 MΩ·cm a 25 °C, 3 ppb TOC
- Metanol grado HPLC, ≥99.9 %, SIGMA-ALDRICH
- NaCl anhidro, pureza ≥99 %, SIGMA-ALDRICH Lote #SLBW9994
- Helio 5.0 de ultra alta pureza

5.1.2. Equipos e instrumentos

- Cromatógrafo de gases Agilent 6890N, modelo G1530N, número de serie CN10450004, AGILENT TECHNOLOGIES

Columna: HP-5MS UI (5%-fenil)-metilpolisiloxano, 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm

- Detector selectivo de masas 5973, modelo G2577A, número de serie US44647077, AGILENT TECHNOLOGIES

- Balanza Analítica SHIMADZU, modelo AUW220, alcance 220 g, resolución 0.0001
- Parrilla de calentamiento y agitación magnética, Thermolyne
- Termómetro de mercurio de -10 a 110 °C, LAUKA
- Barras de agitación de teflón
- Dispositivo SPME manual, SUPELCO
- Fases para SPME, SUPELCO: PDMS 100 μm , PDMS/DVB 65 μm , DVB/CAR/PDMS 50/30 μm
- Pipetas de Volumen ajustable, SARTORIUS BIOHIT: 2-20 μL , 10-100 μL , 1-10 mL.
- Material de vidrio: Vaso de precipitados 250 mL PYREX, viales de 20 mL con septum AGILENT, viales de 2 mL AGILENT, matraz volumétrico 10.0 mL, matraz volumétrico 1.0 mL.

Todo el material de vidrio se lavó con jabón y agua corriente y se enjuagó abundantemente con agua destilada, metanol y acetato de etilo. El material no volumétrico se sometió a un baño de ultrasonidos en agua desionizada por 45 minutos y posteriormente se enjuagó con metanol y acetato de etilo.

5.2. Metodología

5.2.1. Preparación de las disoluciones estándar de plaguicidas organoclorados

El material de referencia certificado (estándar de 200 µg/mL o 200 ppm) se almacenó en un vial ámbar de 2 mL a 4 °C. Se prepararon a partir del material de referencia, estándares de concentración 1 mg/L y 10 mg/L el disolvente utilizado fue metanol grado HPLC, todas las disoluciones estándar fueron preparadas el mismo día de su uso.

5.2.2. Preparación de muestras y extracción por HS-SPME

Todos los experimentos se realizaron con un volumen nominal de disolución o de muestra de 10.0 mL. Las disoluciones para la optimización del método se prepararon en un matraz volumétrico con el volumen de estándar 10 µg/L o 1 µg/L adecuado para llegar a la concentración requerida, llevando a la marca del aforo con agua tipo I (ultrapura). Las muestras reales se tomaron con una pipeta de volumen ajustable de 10.0 mL.

Las disoluciones y muestras se transfirieron a viales de vidrio 20 mL de capacidad, se agregó la masa de NaCl correspondiente a cada corrida, una barra de agitación magnética y se selló con una tapa de aluminio con septum. Posteriormente, se sometieron a agitación y calentamiento en baño maría sobre una parrilla de agitación y calentamiento, el sistema para la extracción por HS-SPME se muestra en la Figura 9.



Figura 9. Sistema de extracción HS-SPME.

5.2.3. Desarrollo del método inicial

Con la finalidad de fijar un punto de partida para la determinación de los tiempos de retención y la optimización del método de extracción se hicieron pruebas a una concentración relativamente alta (1 mg/L), asegurando la extracción de los 22 analitos, se fijaron a conveniencia las siguientes condiciones experimentales:

Temperatura de extracción: 70 °C

Tiempo de extracción: 60 minutos

NaCl añadido: ~2.8 g (cerca del 80% de la solubilidad)

Tiempo de desorción en el inyector: 5 minutos

La temperatura de desorción se eligió 5 °C menor a la máxima recomendada por el fabricante.

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas selectivo. Como gas acarreador se usó helio a flujo constante de 1 mL/min y el inyector se utilizó en modo *splitless* a 265 °C. La separación de los analitos se efectuó en una columna capilar HP-5MS UI.

Para el diseño del programa de temperatura se tomó como base el sugerido en la NMX-AA-071-SCFI-201 para la determinación de plaguicidas organoclorados, que posteriormente se adaptó para la separación de los 22 analitos en este trabajo. El programa de temperatura se muestra en la figura 10 y la figura 11 muestra un cromatograma obtenido para una disolución de los 22 analitos organoclorados a una concentración de 6 µg/L.

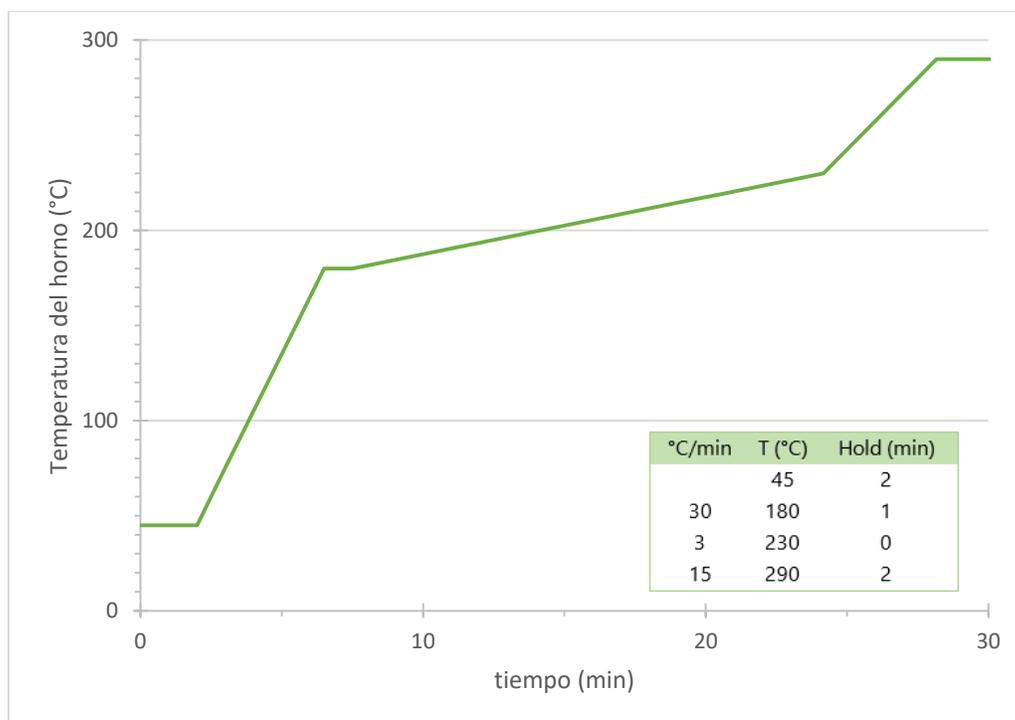


Figura 10. Programa de temperatura para el análisis cromatográfico.

La identificación de los analitos se realizó mediante los espectros de masas obtenidos por el método de barrido total de iones (SCAN), en un intervalo de m/z 50 a 550. La cuantificación se llevó a cabo por monitoreo selectivo de iones (SIM). Los iones fragmento diagnóstico para cada analito se eligieron a partir de los espectros de masas obtenidos mediante las pruebas en modo SCAN y se indican en la tabla 11.

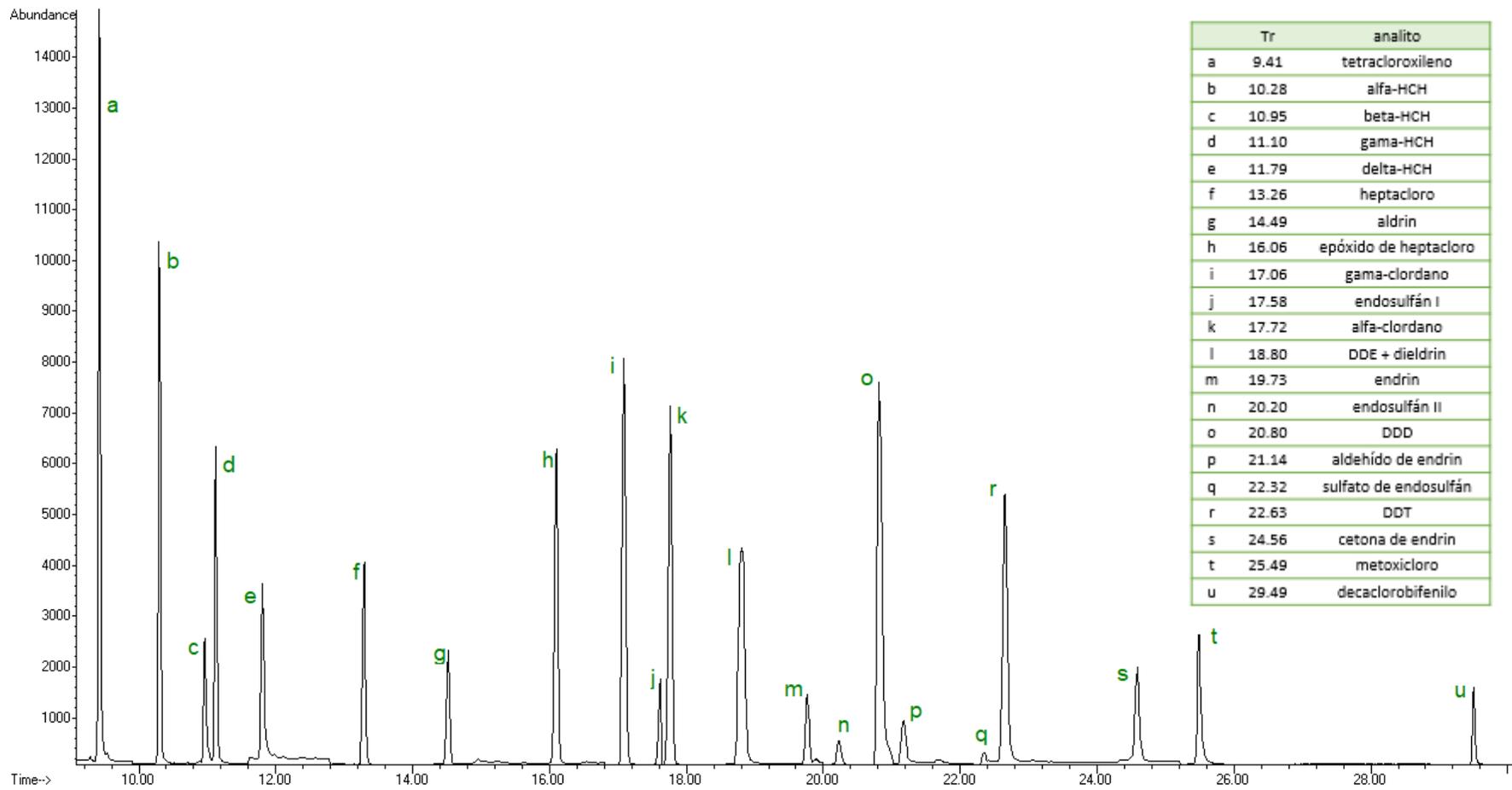


Figura 11. Cromatograma típico en modo SIM para la mezcla de POCs a una concentración de 6 µg/L.

Tabla 11. Iones fragmento diagnóstico para el análisis SIM.

	plaguicida	m/z
1	tetracloroxileno	207, 209
2	α -HCH	181, 183
3	β -HCH	109, 181
4	γ -HCH	181, 183
5	δ -HCH	109, 181
6	heptacloro	100, 272
7	aldrin	68, 263
8	epóxido de heptacloro	81, 353
9	γ -clordano	373, 375
10	endosulfán I	239, 241
11	α -clordano	373, 375
12	DDE + dieldrin	79, 246
13	endrin	81, 263
14	endosulfán II	195, 237
15	DDD	235, 237
16	aldehído de endrin	67, 345
17	sulfato de endosulfán	272, 387
18	DDT	165, 235
19	cetona de endrin	67, 315
20	metoxicloro	227, 228
21	decaclorobifenilo	498, 500

5.2.4. Selección de la fase de extracción

Una vez determinados los tiempos de retención de todos los analitos se realizó la selección de la fase de extracción, para lo cual se realizó un diseño de experimento de un solo factor categórico (fase extractante) en 3 niveles (PDMS, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS), en un solo bloque completamente aleatorizado (Tabla 12). La respuesta medida fue el área de pico cromatográfico.

Tabla 12. Matriz de experimentos para la selección de fase extractante

Corrida	Fase
1	DVB/CAR/PDMS
2	PDMS/DVB
3	PDMS/DVB
4	DVB/CAR/PDMS
5	PDMS
6	DVB/CAR/PDMS
7	PDMS
8	PDMS/DVB
9	PDMS

Todas las corridas se realizaron bajo las siguientes condiciones fijas:

Temperatura de extracción: 70 °C

Tiempo de extracción: 60 minutos

NaCl añadido: ~2.8 g (cerca del 80% de la solubilidad)

Tiempo de desorción en el inyector: 5 minutos

Es importante mencionar que entre cada prueba se acondicionó la fase según las recomendaciones del fabricante y se realizó un blanco de fase con el detector en modo SCAN para descartar el acarreamiento de los analitos.

Una vez que se eligió la fase de extracción que proveía mayores áreas de pico se realizaron pruebas para la elección del tiempo de desorción de la fase extractante en el inyector, usando las condiciones ya mencionadas pero variando el tiempo de exposición de la fase dentro del inyector (5, 10 y 15 minutos) hasta que el blanco de fase posterior a la prueba no mostró acarreamiento de analitos.

5.2.5. Optimización de las condiciones de extracción

Para la obtención de las condiciones óptimas (punto óptimo) de extracción se siguió una metodología de superficie de respuesta, estas técnicas están basadas en el ajuste de un modelo empírico a los datos experimentales obtenidos de un diseño experimental.⁵¹

Debido a que las fases de extracción para SPME tienen una vida útil de alrededor de 100 usos fue importante llevar a cabo la optimización con la mínima cantidad de experimentos pero sin comprometer la calidad del dominio experimental estudiado. Por lo tanto se seleccionó un diseño experimental Box-Behnken, este tipo de diseños toma puntos determinados del correspondiente diseño factorial completo, lo que los hace más eficientes y económicos en el sentido de tiempo y recursos (figura 12).

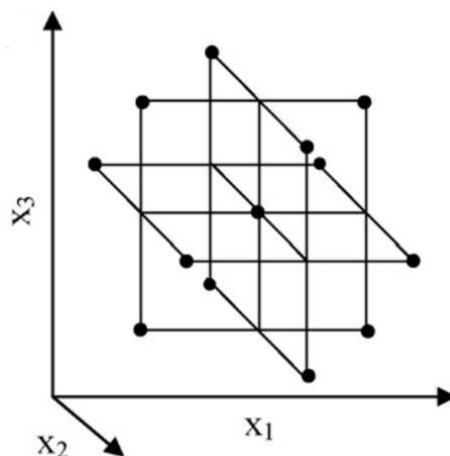


Figura 12. Diseño experimental Box-Behnken para la optimización tres factores en tres niveles.

El diseño experimental se trabajó con tres factores evaluados en tres niveles (Tablas 13 y 14), en un solo bloque completamente aleatorizado y con dos repeticiones al centro.

Tabla 13. Matriz de experimentos para la optimización de SPME.

Corrida	A: temperatura	B: NaCl	C: tiempo
1	1	-1	0
2	-1	-1	0
3	1	0	1
4	0	0	0
5	-1	1	0
6	1	1	0
7	0	-1	-1
8	1	0	-1
9	0	1	1
10	-1	0	1
11	0	0	0
12	0	-1	1
13	0	1	-1
14	-1	0	-1
15	0	0	0

Tabla 14. Factores y niveles del diseño experimental Box-Behnken 3³.

Factores	Niveles		
	-1	0	1
A: temperatura de extracción (°C)	30	50	70
B: % NaCl	20	50	80
C: tiempo de extracción (min)	30	45	60

Las condiciones de extracción restantes se mantuvieron fijos en los siguientes niveles:

Fase de extracción: DVB/CAR/PDMS

Tiempo de desorción en el inyector: 15 minutos

5.2.6. Tratamiento de datos

En todos los casos la respuesta medida fue el área de pico cromatográfico, el tratamiento estadístico de los datos obtenidos de los diseños experimentales y las regresiones por mínimos cuadrados (curvas de calibración) se realizó con ayuda del software STATGRAPHICS ®.

5.2.7. Evaluación del desempeño del método

Una vez obtenidas las condiciones óptimas de extracción se llevó a cabo una evaluación parcial del desempeño del método desarrollado, se tomó como referencia la Guía Eurachem para la adecuación al uso de los métodos analíticos.⁵⁰

Debido a que las fases comerciales para SPME tienen una vida útil de alrededor de 100 usos y con motivo de no comprometer la fiabilidad de los resultados instrumentales, no se llevó a cabo una validación completa del método. Sin embargo esta pre-validación proporciona información importante sobre el desempeño general del método y permite la discusión de los posibles factores a mejorar en futuras aplicaciones del método.

5.1.1.1. Intervalo lineal

A partir de los estándares de 1 y 10 mg/L se prepararon muestras de concentraciones de 0.20 µg/L hasta 10 µg/L y se sometieron a la SPME bajo las condiciones establecidas. Se graficó la respuesta de los analitos contra la concentración para evaluar por inspección visual el intervalo lineal. Se eligió el intervalo de trabajo de 1 a 6 µg/L.

5.1.1.2. Límites de detección y cuantificación

Se realizaron tres réplicas de una muestra de ensayo preparada a una concentración de 0.8 µg/L para el cálculo del límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) siguiendo las siguientes fórmulas:

$$s' = s/\sqrt{n}$$

$$LD = \bar{y} + 3s'$$

$$LC = \bar{y} + 10s'$$

Donde \bar{y} es la respuesta promedio de las réplicas, n el número de réplicas y s la desviación estándar correspondiente. El resultado en ambos casos debe expresarse en unidades de concentración.

5.1.1.3. Veracidad

La estimación de la veracidad se realizó mediante el cálculo del recobro relativo (R%), para lo cual se midieron por triplicado muestras preparadas a partir del material de referencia en dos niveles de concentraciones, 2.5 µg/L y 4.5 µg/L.

El recobro relativo proporciona una medida del sesgo involucrado al comparar el valor medio obtenido (\bar{x}) contra el valor de referencia (x_{ref}), mediante la siguiente ecuación:

$$R\% = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100$$

5.1.1.4. Repetibilidad

Este parámetro se evaluó a partir de la desviación estándar, s , y el coeficiente de variación (%CV); ambos proporcionan información sobre la dispersión de los datos. La determinación se realizó por triplicado con muestras a 2.5 µg/L y 4.5 µg/L. La ecuación para el cálculo de la desviación estándar es:

$$s = \frac{\sum_i^N (y_i - \bar{y})^2}{N}$$

En donde, y_i es el i ésimo valor experimental, \bar{y} es el promedio de los valores obtenidos y N es el número de datos. Mientras que el coeficiente de variación se calculó como sigue:

$$CV\% = \frac{s}{\bar{y}} \times 100$$

6. Resultados y Discusión

6.1. Selección de la fase de extracción

Con la intención de maximizar la sensibilidad del método, el análisis de esta serie de experimentos se centró en la comparación de las respuestas medias obtenidas con las diferentes fases probadas y sus respectivas varianzas.

El efecto de la fase de extracción utilizada en las respuestas obtenidas se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA), esta metodología separa la variabilidad debida al uso las diferentes fases y la debida solamente al error aleatorio y las compara, si la variabilidad total se debe principalmente al error aleatorio se considera que el factor fase no es significativo.

Se encontró que la fase es un factor significativo al 95% de confianza en todos los casos (anexo 1). Para determinar qué medias son significativamente distintas entre sí para cada analito se realizó una prueba de rangos múltiples por el método de diferencia mínima significativa que compara todos los posibles pares de medias y determina el valor mínimo de diferencia que debe existir entre dos medias muestrales para considerar que los tratamientos son significativamente diferentes⁴⁷, los resultados se resumen en la tabla 15.

En la figura 13 se comparan las respuestas (área de pico cromatográfico) promedio obtenidas con las tres diferentes fases de extracción evaluadas. Se observa que la fase que provee una mayor respuesta de la respuesta es mayor en las extracción con la fase DVB/CAR/PDMS.

Tabla 15. Prueba de rangos múltiples para el factor fase por cada analito.

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza			
analito	DVB/CAR/PDMS - PDMS	DVB/CAR/PDMS - PDMS/DVB	PDMS - PDMS/DVB
1 tetracloroxileno	*		*
2 alfa-HCH	*	*	*
3 beta-HCH	*	*	*
4 gama-HCH	*	*	*
5 delta-HCH	*	*	*
6 heptacloro	*	*	
7 aldrin	*		*
8 epóxido de heptacloro	*	*	*
9 gama-clordano	*		*
10 endosulfán I	*		
11 alfa-clordano	*		*
12 DDE + dieldrin	*	*	
13 endrin			
14 endosulfán II	*	*	
15 DDD	*	*	
16 aldehído de endrin	*	*	*
17 sulfato de endosulfán	*		
18 DDT	*	*	
19 cetona de endrin	*	*	*
20 metoxicloro	*	*	
21 decaclorobifenilo	*	*	

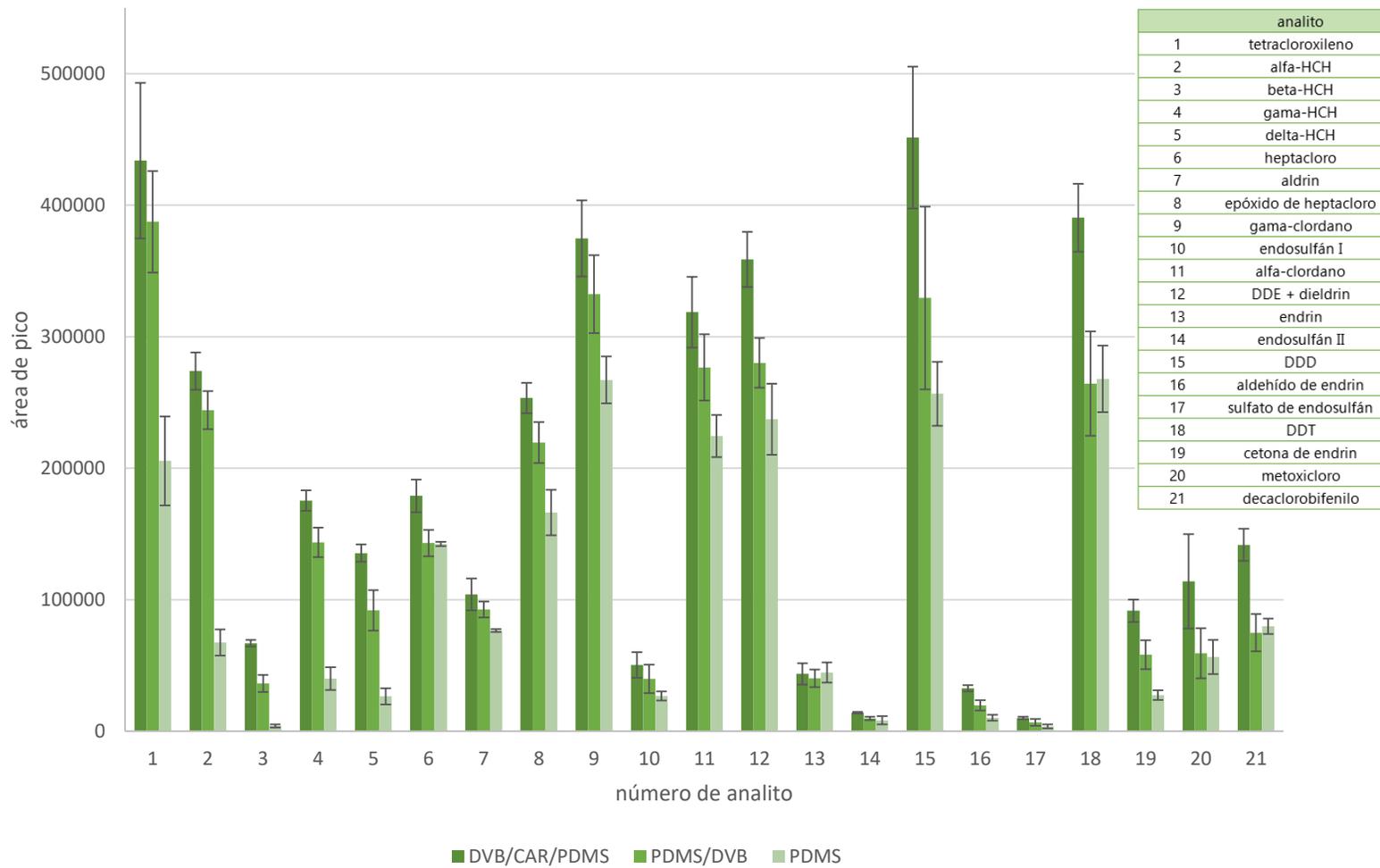


Figura 13. Gráfico comparativo de las respuestas obtenidas con tres fases de extracción distintas.

En la mayoría de los casos la diferencia de respuesta entre fases resultó significativa, esto quiere decir que la elección de la fase entre las tres disponibles tiene un impacto en la sensibilidad del método y junto con la comparación de las respuestas medias justifica la elección de la fase DVB/CAR/PDMS para el resto del desarrollo del método.

6.2. Optimización de las condiciones de extracción

Los datos obtenidos del diseño Box-Behnken 3^3 para cada analito se procesaron en el programa STATGRAPHICS® para realizar el análisis del experimento. Los efectos principales de los factores sobre la respuesta media se muestran de forma gráfica en el anexo 2, mientras que en el anexo 3 se presentan los diagramas de Pareto (efectos estandarizados) para cada analito; los resultados se resumen en la tabla 16.

Tabla 16. Efecto relativo de las variables estudiadas para la SPME de POCs.

		Estadísticamente significativos						
	analito	A	B	C	AB	AC	BC	Al 95% de confianza
1	tetracloroxileno	+	-	+	-	-	+	
2	alfa-HCH	+	+	+	+	+	+	A, B, C
3	beta-HCH	+	+	+	+	+	+	A, B, AB
4	gama-HCH	+	+	+	+	+	+	A, B, C, AB, BC
5	delta-HCH	+	+	+	+	+	+	A, B, C, AB
6	heptacloro	-	-	+	+	-	+	
7	aldrin	+	-	+	+	-	+	B
8	epóxido de heptacloro	+	+	+	-	-	+	A, B, C
9	gama-clordano	+	-	+	-	-	+	A, C
10	endosulfán I	+	+	+	-	-	+	A, B
11	alfa-clordano	+	-	+	-	-	+	A, C
12	DDE + dieldrin	+	+	+	-	-	+	A, C, BC
13	endrin	+	+	+	+	+	+	A, B, C, AB
14	endosulfán II	+	+	+	+	+	+	A, B, C
15	DDD	+	+	+	+	+	+	A, C, AC
16	aldehído de endrin	+	+	+	+	+	+	A, B, C
17	sulfato de endosulfán	+	+	+	+	+	+	A, AB
18	DDT	+	-	+	+	+	+	A, C
19	cetona de endrin	+	+	+	+	+	+	A, B, C
20	metoxicloro	+	+	+	+	+	+	A, B, AB
21	decaclorobifenilo	+	+	+	+	+	+	A, AC

A: temperatura de extracción, B: NaCl añadido y C: tiempo de extracción

Algunas observaciones relevantes respecto a los resultados son que, en general las interacciones entre efectos no son significativas, y en los pocos casos en los que lo son el efecto siempre es positivo. Además, los tres efectos principales (temperatura, tiempo de extracción y NaCl añadido) son en la mayoría de los casos significativos; el único de ellos que en su nivel positivo genera un aumento de la respuesta para todos los analitos es el tiempo de extracción (C). Por esta razón se decidió trabajar en el nivel alto de tiempo de extracción (60 minutos).

6.2.1. Superficie de respuesta

En el anexo 4 se muestran las superficies de respuesta estimadas para cada analito, para el caso de tiempo de extracción en el nivel alto (60 minutos).

Los datos de la tabla 16 y los gráficos de superficie de respuestas muestran un comportamiento similar para la mayor parte de los analitos; en general se observa que la respuesta incrementa en los valores altos de NaCl añadido y temperatura de extracción.

Se encuentran tres excepciones evidentes, los casos del tetracloroxileno, aldrin y heptacloro, sin embargo como se observa en la tabla 16 y en los diagramas de Pareto correspondientes (anexo 3), para estos analitos los efectos principales no son significativos, es decir que la modificación de ninguno de ellos afecta considerablemente la respuesta obtenida.

El software empleado para el análisis estadístico tiene la capacidad de optimizar simultáneamente un máximo de 16 respuestas; considerando esto y los casos particulares comentados en los párrafos anteriores, la optimización simultánea de

las condiciones de extracción se realizó considerando las siguientes 15 respuestas: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, epóxido de heptacloro, γ -clordano, endosulfán I, α -clordano, DDE + dieldrin, endrin, endosulfán, aldehído de endrin, sulfato de endosulfán, DDT y cetona de endrin.

Se generó un gráfico de superficie de respuesta múltiple, representada en términos de deseabilidad (Figura 14). El valor máximo de deseabilidad se obtuvo al incrementar la temperatura de extracción y la masa de NaCl añadido.

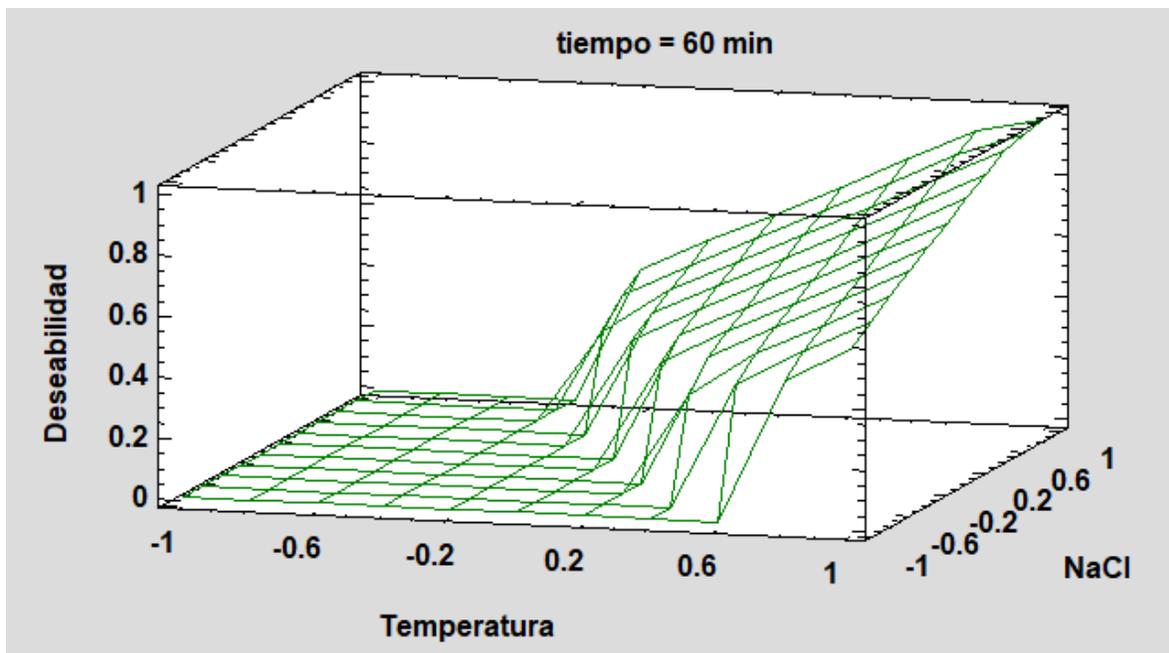


Figura 14. Superficie de respuesta estimada en unidades de deseabilidad.

Se establecieron como condiciones experimentales óptimas los niveles altos de todos los factores evaluados: tiempo de extracción 60 minutos, temperatura de extracción 70 °C y NaCl añadida 80% de su solubilidad (2.88 g).

6.3. Curvas de calibración y desempeño del método

Se obtuvieron las curvas de calibración para todos los analitos en un intervalo de trabajo entre 1 y 6 µg/L (2 y 12 µg/L para la suma de DDE y dieldrin). Los gráficos correspondientes con cinturones de confianza al 95% se muestran en el anexo 5, los parámetros estadísticos de las regresiones lineales se presentan en la tabla 17 y los resultados de las pruebas de evaluación del desempeño del método para todos los analitos se resumen en la tabla 18.

En México, la Secretaría de Salud⁵² recomienda los siguientes parámetros de aceptación para la validación de métodos fisicoquímicos de análisis:

Coeficiente de correlación: $r \geq 0.98$

Recobro: $60\% < \%R < 120\%$

Repetibilidad: $\%CV \leq 30\%$

Estos valores aplican en los métodos desarrollados para la determinación de residuos y contaminantes en alimentos y agua en un intervalo de concentraciones de 1 a 10 µg/L.

Tabla 17. Parámetros estadísticos para las regresiones lineales para la cuantificación de POCs a un nivel de confianza del 95%.

	Analito	Pendiente (u. de área/ $\mu\text{g/L}$)	Ordenada al origen (u. de área)	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de determinación (r^2)
1	tetracloroxileno	49998.7	36715.3	0.9980	0.9960
2	alfa-HCH	35245.2	44099.5	0.9977	0.9955
3	beta-HCH	10210.3	12582.3	0.9996	0.9991
4	gama-HCH	23908.0	29708.7	0.9976	0.9952
5	delta-HCH	19200.0	22839.8	0.9985	0.9970
6	heptacloro	20454.5	9775.3	0.9988	0.9976
7	aldrin	10438.9	8825.7	0.9999	0.9998
8	epóxido de heptacloro	34677.8	26940.6	0.9998	0.9997
9	gama-clordano	43118.1	35341.9	0.9986	0.9973
10	endosulfán I	6806.3	5742.8	0.9970	0.9940
11	alfa-clordano	37412.9	30381.3	0.9991	0.9981
12	DDE + dieldrin	49999.7	36715.3	0.9980	0.9960
13	endrin	8322.3	2620.1	0.9950	0.9900
14	endosulfán II	2818.1	3943.3	0.9909	0.9818
15	DDD	49187.8	37154.8	0.9975	0.9950
16	aldehído de endrin	5366.5	2508.4	0.9996	0.9991
17	sulfato de endosulfán	746.2	889.3	0.9646	0.9305
18	DDT	33750.0	7756.0	0.9991	0.9983
19	cetona de endrin	11319.2	8642.2	0.9998	0.9996
20	metoxicloro	15058.4	-3720.0	0.9969	0.9938
21	decaclorobifenilo	4586.4	5242.1	0.9916	0.9832

Tabla 18. Parámetros de evaluación del desempeño del método.

Analito	LD	LC	2.5 µg/L			4.5 µg/L		
			%R	s (unidades de área)	%CV	%R	s (unidades de área)	%CV
1 tetracloroxileno	1.4	2.9	97.1	10535.2	6.7	102.2	23895.0	9.0
2 alfa-HCH	0.5	1.0	104.8	7959.9	5.8	104.3	5861.7	2.8
3 beta-HCH	0.3	0.8	151.9	12643.4	24.6	128.8	6640.2	9.3
4 gama-HCH	0.4	0.6	114.9	8041.2	8.2	107.5	4145.2	2.9
5 delta-HCH	0.2	0.5	116.1	16272.2	20.7	113.6	10016.7	8.3
6 heptacloro	1.0	1.8	94.4	2225.1	3.8	98.9	6644.6	6.6
7 aldrin	0.7	1.4	116.5	1729.4	4.4	114.9	1294.5	2.1
8 epóxido de heptacloro	0.6	1.0	130.4	5869.4	4.2	119.7	7441.8	3.5
9 gama-clordano	0.6	1.1	136.3	8222.1	4.5	122.2	10200.3	3.7
10 endosulfán I	0.7	1.2	170.4	3192.1	9.2	170.9	5998.8	10.3
11 alfa-clordano	0.7	1.1	133.7	7307.6	4.7	119.7	5394.7	2.3
12 DDE + dieldrin	0.8	1.1	107.0	5906.5	3.5	95.6	10087.1	4.0
13 endrin	0.7	1.4	124.3	4170.7	14.6	115.5	1670.3	3.6
14 endosulfán II	0.3	0.9	143.1	4087.0	29.1	154.5	5885.1	25.0
15 DDD	0.4	0.8	73.9	21369.6	16.7	93.5	15790.8	6.5
16 aldehído de endrin	0.9	1.4	173.8	3522.1	13.6	155.0	2684.1	6.7
17 sulfato de endosulfán	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
18 DDT	0.8	1.0	88.2	13936.7	17.0	93.7	8167.6	5.4
19 cetona de endrin	0.5	0.9	168.4	6214.3	11.0	150.7	6918.6	8.1
20 metoxicloro	0.9	1.5	95.1	15015.2	46.8	86.5	13536.8	24.7
21 decaclorobifenilo	0.5	1.5	206.5	6751.1	23.3	163.0	8827.6	22.7

* Las concentraciones de prueba en el caso de DDE+dieldrin es igual a la suma de las concentraciones individuales (5 µg/L y 9 µg/L respectivamente)

Tabla 19. Aceptación del método según los parámetros de referencia.

	analito	2.5 µg/L			4.5 µg/L	
		r	%CV	%R	%CV	%R
1	tetracloroxileno	✓	✓	✓	✓	✓
2	alfa-HCH	✓	✓	✓	✓	✓
3	beta-HCH	✓	✓	✗	✓	✗
4	gama-HCH	✓	✓	✓	✓	✓
5	delta-HCH	✓	✓	✓	✓	✓
6	heptacloro	✓	✓	✓	✓	✓
7	aldrin	✓	✓	✓	✓	✓
8	epóxido de heptacloro	✓	✓	✗	✓	✓
9	gama-clordano	✓	✓	✗	✓	✗
10	endosulfán I	✓	✓	✗	✓	✗
11	alfa-clordano	✓	✓	✗	✓	✓
12	DDE + dieldrin*	✓	✓	✓	✓	✓
13	endrin	✓	✓	✗	✓	✓
14	endosulfán II	✓	✓	✗	✓	✗
15	DDD	✓	✓	✓	✓	✓
16	aldehído de endrin	✓	✓	✗	✓	✗
17	sulfato de endosulfán	✗	NA	NA	NA	NA
18	DDT	✓	✓	✓	✓	✓
19	cetona de endrin	✓	✓	✓	✓	✗
20	metoxicloro	✓	✗	✓	✓	✓
21	decaclorobifenilo	✓	✓	✗	✓	✗

✓ Cumple, ✗ No cumple, NA no aplica

* Las concentraciones de prueba en el caso de DDE+dieldrin es igual a la suma de las concentraciones individuales (5 µg/L y 9 µg/L respectivamente)

Los resultados en la tabla 18 indican que el tratamiento de muestras acuosas con microextracción en fase sólida permite la extracción simultánea de 22 compuestos organoclorados; además es posible la separación de los analitos mediante cromatografía de gases y, el detector de espectrómetro de masas permite la determinación de 21 de los analitos a niveles de trazas aunque a concentraciones mayores a las establecidas en la NOM-127-SSA1-1994 para el agua de consumo.

Se observa en la tablas 18 y 19 que se obtuvo linealidad en el intervalo de trabajo seleccionado para todas las respuestas cromatográficas, excepto para el sulfato de endosulfán, por lo que no resulta adecuado el análisis de este compuesto por este método en el intervalo de 1 a 6 µg/L.

Los siguientes analitos: tetracloroxileno, α -HCH, γ -HCH, δ -HCH, heptacloro, aldrin, DDE y dieldrin (suma), DDD, DDT y cetona de endrin cumplieron con todos los parámetros estadísticos recomendados para la aceptación de métodos analíticos.

Es importante considerar que para la validación completa del método se requiere un mayor número de réplicas para evaluar la veracidad y precisión, siendo posible la mejora de la calidad de las estimaciones de estos parámetros incluso para los demás analitos. Para el desarrollo de un método analítico que pueda aplicarse a la normativa mexicana para el agua de consumo deberán también evaluarse otros parámetros como el efecto matriz, la reproducibilidad y la robustez del método.

Otro aspecto que puede mejorarse a futuro son los límites de detección y de cuantificación, se ha visto que un detector de captura de electrones provee mayor sensibilidad en la determinación de este tipo de compuestos^{31,36}, por lo que el uso de este tipo de detectores podría mejorar los resultados obtenidos en este trabajo.

6.4. Análisis de muestras de agua potable

Se realizó el análisis de tres muestras de agua potable (del grifo), dos de ellas del sur y la última del oriente de la ciudad de México (Tabla 20).

Tabla 20. Sitios de muestreo

muestra	Fuente	Coordenadas
1	Edificio 5, Instituto de Ingeniería, Ciudad Universitaria, Coyoacán	19°19'44.3"N 99°10'55.7"W
2	Toma de agua doméstica, Colonia Pedregal de Santo Domingo, Coyoacán	19°20'10.4"N 99°10'15.9"W
3	Toma de agua doméstica, Colonia Los Ángeles, Iztapalapa	19°20'45.3"N 99°04'04.8"W

Tabla 21. Análisis de muestras de agua potable

	Analito	Muestra		
		1	2	3
1	tetracloroxileno	<LD	<LD	<LD
2	alfa-HCH	<LD	<LD	<LD
3	beta-HCH	<LD	<LD	<LD
4	gama-HCH	<LD	<LD	<LD
5	delta-HCH	<LD	<LD	<LD
6	heptacloro	<LD	<LD	<LD
7	aldrin	<LD	<LD	<LD
8	epóxido de heptacloro	<LD	<LD	<LD
9	gama-clordano	<LD	<LD	<LD
10	endosulfán I	<LD	<LD	<LD
11	alfa-clordano	<LD	<LD	<LD
12	DDE + dieldrin	<LD	<LD	<LD
13	endrin	<LD	<LD	<LD
14	endosulfán II	<LD	<LD	<LD
15	DDD	<LD	<LD	<LD
16	aldehído de endrin	<LD	<LD	<LD
17	sulfato de endosulfán	NA	NA	NA
18	DDT	<LD	<LD	<LD
19	cetona de endrin	<LD	<LD	<LD
20	metoxicloro	<LD	<LD	<LD
21	decaclorobifenilo	<LD	<LD	<LD

NA (no aplica)

<LD (por debajo del límite de detección)

Aunque en todos los casos se detectaron señales cromatográficas que por asociación de iones y tiempo de retención podrían corresponder a algunos analitos, todos se encontraron por debajo del límite de detección.

7. Conclusiones

Se desarrolló un método basado en la microextracción en fase sólida (SPME) para la determinación simultánea de decaclorobifenilo y 20 plaguicidas organoclorados (tetracloroxileno, alfa-HCH, beta-HCH, gama-HCH, delta-HCH, heptacloro, aldrin, epóxido de heptacloro, gama-clordano, endosulfán I, alfa-clordano, suma de DDE y dieldrin, endrin, endosulfán II, DDD, aldehído de endrin, DDT, cetona de endrin y metoxicloro).

Se compararon tres fases de extracción para SPME de diferentes composiciones y espesores (PDMS, PDMS/DVB y DVB/CAR/PDMS) para la extracción de 22 compuestos organoclorados. La fase que mostró un mejor desempeño (incremento del área de señal cromatográfica) fue la de composición divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano.

Se determinaron las condiciones óptimas para la extracción por HS-SPME mediante el uso de una metodología de superficie de respuesta. Las mejores condiciones encontradas fueron: 60 minutos de extracción a de 70 °C, agregando 2.88 g de NaCl (80% de la solubilidad).

Se evaluó el desempeño del método para el análisis de los 22 analitos a nivel de trazas ($\mu\text{g/L}$ o ppb) en muestras acuosas, mostrando buena linealidad y precisión. Sin embargo, la adecuación y validación del método para su aplicación a la NOM-127-SSA1-1994 (mod. 2000) requiere la mejora de los límites de cuantificación y detección, así como una serie de ensayos más estrictos para determinar la veracidad, precisión y robustez del método.

La microextracción en fase sólida seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas permite la determinación de 21 analitos organoclorados; se obtuvieron límites de detección que van de 0.2 a 1.4 $\mu\text{g/L}$ y límites de cuantificación entre 0.5 y 2.9 $\mu\text{g/L}$. El método desarrollado se aplicó a muestras de agua potable de la Ciudad de México. Estadísticamente no se puede confirmar la presencia de los analitos en las muestras de agua analizadas.

Anexo 1. Análisis de varianza para la selección de fase de extracción.

El análisis de varianza tiene el objetivo de probar la hipótesis nula (H_0) de igualdad de las medias obtenidas con cada fase de extracción (μ_i):

$$H_0: \mu_{PDMS} = \mu_{PDMS/DVB} = \mu_{DVB/CAR/PDMS}$$

En las tablas de análisis de varianza (ANOVA) se descompone la varianza del área de pico cromatográfico de cada analito en dos componentes: uno de los componentes mide la variación entre tratamientos (fases de extracción) y el segundo mide la variación dentro de los tratamientos. La relación F es la razón del cuadrado medio (CM) entre tratamientos y el cuadrado medio dentro de los tratamientos. Si el valor-p de la prueba F es inferior a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa en las respuestas medias determinadas con cada fase de extracción con un nivel de significancia del 5% y se acepta la hipótesis alternativa (H_A):

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j \quad \text{para algún } i \neq j$$

a) Tetracloroxileno

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	8.7362E10	2	4.3681E10	21.42	0.0019
Error	1.2237E10	6	2.0394E9		
Total	9.9598E10	8			

b) alfa-HCH

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	7.47087E10	2	3.73544E10	220.51	0.0000
Error	1.01641E9	6	1.69402E8		
Total	7.57251E10	8			

c) beta-HCH

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	5.93433E9	2	2.96717E9	179.34	0.0000
Error	9.92699E7	6	1.6545E7		
Total	6.0336E9	8			

d) gama-HCH

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	3.00865E10	2	1.50433E10	173.71	0.0000
Error	5.1959E8	6	8.65984E7		
Total	3.06061E10	8			

e) delta-HCH

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	1.80405E10	2	9.02024E9	85.24	0.0000
Error	6.34943E8	6	1.05824E8		
Total	1.86754E10	8			

f) heptacloro

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	2.63313E9	2	1.31656E9	15.34	0.0044
Error	5.1481E8	6	8.58016E7		
Total	3.14794E9	8			

g) aldrin

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	1.14566E9	2	5.72828E8	9.25	0.0147
Error	3.71615E8	6	6.19359E7		
Total	1.51727E9	8			

h) epóxido de heptacloro

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	1.15712E10	2	5.78562E9	25.71	0.0011
Error	1.35002E9	6	2.25004E8		
Total	1.29213E10	8			

i) gama-clordano

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	1.76092E10	2	8.80459E9	12.96	0.0066
Error	4.07517E9	6	6.79195E8		
Total	2.16843E10	8			

j) endosulfán I

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	8.31902E8	2	4.15951E8	5.55	0.0432
Error	4.49442E8	6	7.4907E7		
Total	1.28134E9	8			

k) alfa-clordano

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	1.33803E10	2	6.69013E9	12.41	0.0074
Error	3.23556E9	6	5.3926E8		
Total	1.66158E10	8			

l) DDE + dieldrin

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	2.27826E10	2	1.13913E10	22.38	0.0017
Error	3.05355E9	6	5.08925E8		
Total	2.58362E10	8			

m) endrin

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	3.2721E7	2	1.63605E7	0.29	0.7573
Error	3.37055E8	6	5.61758E7		
Total	3.69776E8	8			

n) endosulfán II

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	5.37777E7	2	2.68888E7	7.01	0.0270
Error	2.3029E7	6	3.83816E6		
Total	7.68066E7	8			

o) DDD

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	5.81423E10	2	2.90711E10	10.48	0.0110
Error	1.665E10	6	2.775E9		
Total	7.47923E10	8			

p) aldehído de endrin

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	7.56609E8	2	3.78304E8	44.03	0.0003
Error	5.15508E7	6	8.5918E6		
Total	8.0816E8	8			

q) sulfato de endosulfán

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	5.92445E7	2	2.96222E7	9.32	0.0144
Error	1.90643E7	6	3.17738E6		
Total	7.83088E7	8			

r) DDT

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	3.09603E10	2	1.54802E10	16.11	0.0039
Error	5.76647E9	6	9.61079E8		
Total	3.67268E10	8			

s) cetona de endrin

<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	6.16569E9	2	3.08284E9	44.34	0.0003
Error	4.17159E8	6	6.95265E7		
Total	6.58285E9	8			

t) metoxicloro

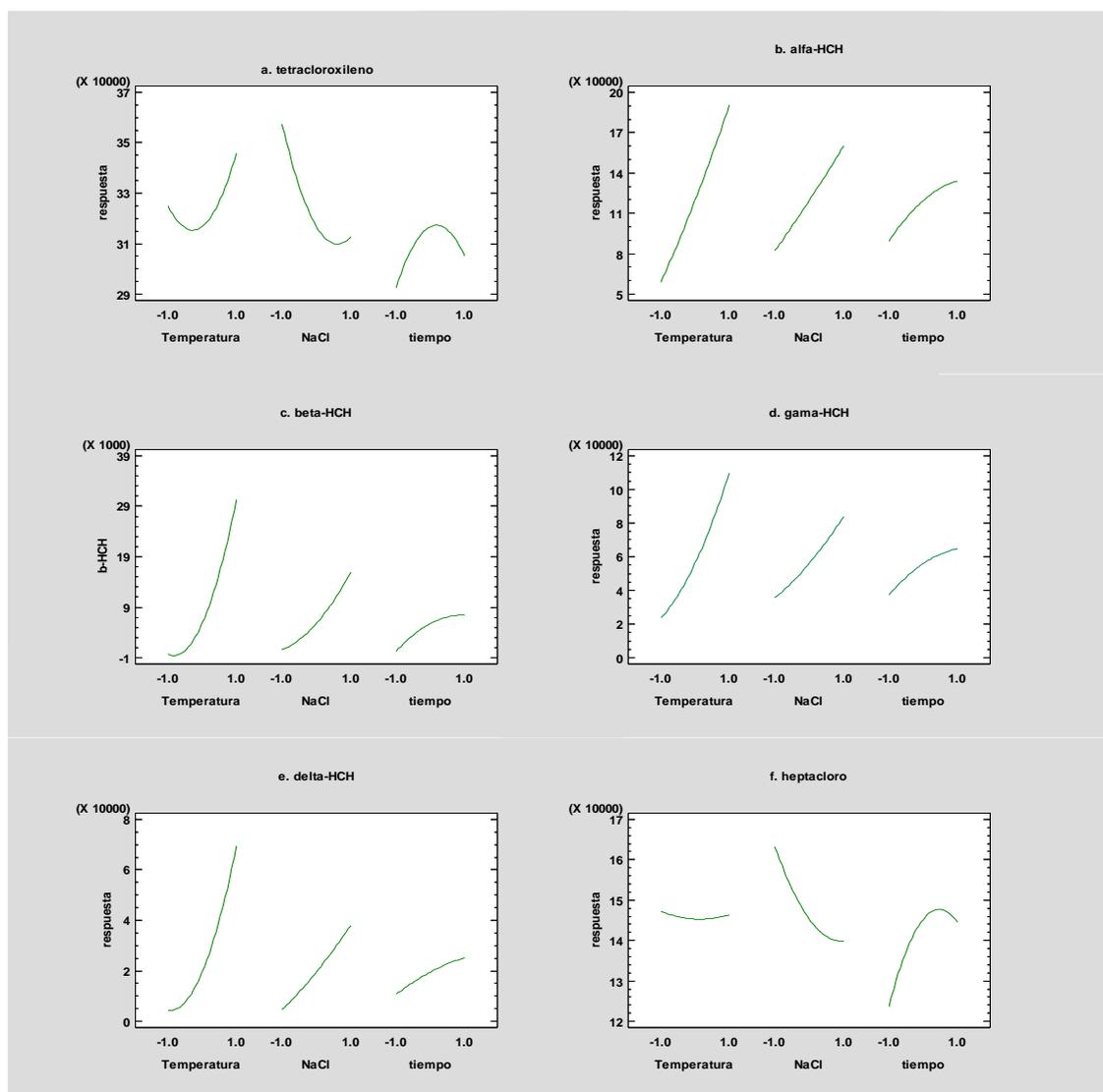
<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	6.33106E9	2	3.16553E9	5.23	0.0484
Error	3.63049E9	6	6.05081E8		
Total	9.96155E9	8			

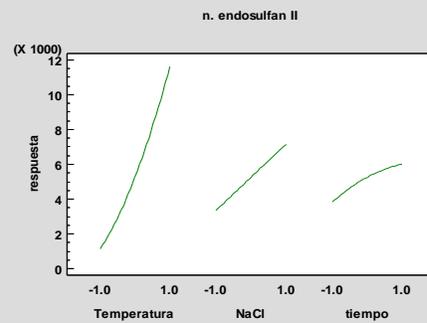
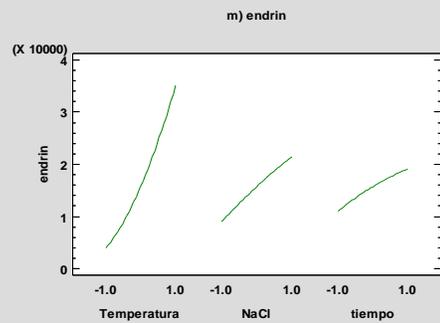
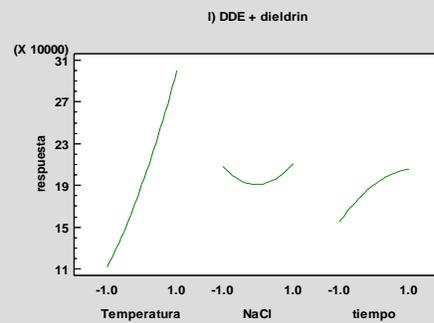
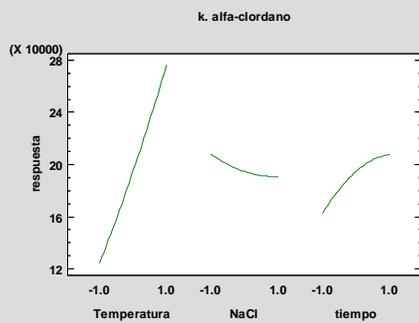
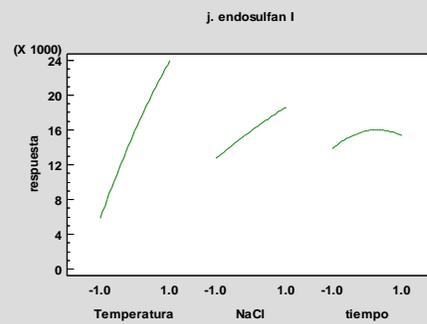
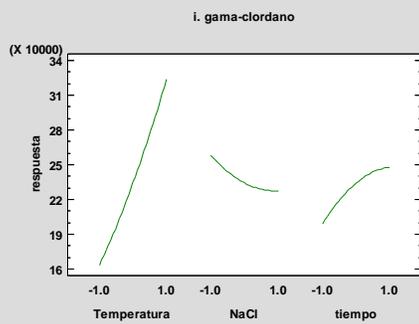
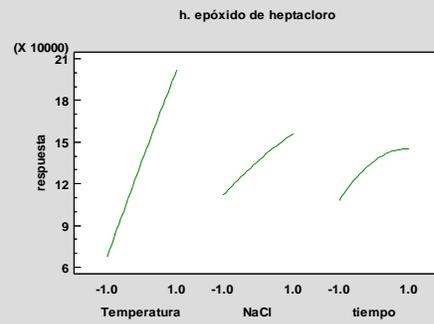
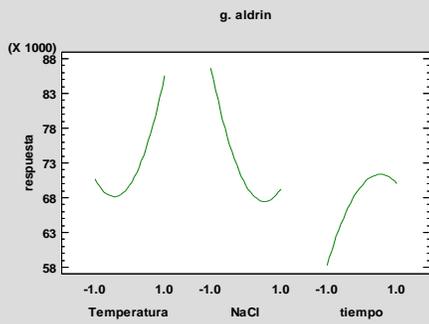
u) decaclorobifenilo

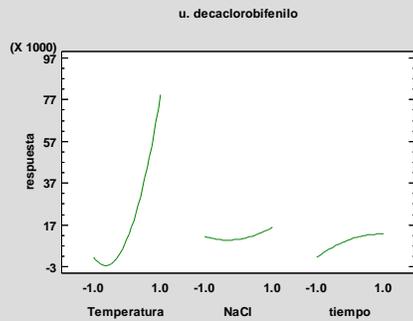
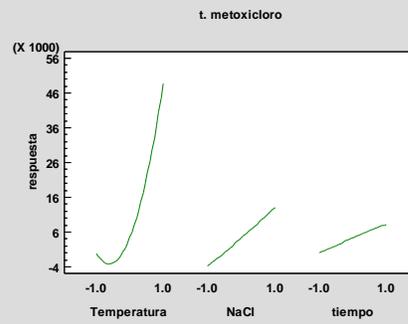
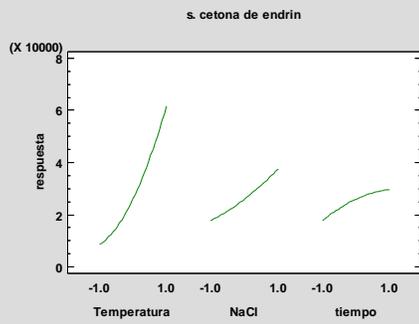
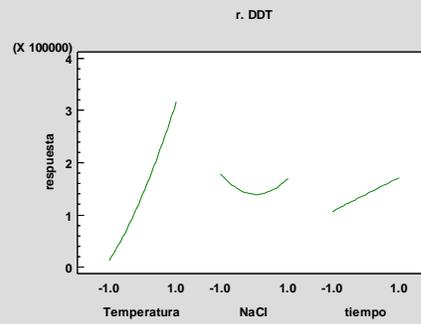
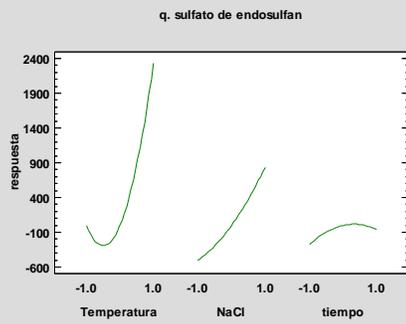
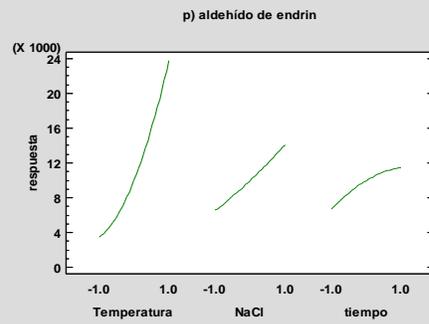
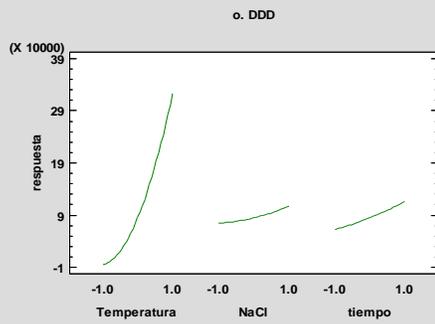
<i>Componente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>
Tratamientos	8.30437E9	2	4.15219E9	32.38	0.0006
Error	7.69366E8	6	1.28228E8		
Total	9.07374E9	8			

Anexo 2. Efectos principales de la temperatura, concentración de NaCl y tiempo en la SPME de plaguicidas organoclorados.

El efecto de un factor se define como el cambio observado en la variable de respuesta debido a un cambio de nivel en el factor.⁴⁷ A continuación se muestran los diagramas de efectos principales (los que se deben a la acción individual de cada factor) sobre la respuesta de cada analito.

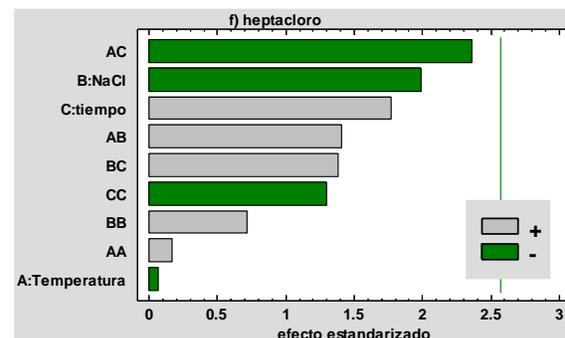
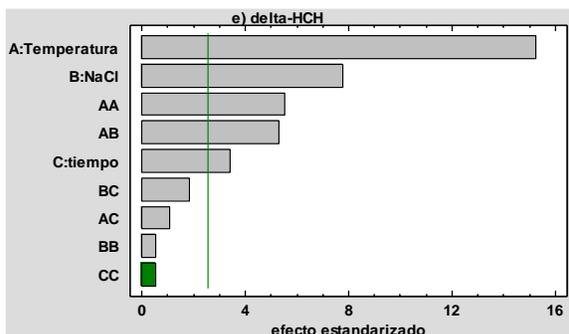
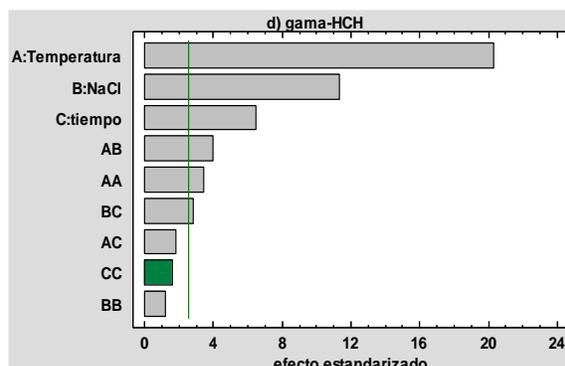
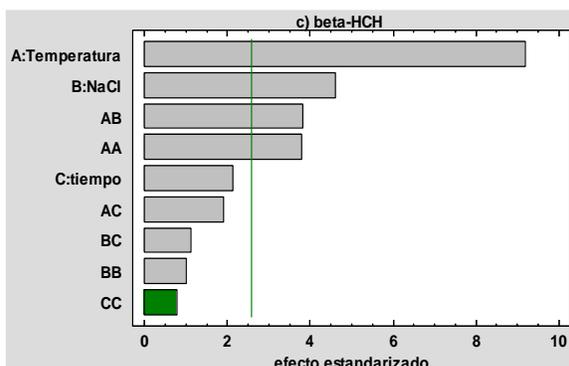
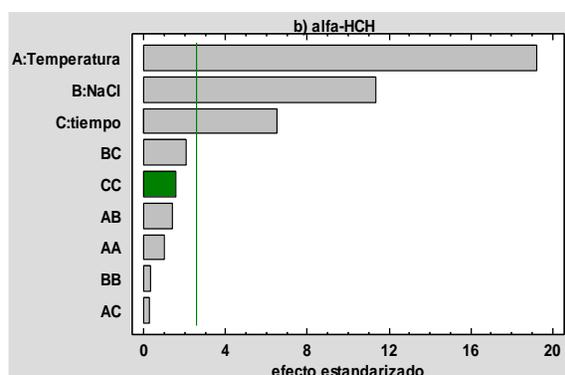
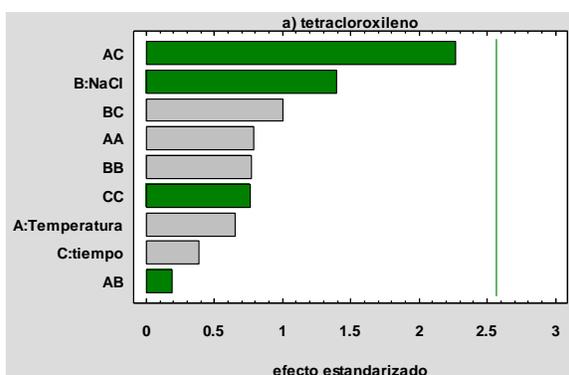


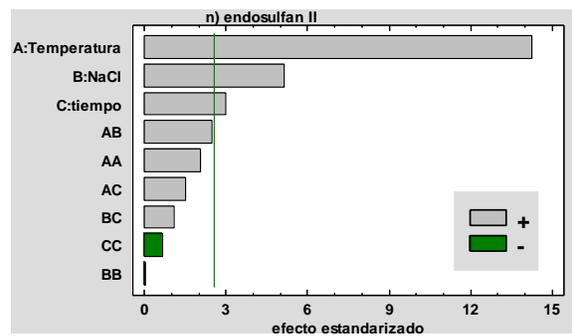
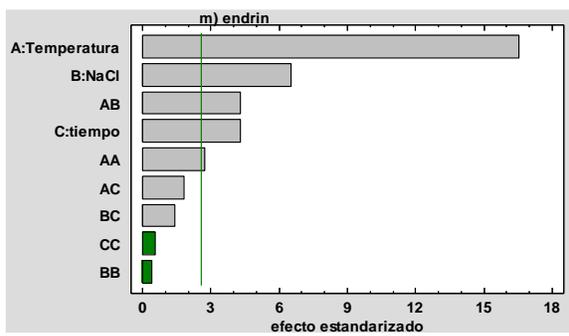
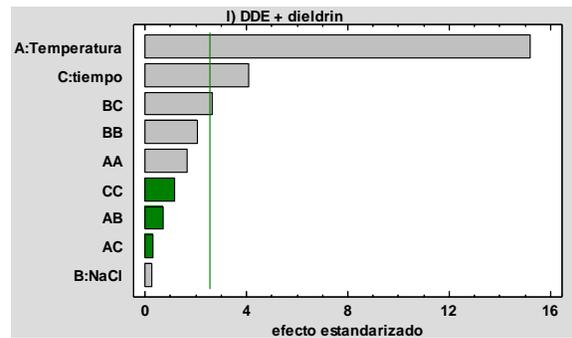
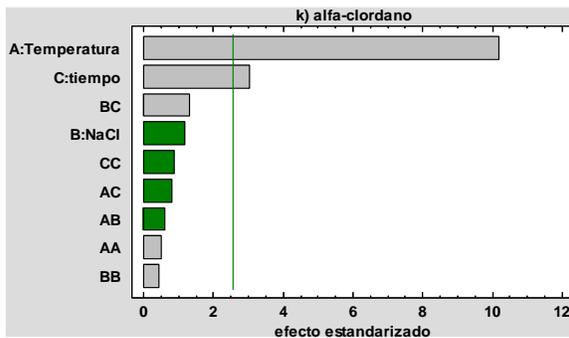
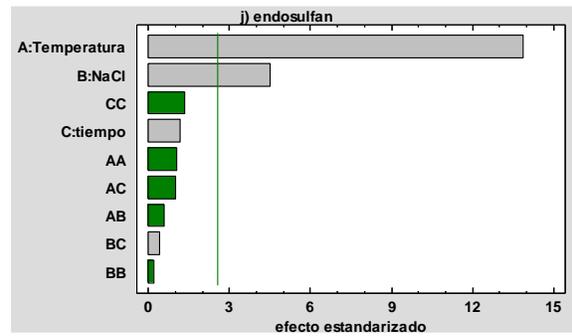
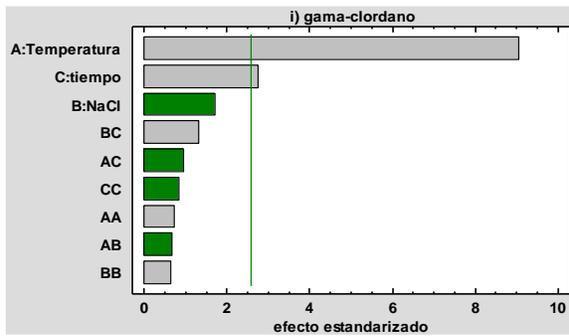
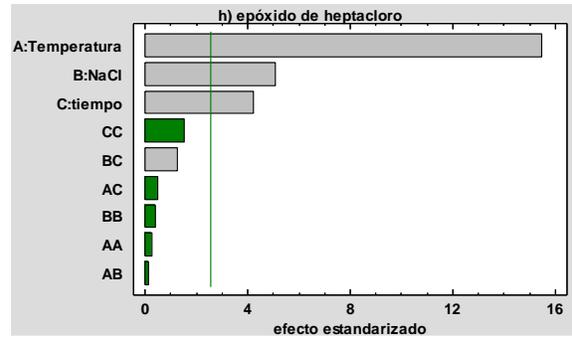
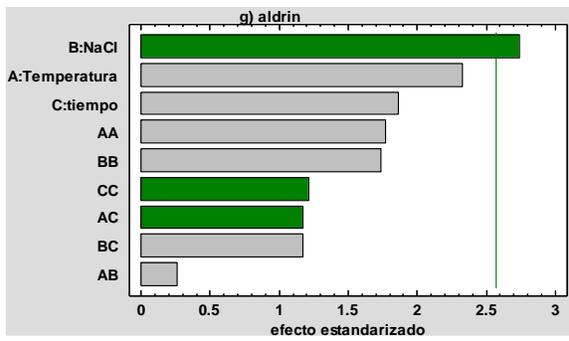


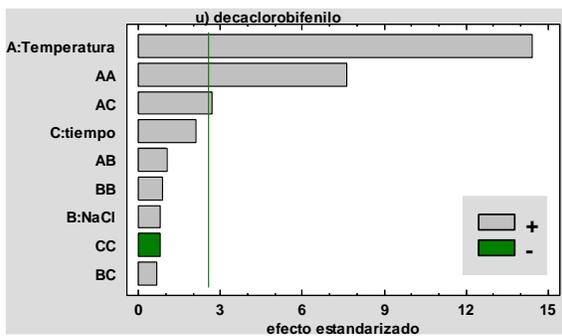
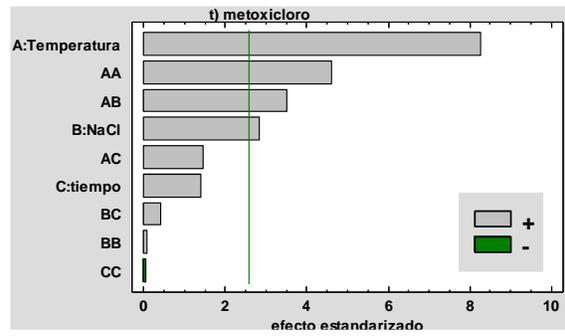
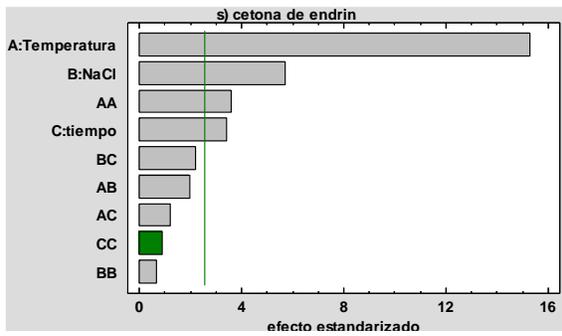
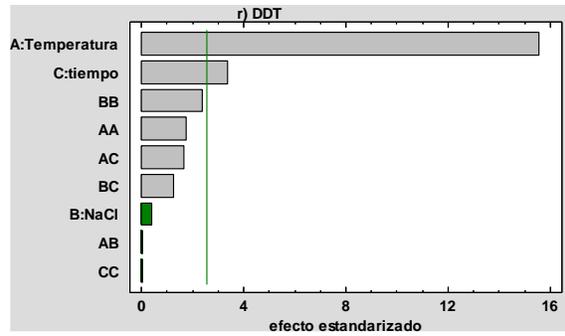
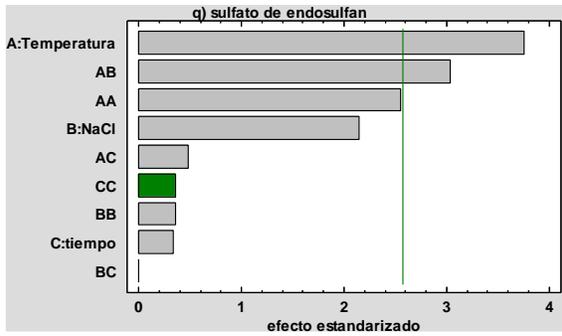
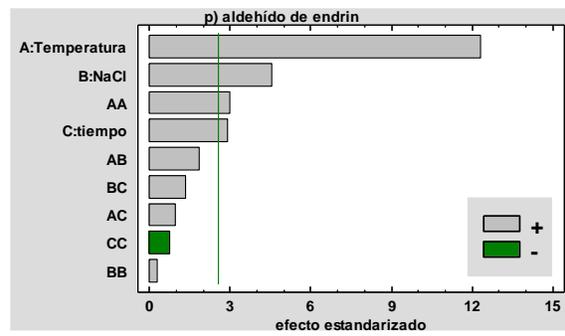
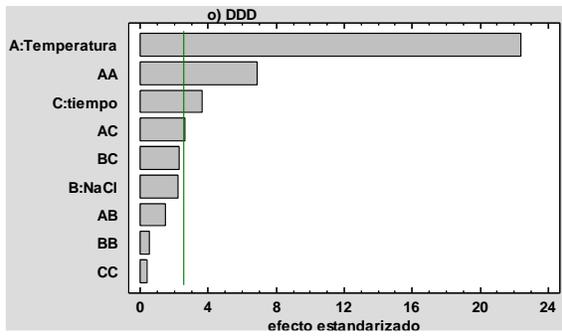


Anexo 3. Diagramas de Pareto estandarizados para la SPME de plaguicidas organoclorados.

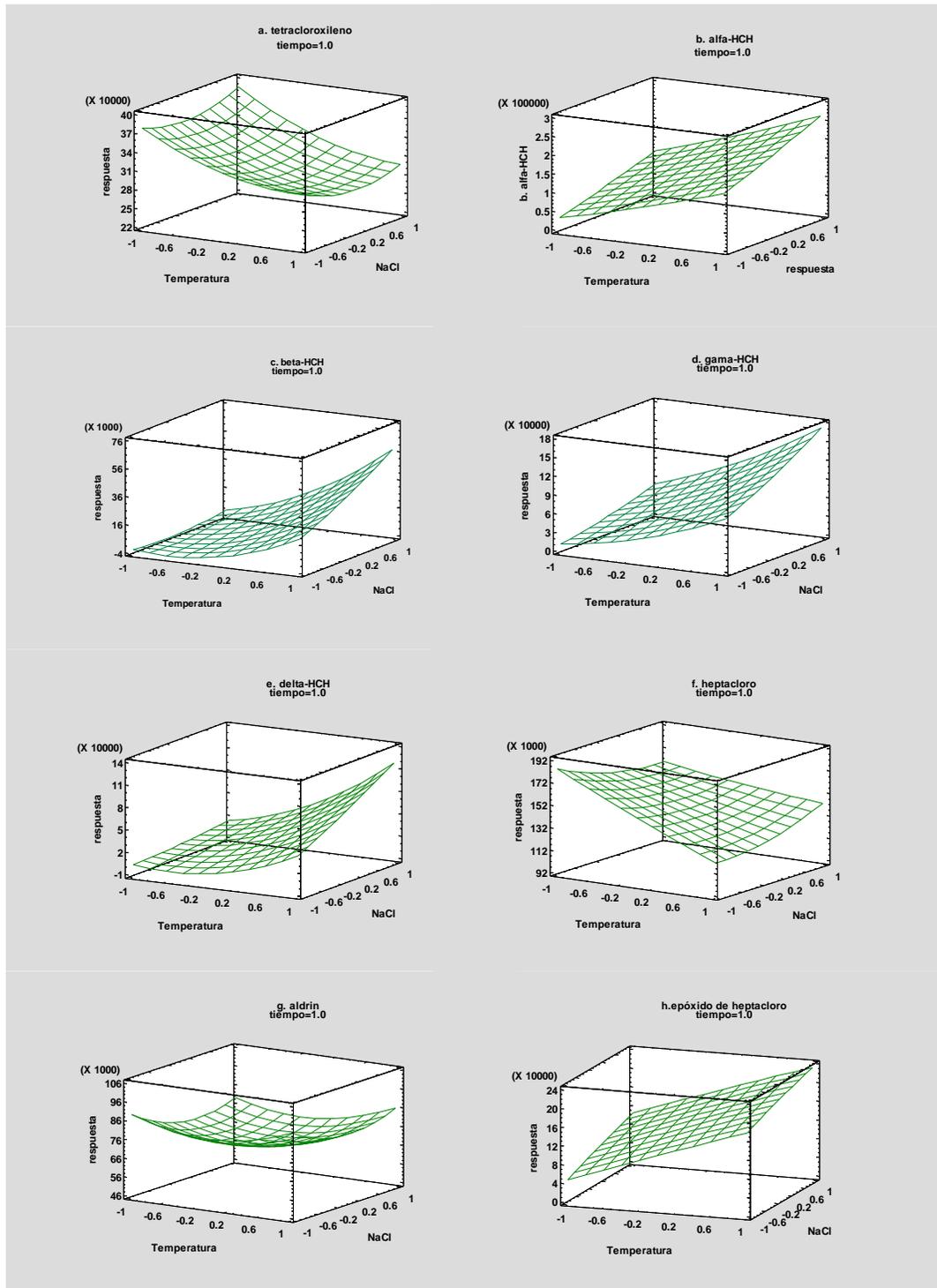
Un diagrama de Pareto es un gráfico de barras que representa los efectos ordenados en forma descendente de acuerdo con su magnitud absoluta, es estandarizado cuando se representan los efectos divididos entre su error estándar. Es una forma práctica de ver qué factores tienen un mayor efecto en la variable de respuesta.⁴⁷

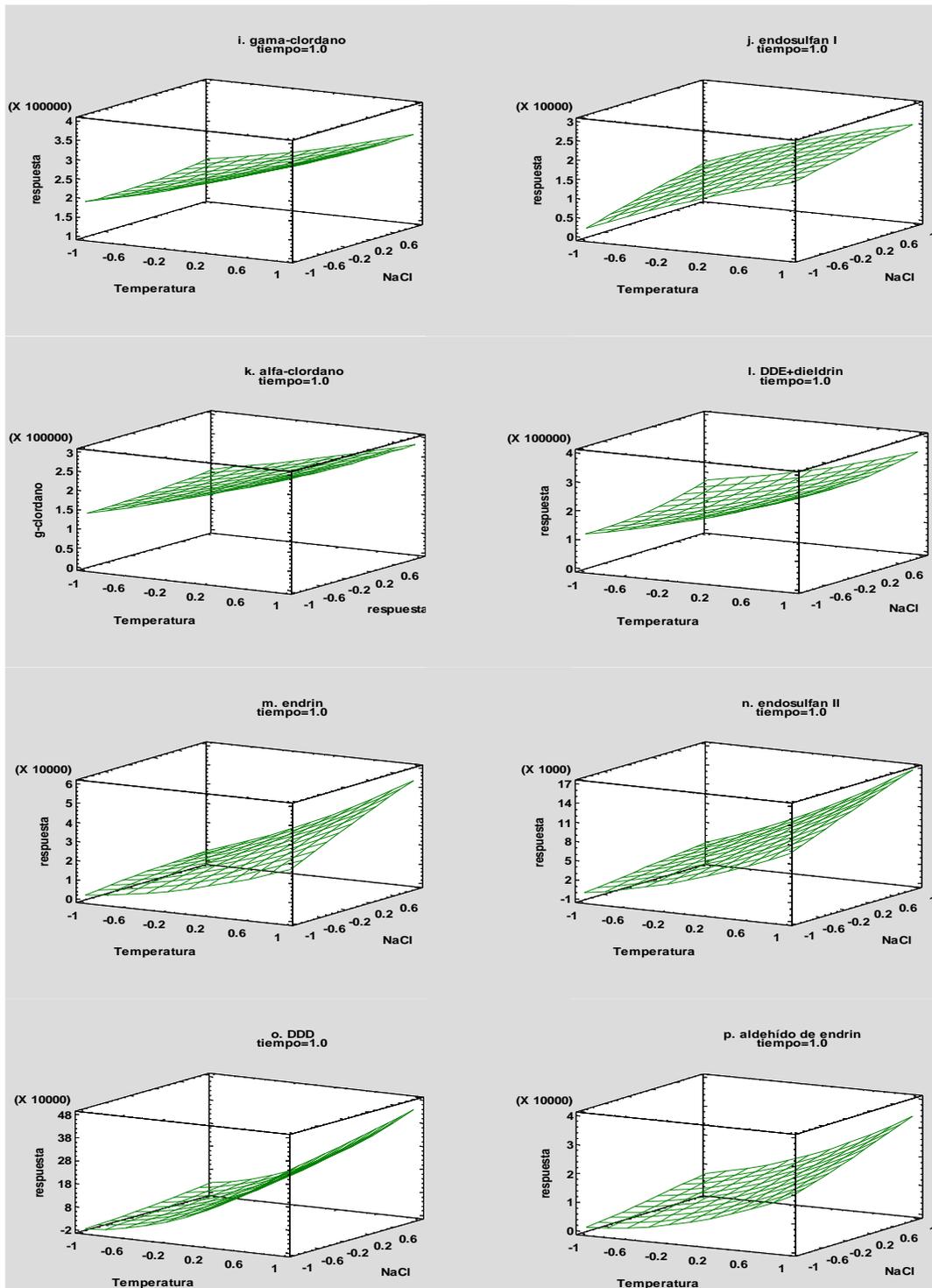




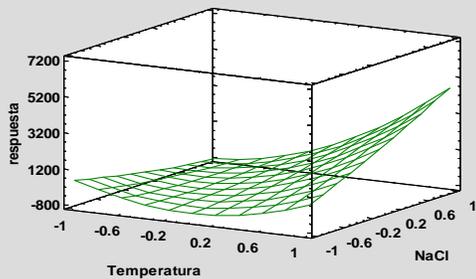


Anexo 4. Gráficos de superficie de respuesta de cada analito.

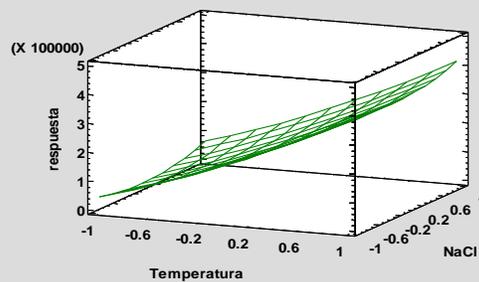




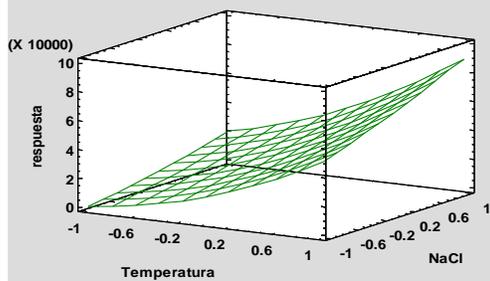
q. sulfato de endosulfan
tiempo=1.0



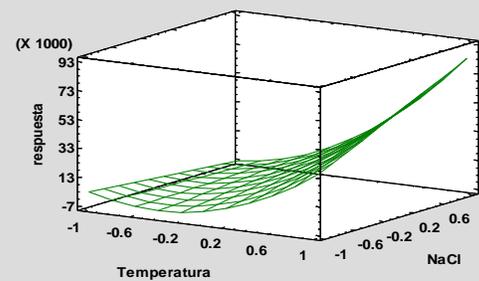
r. DDT
tiempo=1.0



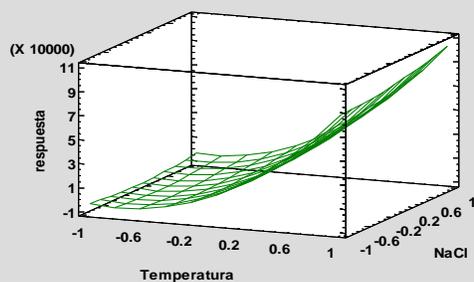
s. cetona de endrin
tiempo=1.0



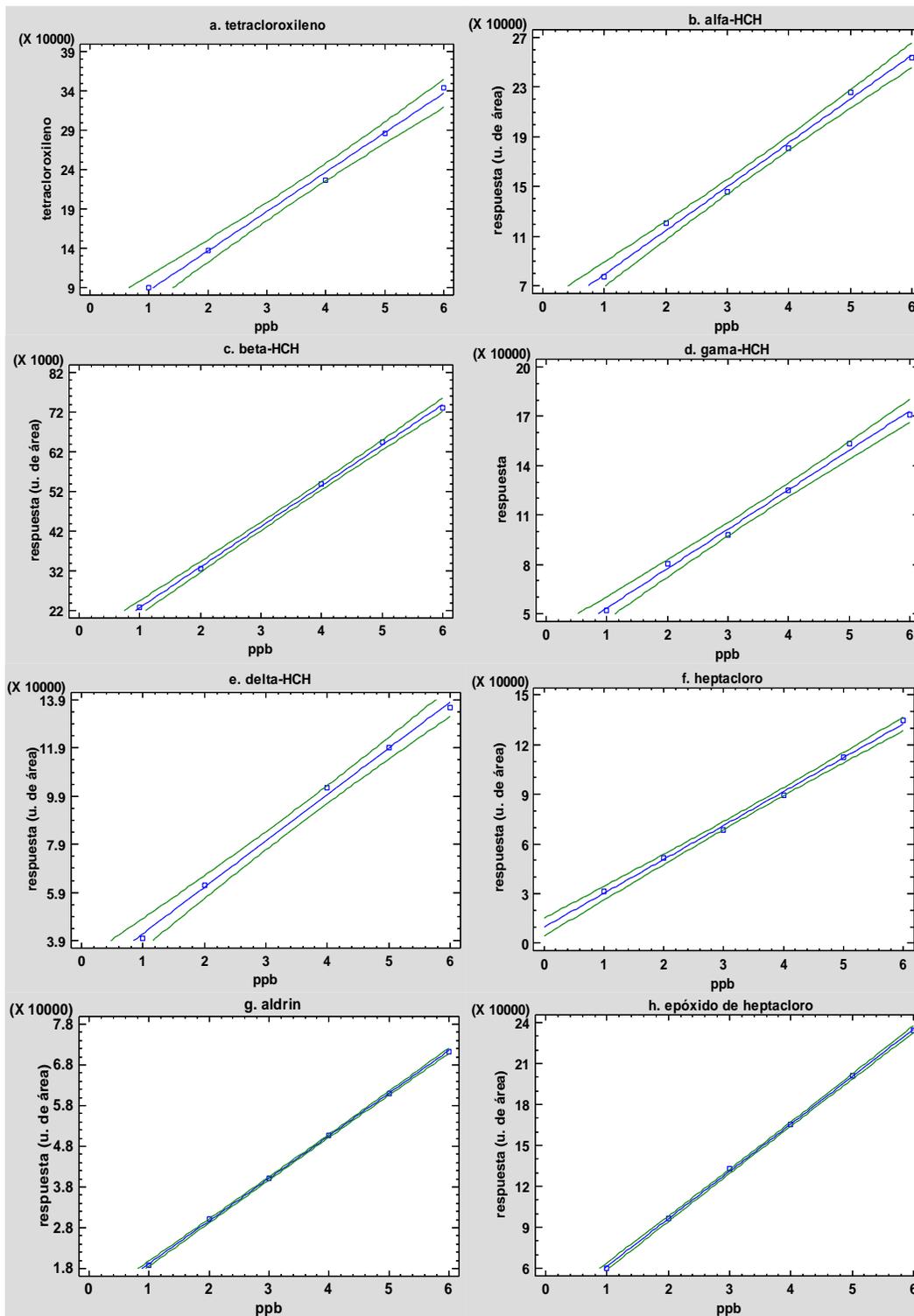
t. metoxicloro
tiempo=1.0

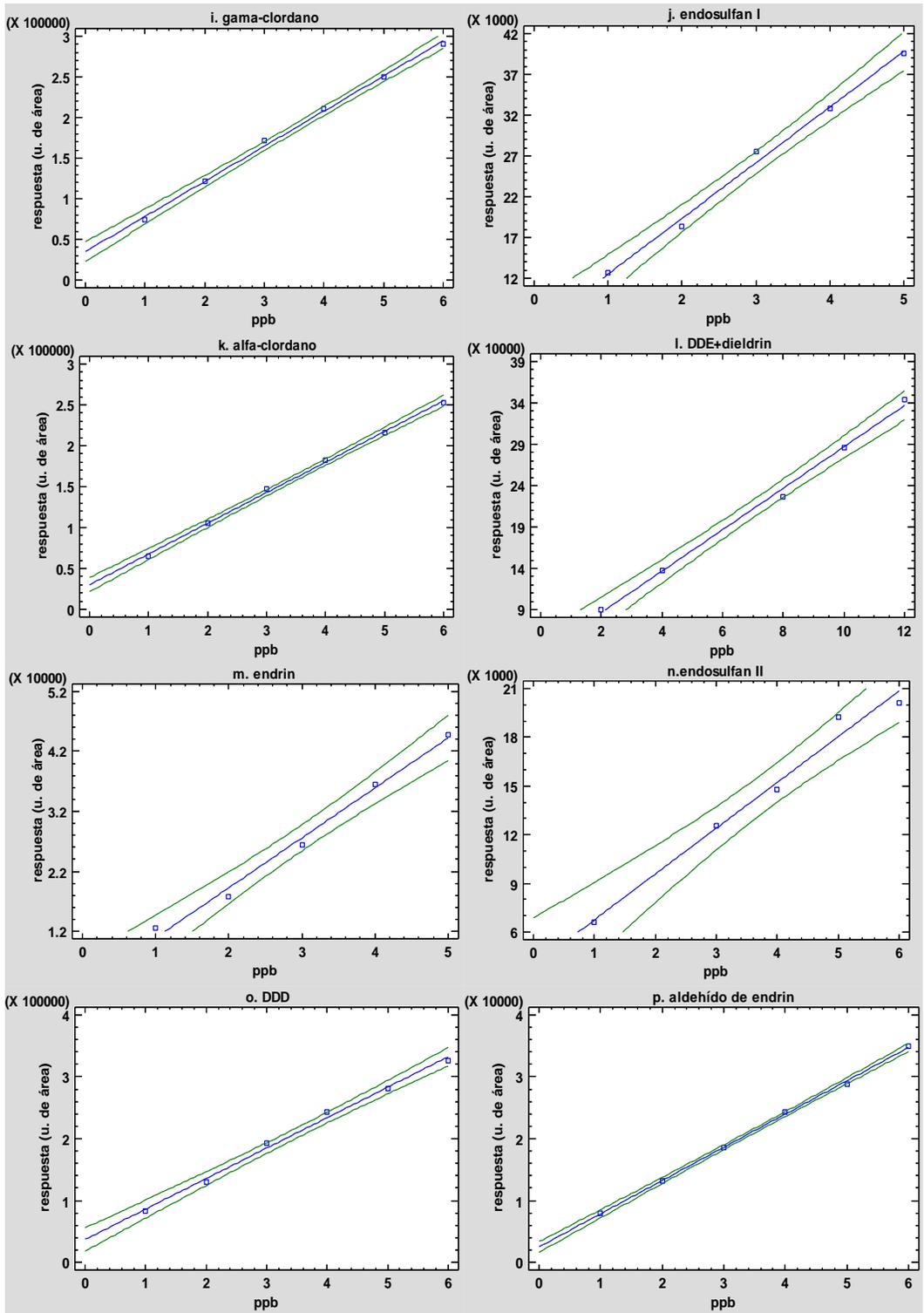


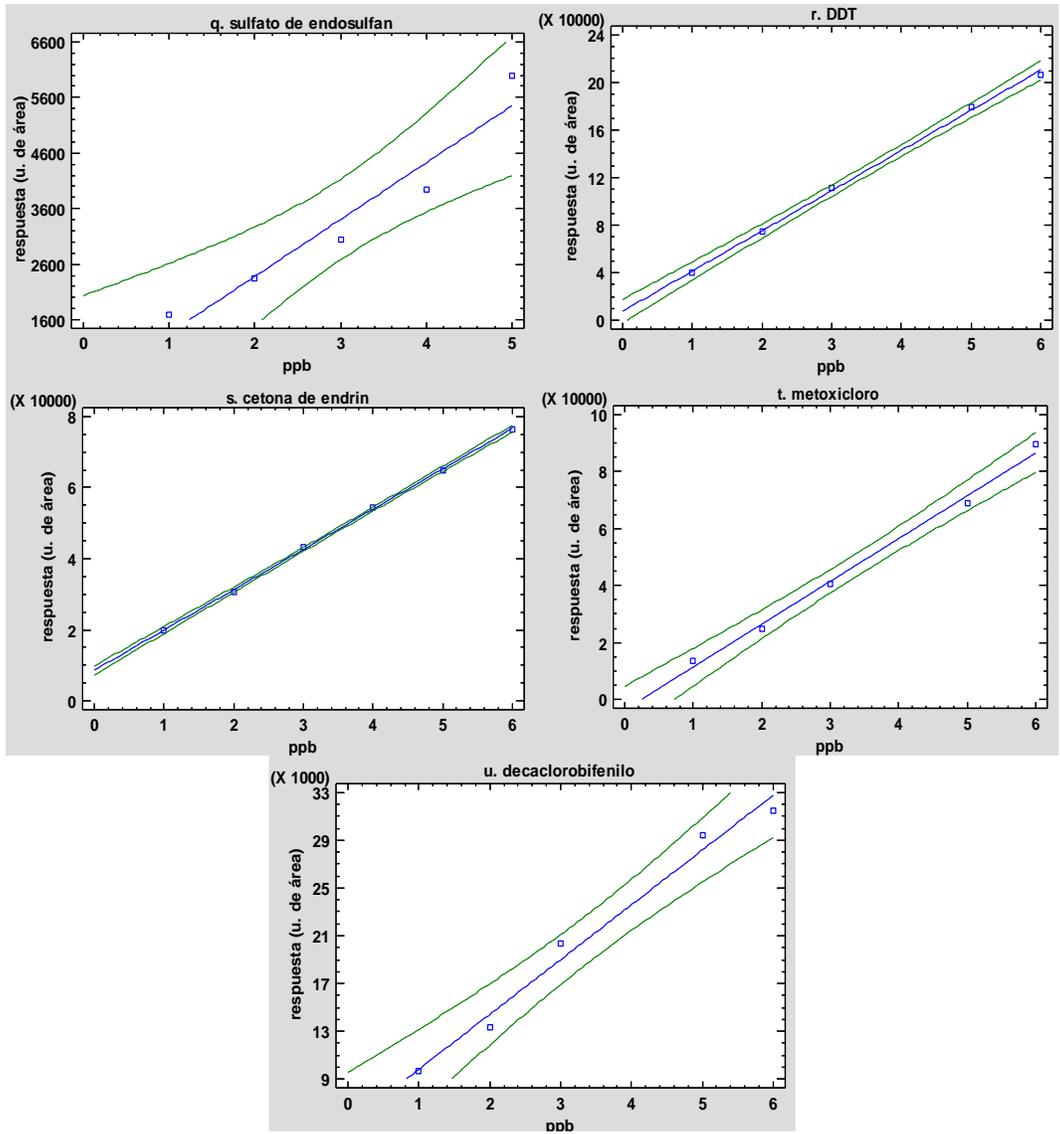
u. decaclorobifenilo
tiempo=1.0



Anexo 5. Curvas de calibración.







Referencias

1. OMS. Agua. Notas descriptivas. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>. Published 2019. Accessed August 20, 2019.
2. Carr G, Neary J, Hodgson K. *Water Quality for Ecosystem and Human Health*. 2a edición. (Robarts R, Barker S, eds.). UNEP GEMS, ERCE, UNESCO; 2008.
3. *Guías Para La Calidad Del Agua Potable. Volumen 1: Recomendaciones*. 3a edición. Genève: Organización Mundial de la Salud; 2006.
4. Los Objetivos de Desarrollo del Milenio en México. Informe de avances 2015. Biblioteca de Publicaciones Oficiales del Gobierno de la República. <https://www.gob.mx/publicaciones/es/articulos/los-objetivos-de-desarrollo-del-milenio-en-mexico-informe-de-avances-2015?idiom=es>. Published 2018. Accessed August 15, 2019.
5. *Transformar Nuestro Mundo: La Agenda 2030 Para El Desarrollo Sostenible*. Organización de las Naciones Unidas; 2015.
6. *Estadísticas Del Agua En México*. Ciudad de México: CONAGUA, SEMARNAT; 2018.
7. Schwarzenbach RP, Escher BI, Fenner K, et al. The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science (80-)*. 2006;313(5790):1072-1077. doi:10.1126/science.1127291
8. Pi Y, Li X, Xia Q, et al. Adsorptive and photocatalytic removal of Persistent Organic Pollutants (POPs) in water by metal-organic frameworks (MOFs). *Chem Eng J*. 2018;337:351-371. doi:10.1016/j.cej.2017.12.092

9. Kallenborn R. Persistent organic pollutants (POPs) as environmental risk factors in remote high-altitude ecosystems. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety*. ; 2006. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.02.016
10. Verhaert V, Newmark N, D'Hollander W, et al. Persistent organic pollutants in the Olifants River Basin, South Africa: Bioaccumulation and trophic transfer through a subtropical aquatic food web. *Sci Total Environ*. 2017;586:792-806. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.02.057
11. *Convenio de Estocolmo Sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)*; 2009.
12. Fry K, Power MC. Persistent organic pollutants and mortality in the United States. *Environ Heal*. 2017;16(105). doi:10.1186/s12940-017-0313-6
13. Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas. 2014.
14. *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009*. OMS, IPCS; 2010.
15. Bejarano F, Aguilera D, Álvarez J, et al. *Los Plaguicidas Altamente Peligrosos En México*. 1a edición. Estado de México: RAPAM; 2017.
16. Karasali H, Maragou N. Pesticides and Herbicides: Types of Pesticide. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Inc.; 2015:319-325. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00535-3
17. Zacharia JT. *Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides, Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis*. (Stoytcheva M, ed.). InTech; 2011. www.intechopen.com.

18. Hornsby A, Wauchope R, Herner A. *Pesticide Properties in the Environment*. 1a edición. Springer; 1996. doi:10.1007/978-1-4612-2316-0
19. Herner AE. The USDA-ARS Pesticide Properties Database: A Consensus Data Set for Modelers. *Source Weed Technol.* 1992;6(3):749-752.
20. *MODIFICACION a La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua Para Uso y Consumo Humano. Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a Que Debe Someterse El Agua Para Su Potabilización*. Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Salud; 2000.
21. *Guidelines for Drinking-Water Quality: Fourth Edition Incorporating the First Addendum*. Organización Mundial de la Salud; 2017.
22. *Anexos de La Propuesta de Directiva Del Parlamento Europeo y Del Consejo Relativa a La Calidad de Las Aguas Destinadas Al Consumo Humano (Versión Refundida)*. Comisión Europea; 2017.
23. De Koning S, Janssen H-G, Brinkman UAT. Modern Methods of Sample Preparation for GC Analysis. *Chromatographia*. 2009. doi:10.1365/s10337-008-0937-3
24. Christian GD. *Química Analítica (6a. Ed.)*. McGraw-Hill Interamericana; 2009. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/udlasp/detail.action?docID=3214376>. Accessed September 2, 2019.
25. Louch D, Motlagh S, Pawliszyn J. Dynamics of Organic Compound Extraction from Water Using Liquid-Coated Fused Silica Fibers. *Anal Chem*. 1992;64(10):1187-1199. doi:10.1021/ac00034a020
26. Díaz LA. Implementación de técnicas de preparación de muestras

miniaturizadas y su aplicación en el análisis ambiental y biológico: agua, sedimento y pescado. 2019.

27. Workman J, Creasy KE, Doherty S, et al. Process Analytical Chemistry. *Anal Chem.* 2001;73:2705-2718. doi:10.1021/ac010364p
28. Tobiszewski M, Mechlinska A, Zygmunt B, Namiesnik J. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. *Trends Anal Chem.* 2009;28(8). doi:10.1016/j.trac.2009.06.001
29. Moreda-Piñeiro J, Moreda-Piñeiro A. Recent advances in combining microextraction techniques for sample pre-treatment. *Trends Anal Chem.* 2015;71:265-274. doi:10.1016/j.trac.2015.02.025
30. Wille K, De Brabander HF, De Wulf E, Van Caeter P, Janssen CR, Vanhaecke L. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. *Trends Anal Chem.* 2012;35:87-108. doi:10.1016/j.trac.2011.12.003
31. Van Leeuwen SPJ, De Boer J. Advances in the gas chromatographic determination of persistent organic pollutants in the aquatic environment. *J Chromatogr A.* 2008;1186:161-182. doi:10.1016/j.chroma.2008.01.044
32. Harvey D. *Modern Analytical Chemistry.* McGraw-Hill; 2000.
33. Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal Chem.* 1990;62(19):2145-2148.
34. Arthur CL, Killam LM, Buchholz KD, Pawliszyn J, Berg JR. Automation and Optimization of Solid-Phase Microextraction. *Anal Chem.* 1992;64(17):1960-1966. doi:10.1021/ac00041a034

35. Peñalver Hernando AM. Aplicación de la Microextracción en Fase Sólida al Análisis Medioambiental. 2002.
36. Magdic S, Pawliszyn JB. Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *J Chromatogr A*. 1996;723(1):111-122.
doi:10.1016/0021-9673(95)00857-8
37. Ouyang G, Jiang R. *Solid Phase Microextraction Recent Developments and Applications*. Alemania: Springer; 2017. doi:10.1007/978-3-662-53598-1
38. Ann Scheppers Wercinski S. *SOLID PHASE MICROEXTRACTION. A PRACTICAL GUIDE*. Taylor & Francis Group; 1999. <http://www.taylorandfrancis.com>.
39. Górecki T, Pawliszyn J. Sample Introduction Approaches for Solid Phase Microextraction/Rapid GC. *Anal Chem*. 1995;67(18):3265-3274.
doi:10.1021/ac00114a025
40. Vas G, Vékey K. Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J Mass Spectrom*. 2004;39(3):233-254. doi:10.1002/jms.606
41. Pawliszyn J. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. 1a edición. Elsevier; 2012. doi:10.1016/B978-0-12-416017-0.00003-6
42. Domínguez I, Romero González R, Arrebola Liébanas FJ, Martínez Vidal JL, Garrido Frenich A. Automated and semi-automated extraction methods for GC-MS determination of pesticides in environmental samples. *Trends Environ Anal Chem*. 2016;12:1-12. doi:10.1016/j.teac.2016.09.001
43. Olariu RI, Vione D, Grinberg N, Arsene C. Sample preparation for trace analysis by chromatographic methods. *J Liq Chromatogr Relat Technol*.

2010;33:1174-1207. doi:10.1080/10826076.2010.484371

44. *NMX-AA-071-SCFI-2018 Análisis de Agua-Medición de Plaguicidas Organoclorados Por Cromatografía de Gases, Extracción En Fase Sólida (SPE) o Extracción Líquido/Líquido Con Detector de Captura de Electrones (DCE) o Espectrómetro de Masas (EM)*. Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Economía; 2018.
45. Risticovic S, Vuckovic D, Lord HLH, Pawliszyn J. Solid-Phase Microextraction. In: *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*. Vol 2. Elsevier; 2012:419-460. doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.10055-9
46. Boyaci E, Rodríguez-Lafuente Á, Gorynski K, et al. Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. *Anal Chim Acta*. 2015;873:14-30. doi:10.1016/j.aca.2014.12.051
47. Gutiérrez H, Salazar R. *Análisis y Diseño de Experimentos*. 3a edición. México: McGraw-Hill; 2012.
48. Prichard E, Magnusson B, Patriarca M, et al. *Terminology in Analytical Measurement-Introduction to VIM 3 First Edition 2011 Editors Vicki Barwick (LGC, UK)*; 2011. www.eurachem.org. Accessed October 29, 2019.
49. Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM). *CENAM BIPM*. 2008.
50. Guía Eurachem. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. 2016.

www.eurachem.org.

51. Almeida M, Erthal R, Padua E, Silveira L, Am L. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 2008;76:965-977. doi:10.1016/j.talanta.2008.05.019

52. *Criterios Para La Validación de Métodos Físicoquímicos*. Estados Unidos Mexicanos: Comisión De Control Analítico Y Ampliación De Cobertura, Secretaría de Salud; 2011.
<http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfq032011.pdf>.