



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**APLICACIÓN DE LA MICRO TÉCNICA DE EXTRACCIÓN EN FASE
SÓLIDA SPME EN LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS
CONTENIDOS EN MATRICES ACUOSAS**

Tesis

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA**

PRESENTA

AIDEE SAMANTA VARGAS HERNÁNDEZ

ASESOR

DR. JOSÉ ELÍAS BECERRIL BRAVO



Ciudad de México

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: FRANCISCO ROJO CALLEJAS

VOCAL: JOSÉ DE JESÚS GARCÍA VALDÉS

SECRETARIO: JOSÉ ELÍAS BECERRIL BRAVO

1ER. SUPLENTE: XOCHIHUÉTZAL GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

2DO. SUPLENTE: JUAN ROLANDO VÁZQUEZ MIRANDA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM.

ASESOR:

Dr. José Elías Becerril Bravo

SUSTENTANTE:

Aidee Samanta Vargas Hernández

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM, que cuenta con certificado de conformidad por implementar y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad de acuerdo a los requisitos establecidos en la norma internacional ISO 9001:2015.

No. De Certificado CMX C SGC 155 2017. Vigencia hasta noviembre de 2020

Otorgado por Certificación Mexicana, S.C.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme las herramientas necesarias para formarme como profesionista.

Al Instituto de Ingeniería, al Laboratorio de Ingeniería Ambiental, y al Dr. José Elías Becerril Bravo por brindarme el apoyo, el espacio, así como el uso de instrumentos y reactivos necesarios para el desarrollo de este proyecto de tesis.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico UNAM a través del programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME), por apoyar la investigación.

ÍNDICE

ÍNDICE	5
LISTA DE GRÁFICAS	8
LISTA DE TABLAS	9
LISTA DE FIGURAS.....	11
INDICE DE ABREVIATURAS.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS Y PREGUNTA GENERAL	4
2.1 Objetivo general	4
2.2 Objetivos particulares.....	4
2.3 Pregunta general	4
3. HIPOTESIS.....	5
4. MARCO TEÓRICO	6
4.1 ¿Qué es un contaminante acuoso?.....	6
4.2 Los orígenes de la contaminación	6
4.2.1 Plaguicidas como contaminantes.....	7
4.2.2 Contaminantes Emergentes (CE)	8
4.2.3 Transporte ambiental de los contaminantes	9
4.2.4 Disrupción endócrina en matrices acuosas	11
4.2.5 La agricultura y el uso de plaguicidas en México.....	13
4.3 La contaminación en el Valle del mezquital	16
4.3.1 Manantial Cerro Colorado	19
4.4 Analitos de estudio	20
4.4.1 Propiedades fisicoquímicas y ecotoxicológicas de los plaguicidas de estudio.....	23
4.5 La calidad del agua en México.....	31
4.5.1 Regulación ambiental de los plaguicidas estudiados.....	32
4.5.2 Normas para la calidad del agua en México	35
4.5.3 Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994.....	36

4.6	Técnicas analíticas para análisis ambiental	40
4.7	Micro Extracción en Fase Sólida, SPME	43
4.7.1	Coeficiente de reparto en la Microextracción en Fase Sólida	45
4.7.2	Etapa 1. Proceso de extracción	48
4.7.2.1	Condiciones de extracción	49
4.7.2.2	Tipos de extracción: DI-SPME Y HS-SPME	49
4.7.2.2.1	SPME por Inmersión Directa (DI-SPME)	51
4.7.2.2.2	SPME por espacio de cabeza (HS-SPME)	52
4.7.2.3	Temperatura de extracción	54
4.7.2.4	Tipos de fase extractante en SPME	55
4.7.2.5	Agitación	59
4.7.2.6	Tiempo de extracción	60
4.7.2.7	Fuerza iónica y pH	61
4.7.2.8	Derivatización	62
4.7.3	Etapa 2. Proceso de desorción	62
4.7.3.1	Temperatura de desorción	63
4.7.3.2	Tiempo de desorción	64
4.8	Análisis cromatográfico en SPME	64
5.	MATERIAL Y METODOLOGÍA	67
5.1	MATERIAL	67
5.1.1	Estándares Analíticos	67
5.1.2	Reactivos	67
5.1.3	Instrumentos	67
5.1.4	Sitios de muestreo	68
5.2	Metodología	68
5.2.1	Preparación de disoluciones estándar	68
5.2.2	Preparación de las disoluciones para SPME	69
5.2.3	Especificaciones cromatográficas	69
5.2.4	Optimización de SPME	70
5.2.4.1	Tipo de fase	71
5.2.4.2	Tipo de extracción	71
5.2.4.3	Temperatura de extracción	71
5.2.4.4	Tiempo de extracción	72
5.2.4.5	Saturación de sal	72
5.2.4.6	Tiempo de desorción	72
5.2.5	Acondicionamiento de los recipientes para muestreo	73
5.2.6	Parámetros de calidad y determinación de los contaminantes en las muestras	73
6.	RESULTADOS	74
6.1	Condiciones cromatográficas	74
6.2	Optimización del método	79
6.2.1	Tipo de fase extractante	80
6.2.2	Temperatura de extracción	81
6.2.3	Tiempo de extracción	83

6.2.4	Tipo de extracción	85
6.2.5	Saturación con Cloruro de Sodio	85
6.2.6	Tiempo de desorción	86
6.3	Parámetros de calidad	89
6.4	Determinación de los contaminantes en las muestras	96
7.	CONCLUSIONES	100
	ANEXO I. AGRICULTURA Y PLAGUICIDAS EN MÉXICO	102
	ANEXO II. DIAGRAMAS DE RESIDUALES DE CADA CURVA DE CALIBRACIÓN	105
	ANEXO III. INCIDENCIA DE LOS ANALITOS EN MATRICES ACUOSAS.....	107
8.	REFERENCIAS	110

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 4-1. Consumo aparente de plaguicidas. Para mayores datos, ver Anexo 1. Indicadores del consumo aparente y comercialización de plaguicidas en México.

Gráfica 4-2. Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera (Toneladas) (INEGI, 2018). Elaboración propia.

Gráfica 4-3. Efecto en la variación del tiempo de extracción con la respuesta del instrumento analítico. Este efecto está directamente relacionado con la cantidad de analito extraída. Tomada de Peñalver, 2002.

Gráfica 6-1. Rampa de calentamiento utilizada.

Gráfica 6-2. Pruebas para la optimización del tipo de fase extractante. (PDMS/DVB de 65 μm , PDMS 100 μm y PA de 85 μm).

Gráfica 6-3. Pruebas para la optimización de la temperatura de extracción a 18°C, 30°C, 50°C y 70°C.

Gráfica 6-4. Pruebas para la optimización de la temperatura de extracción a 25°C, 30°C y 35°C. Las pruebas a 30°C se repitieron en el laboratorio a la misma concentración de los demás analitos.

Gráfica 6-5. Pruebas para la optimización del tiempo de extracción a 15, 20, 25 y 30 minutos.

Gráfica 6-6. Pruebas para la optimización de la saturación con sal NaCl al 50, 60, 70, y 80%

Gráfica 6-7. Pruebas para la optimización del tiempo de desorción

Gráfica 6-8. Curva de calibración para pentaclorofenol

Gráfica 6-9. Curva de calibración para atrazina

Gráfica 6-10. Curva de calibración para metolacloro

Gráfica 6-11. Curva de calibración para hexaclorobenceno

Gráfica 6-12. Curva de calibración para vinclozolin

LISTA DE TABLAS

Tabla 4-1. Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera en toneladas, de 2007 a 2018. (INEGI, 2018)

Tabla 4-2 Analitos estudiados en el proyecto

Tabla 4-3. Propiedades fisicoquímicas de los analitos de estudio

Tabla 4-4. Datos ecotoxicológicos de los analitos de estudio

Tabla 4-5. Límite Máximo Permisible en agua potable

Tabla 4-6. Comercialización y uso permitido de plaguicidas

Tabla 4-7. Límites permisibles de plaguicidas.

Tabla 4-8. Reactivos y sus volúmenes a usar en el muestreo, además del uso de la LLE y separación por florisil activado para la determinación cuantitativa de dichos contaminantes

Tabla4-9. Protocolos utilizados en diferentes técnicas de preparación de muestras: extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE) y microextracción en fase sólida (SPME). (Alpendurada, 2000).

Tabla 4-10. Tipos de fases comerciales en SPME.

Tabla 6-1. Programa de la rampa de calentamiento

Tabla 6-2. Tiempos de retención y iones seleccionados para programar el modo SIM de cada analito.

Tabla 6-3. Condiciones de cada experimento en su optimización. Cada variable se numera en el orden en que se optimizó.

Tabla 6-4. Condiciones del método optimizado (SPME; GC-MS)

Tabla 6-5. Parámetros de validación (R^2 : coeficiente de determinación, LOD: Limite de Detección, LOQ: límite de cuantificación, m: pendiente de recta, b: ordenada al origen).

Tabla 6-6. Parámetros de validación %R (porcentaje de recobro) y %DER (desviación estándar relativa o coeficiente de variabilidad) en dos niveles de concentración, de 30 y 50 ng mL⁻¹.

Tabla 6-7. Criterios de aceptación para el intervalo lineal y el intervalo de trabajo (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011)

Tabla 6-8. Criterios de aceptación para el porcentaje de recuperación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011).

Tabla 6-9. Criterios de aceptación para el porcentaje de recuperación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011).

Tabla 6-10. Resultados del análisis de plaguicidas en las muestras acuosas en el Valle del Mezquital.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4-1. Componentes de un ciclo de agua (parcialmente) cerrado con reutilización indirecta de agua potable (Barceló y López, 2012).

Figura 4-2. Movilidad de los plaguicidas en el ambiente. Gutiérrez, H. Arregui, M. (2000).

Figura 4-3. El Valle del Mezquital. Presas usadas en el sistema hidráulico de agua residual. Elaboración propia.

Figura 4-4a. Manantial Cerro Colorado. Tomada de CONAGUA 2007-2012. 4-4b. Manantial Cerro Colorado, parte contaminada. Elaboración propia. 4-4c. Manantial Cerro Colorado, parte no contaminada. Elaboración propia. **Figura 4-5.** Esquema de las variables a controlar en una extracción con SPME

Figura 4-6a. Extracción tipo Inmersión Directa (DI-SPME, por sus siglas en inglés).

Figura 4-6b. Extracción tipo Headspace o espacio de cabeza (HS-SPME)

Figura 4-7. Reacción de equilibrio que sucede durante la DI-SPME (Propuesta propia).

Figura 4-8. Reacción de equilibrio que sucede durante la HS-SPME (Propuesta propia).

Figura 4-9. Funcionamiento de la fase extractante

Figura 4-10. Primera etapa: la extracción en la fase, tipo absorción o adsorción. Segunda etapa de la extracción: la desorción de los analitos en el inyector del cromatógrafo de gases.

Figura 6-1. Cromatograma típico de una disolución estándar con el método SPME/GC-MS.

Figura 6-2. Espectro de masas típico obtenido para hexaclorobenceno

Figura 6-3. Espectro de masas típico obtenido para atrazina

Figura 6-4. Espectro de masas típico obtenido para pentaclorofenol

Figura 6-5. Espectro de masas típico obtenido para vinclozolin

Figura 6-6. Espectro de masas típico obtenido para metolacoloro

INDICE DE ABREVIATURAS

ATR Atrazina

CE Contaminantes Emergentes

CONAGUA Comisión Nacional del Agua

FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
(Food and Agriculture Organization)

GC Cromatografía de Gases (Gass Chromatography)

HCB Hexaclorobenceno

LP Límite Permitido

MET Metolacoloro

MS Espectrometría de Masas (Mass Spectrometry)

ND No Detectado

NOM Norma Oficial Mexicana

WHO/OMS Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)

PAN Red Internacional de Acción en Plaguicidas (Pesticide Action Network)

PCP Pentaclorofenol

PNUMA Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

PPCP Productos Farmacéuticos y Productos para Cuidado Personal
(Pharmaceuticals and Personal Care Products)

PTAR Planta de Tratamiento de Agua Residual

SADER Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SDT Sólidos Disueltos Totales

SEMARNAT Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SPME Micro Extracción en Fase Sólida (Solid Phase Microextraction)

UNEP Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA (United Nations Environment Programme, UNEP)

USEPA / EPA Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency)

VIN Vinclozolin

SIM Selected Ion Monitoring (Monitorización Selectiva de Iones).

1. INTRODUCCIÓN

El impacto ambiental que las industrias tienen sobre el medio ambiente y los recursos naturales ha sido considerable. Esto es resultado del crecimiento de la producción y también gracias a que dicho crecimiento se concentró en sectores de alto impacto ambiental (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, [SEMARNAT], 2010). En el caso del agua se presentan diversos tipos de contaminación. Ésta se ha visto afectada por un sinnúmero de sustancias químicas, entre ellas, un grupo de contaminantes que ha sido de gran interés: los plaguicidas. Por un lado, los plaguicidas benefician a la producción alimentaria a través del control de plagas en las cosechas, pero por otro representan un riesgo para la salud humana y el ambiente debido a que pueden contaminar suelos, agua, sedimentos y aire (Cheng, 1990).

Ante esta problemática, se han desarrollado varios métodos analíticos con base en la Química Verde. Todos ellos tienen como objetivo determinar diferentes contaminantes en el suelo y el agua (Robles-Molina, J. et al., 2013, Quattrocchi, O., et al. 1992, Basheer, C., Chong, H. G, Hii, T. M., Lee, H. K., 2007, Rodriguez-Lafuente, Piri-Moghadam, L. Lord, Obal, y Pawliszyn, J., 2016, Regueiro, J. et. Al, 2009). Aunque se han desarrollado algunos métodos como SPE (Extracción en Fase Sólida) o LLE (Extracción en Fase Líquida), éstos implican la generación de un volumen considerable de residuos orgánicos, o bien, requieren una gran cantidad de muestra acuosa. En contraste, existen distintas técnicas que buscan generar los menores residuos posibles. En ese sentido se ha comprobado que la

SPME (Microextracción en Fase Sólida) es más sensible que la LLE para la determinación de plaguicidas en agua superficial y subterránea, además de que requiere menor cantidad de volumen de muestra. (Rodríguez-Lafuente, Piri-Moghadam, L. Lord, Obal, y Pawliszyn, J., 2016).

En el presente trabajo de investigación se realiza la determinación y cuantificación de plaguicidas en muestras de agua superficial pertenecientes al Valle del Mezquital, incluyendo el río Tula. De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua [CONAGUA] (2007-2012), el río Tula es considerado el más contaminado de México. Esto debido al sistema de drenaje de la zona industrial de la Ciudad de Tula, el área metropolitana y la Ciudad de México. Con base en esta información, tal río puede ser una fuente potencialmente contaminada con plaguicidas y sustancias consideradas como contaminantes emergentes.

Para ello se empleará un método alternativo a la extracción líquido-líquido, LLE: la micro técnica de extracción en fase sólida, SPME, para los plaguicidas *atrazina*, *pentaclorofenol*, *hexaclorobenceno*, *metolacoloro* y *vinclozolin*, considerados contaminantes al ambiente y a la salud. De éstos, particularmente tres son considerados como contaminantes emergentes (*atrazina*, *metolacoloro* y *vinclozolin*). También se pretenden determinar parámetros de validación de dicho método, con el fin de que pueda emplearse como alternativa a las técnicas de extracción líquido-líquido comúnmente empleadas.

Por otro lado, existe la necesidad de tener un carácter ambiental en todo proceso químico e industrial. El presente proyecto pretende dar un paso adelante en la Química Verde ante los procesos de validación, determinación y cuantificación de

analitos en diferentes matrices ambientales acuosas. Para esto se utilizará uno de los novedosos métodos empleados y desarrollados en micro técnicas analíticas. Además, es un impulso a considerar nuevos compuestos dañinos a la salud que no se mencionan en la NOM-127-SSA1-1994, y que, sin embargo, deben tomarse en cuenta para la calidad del agua en sus diferentes usos.

2. OBJETIVOS Y PREGUNTA GENERAL

2.1 OBJETIVO GENERAL

Optimizar la micro técnica de extracción SPME para la determinación de los plaguicidas *atrazina*, *pentaclorofenol*, *hexaclorobenceno*, *metolacloro* y *vinclozolin*, causantes de daño al medio ambiente y a la salud, en matrices acuosas, utilizando Cromatografía de Gases y Detector Selectivo de Masas.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las condiciones óptimas de las variables como el tiempo de extracción, variación de la fuerza iónica, variación del pH, tipo de fase, y temperatura de extracción o tiempo de desorción para la micro extracción en fase sólida en relación con dichos plaguicidas.
- Optimizar las condiciones instrumentales de la Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas, (GC/MS) en relación con dichos plaguicidas con el propósito de analizar el método cuantitativa y cualitativamente.
- Estandarizar los parámetros de validación del método, para su posterior aplicación a las muestras del Valle del Mezquital.
- Aplicar el método optimizado en muestras reales acuosas, pertenecientes al Valle del Mezquital, con el fin de determinar la presencia de los analitos mencionados.

2.3 PREGUNTA GENERAL

¿Cuáles son las condiciones óptimas para la determinación de la concentración de plaguicidas, dañinos al medio ambiente y a la salud, que pueden estar contenidos en muestras acuosas pertenecientes al valle del Mezquital?

3. HIPOTESIS

La micro extracción en fase sólida (SPME) es útil para la determinación de los plaguicidas *atrazina*, *vinclozolin*, *metolacloro*, *hexaclorobenceno* y *pentaclorofenol* contenidos en matrices acuosas, obteniendo resultados favorables para su determinación.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ¿QUÉ ES UN CONTAMINANTE ACUOSO?

Se considera como “*contaminante*” al exceso de materia o energía (calor) que provoque daño a los humanos, animales, plantas y bienes, o bien, que perturbe negativamente las actividades que normalmente se desarrollan cerca o dentro del agua. De esta forma, no existe una división precisa entre el agua contaminada y la no contaminada; este calificativo se atribuye en función del uso, las exigencias higiénicas y del grado de avance de la ciencia y tecnología para determinar los efectos y medir los contaminantes. A pesar de la dificultad para definir la contaminación, es claro que ésta provoca abatimiento o muerte de la flora y fauna, impide el uso del agua en industrias o ciudades y deteriora el medio ambiente, e incluso el paisaje (Jiménez, 2001, p.39).

4.2 LOS ORÍGENES DE LA CONTAMINACIÓN

Los orígenes de la contaminación son muy variados. Sin embargo, se pueden citar como causantes a distintos factores. Algunos de ellos son: los desechos urbanos e industriales, los drenados de la agricultura y de minas, la erosión, los derrames de sustancias tóxicas, los efluentes de plantas depuradoras, los subproductos de los procesos de depuración, la ruptura de drenajes y el lavado de la atmosfera, entre otros (Jiménez, 2001, p. 39).

Un ejemplo son los contaminantes antropogénicos. Se denominan así a los productos químicos sintetizados o indirectamente producidos por las actividades

humanas. Estos se han dispersado ampliamente en el ambiente. Están presentes en los cuerpos de agua superficial y subterránea, como resultado de diversas actividades. Algunas son: emisiones industriales, derrames accidentales, o la ineficiente disposición de residuos sólidos (por ejemplo la incineración y los tiraderos de basura). También contribuyen a dicha contaminación las actividades de consumo y su aplicación controlada. Las actividades de consumo incluyen la excreción y la disposición natural de una amplia gama de productos químicos, tales como los PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products). La aplicación controlada de los contaminantes considera, por ejemplo, a los plaguicidas en la agricultura, la recarga artificial del agua subterránea, y la disposición en el suelo de los lodos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. (Barreto, 2017). Las actividades de consumo se reconocieron recientemente como una fuente potencialmente importante de contaminación dispersa no controlada (Barreto, 2017).

4.2.1 PLAGUICIDAS COMO CONTAMINANTES

Los plaguicidas son sustancias o mezclas de sustancias que se destinan a controlar plagas. En éstos están incluidos los factores de enfermedades humanas y de animales, así como las especies no deseadas que interfieren con la producción agropecuaria y forestal (USEPA 2010). Dichos plaguicidas, por un lado, benefician a la producción alimentaria a través del control de plagas en las cosechas, pero por otro lado representan un riesgo para la salud humana y el ambiente debido a que pueden contaminar suelos, agua, sedimentos y aire (Cheng, 1990).

4.2.2 CONTAMINANTES EMERGENTES (CE)

Los *contaminantes emergentes* son compuestos de distinto origen y naturaleza química cuya presencia en el medio ambiente, o las posibles consecuencias hacia éste o hacia la humanidad, son relativamente poco conocidas. Por tanto, precisan investigación (Barceló y López, 2012). Este grupo incluye principalmente productos utilizados en grandes cantidades en la vida cotidiana, como productos farmacéuticos humanos y veterinarios, productos para el cuidado personal, surfactantes y residuos de surfactantes, plastificantes y diversos aditivos industriales, entre otros. La característica de estos contaminantes es que no necesitan ser persistentes en el ambiente para causar efectos negativos, ya que sus altas tasas de transformación y eliminación pueden ser compensadas por su continua introducción en el ambiente. Su emisión no está regulada, por lo que se ha convertido en un problema ambiental. Sin embargo, existe un consenso generalizado de que este tipo de contaminación puede requerir intervención legislativa (Petrovic, González y Barceló 2003).

Muchos de estos contaminantes emergentes pueden causar efectos adversos en la salud humana. Estos incluyen efectos tales como carcinogenicidad, citotoxicidad, mutagenicidad genética, malformaciones, trastornos del desarrollo neurológico y también pueden tener efectos de disrupción endocrina (Li Wei, 2018).

Diversos grupos de científicos a nivel internacional han definido entre las clases de contaminantes emergentes las que demandan una mayor atención por la escasez de datos ambientales y ecotoxicológicos y de métodos para su análisis, debido a

las posibles consecuencias por su presencia en el medio ambiente. Estas clases de contaminantes emergentes son:

- Fármacos.
- Parafinas cloradas
- Plaguicidas
- Compuestos perfluorados
- Drogas de abuso
- Metabolitos y/o productos de degradación de las clases de sustancias anteriores (Barreto, 2017).

4.2.3 TRANSPORTE AMBIENTAL DE LOS CONTAMINANTES

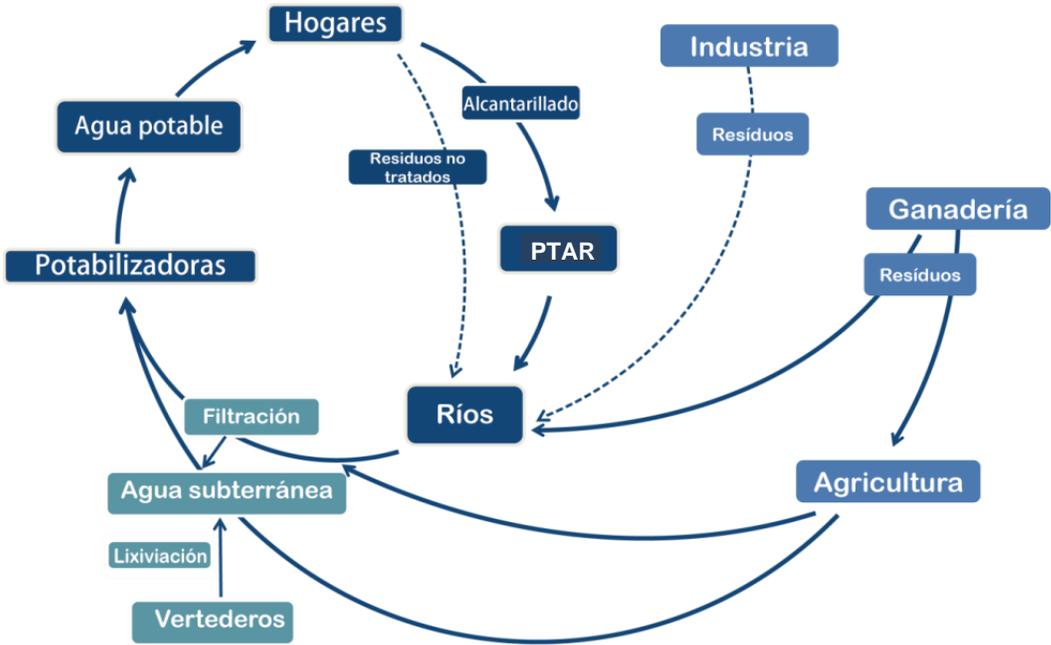
Estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos, o bien, quedan retenidas en el suelo, generando acumulación. También pueden moverse mediante transporte atmosférico, por escurrimiento, durante lluvias y riego agrícola, o por erosión de los suelos donde se aplica. Esto implica afectaciones al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica (Barceló y López, 2012).

La aparición de elementos "no deseables" y tóxicos, y la variación en las concentraciones de los constituyentes comunes, tiene su origen en el "ciclo del agua" (**Figura 4-1**). En algunas partes del ciclo, cuando confluyen distintos compartimentos ambientales y actividades humanas, es donde se produce la contaminación del agua, o mejor dicho, la alteración de su calidad (Barceló y López, 2012). De acuerdo con este ciclo, las principales vías de entrada de

contaminantes en el medio ambiente acuático son los tipos de agua residual, entre los que se incluyen los urbanos, industriales, y los de origen agrícola o ganadero. La prevalencia de uno u otro tipo de agua depende en gran medida del tipo de contaminación de que se trate y del nivel de depuración o atenuación natural (si existe) que experimentan (Barceló y López, 2012).

Por otro lado, es importante mencionar los posibles métodos de atenuación de los contaminantes. El agua que se infiltra al pasar a través de la llamada *zona no saturada del suelo* permite la atenuación de un gran número de contaminantes, pero no de todos, por lo que algunos llegan a los acuíferos. Los materiales de la zona de aireación se comportan como filtros (Barreto, 2017). En la **Figura 4-2** se presenta un diagrama que explica los efectos de los plaguicidas en el ambiente.

Figura 4-1. Componentes de un ciclo de agua (parcialmente) cerrado con reutilización indirecta de agua potable (Barceló y López, 2012).



4.2.4 DISRUPCIÓN ENDÓCRINA EN MATRICES ACUOSAS

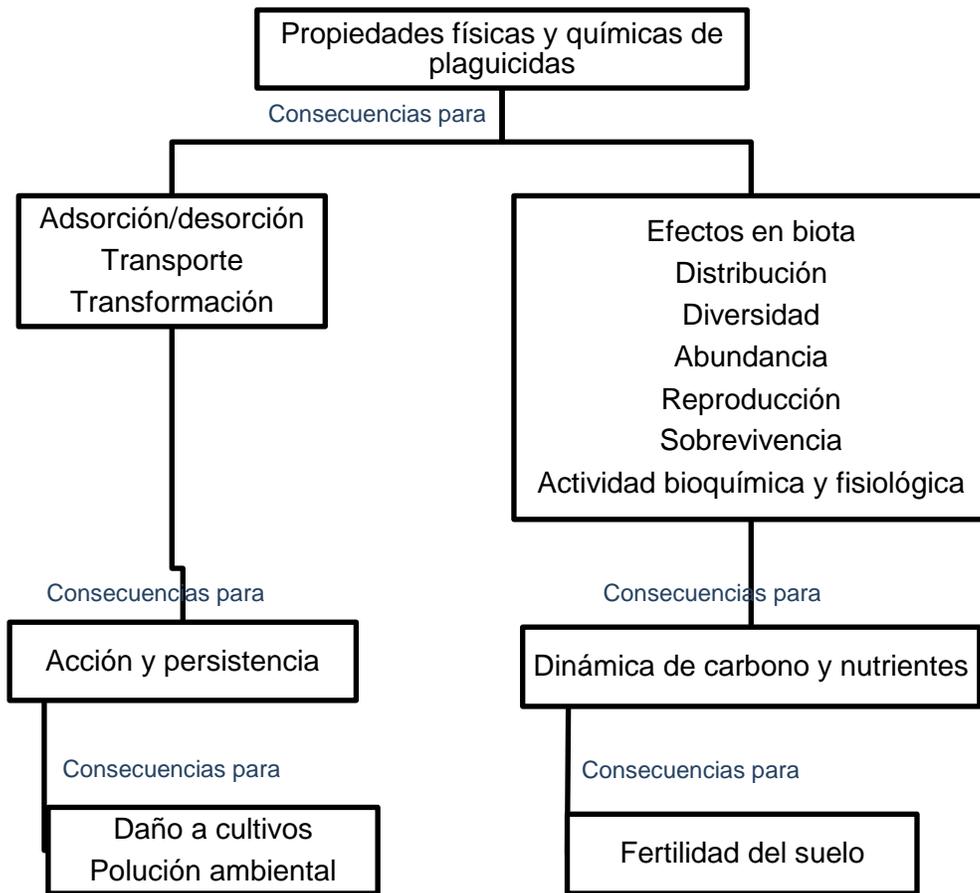
Un disruptor endocrino (DE) se ha definido como una sustancia o mezcla exógena que altera las funciones del sistema endocrino y, en consecuencia, causa efectos adversos en un organismo intacto, su progenie, o subpoblaciones (Comisión Europea, 2016). Las hormonas son sustancias químicas naturales producidas por las glándulas endocrinas, distribuidas por todo el cuerpo (hipotálamo, pineal, pituitaria, páncreas, tiroides, paratiroides, adrenales, ovarios y testículos, principalmente), y son fundamentales para la función reproductiva y esenciales para el desarrollo normal del cuerpo y el cerebro (Bejarano González, F., 2017, p. 26). Dichos disruptores ejercen sus efectos imitando o bloqueando las hormonas endógenas, alterando el patrón natural de síntesis o metabolismo, modificando los niveles de receptores, o antagonizando las hormonas normales. Todas estas consecuencias pueden conducir hacia varias enfermedades e incluso la muerte (Bejarano González, F., 2017, p27). Particularmente los plaguicidas son de gran interés porque algunos de los efectos adversos de su contaminación se debe a disrupción endócrina, en lugar de toxicidad directa.

De acuerdo al informe sobre el Estado actual de la ciencia sobre los perturbadores endocrinos químicos de la OMS y PNUMA, se conoce o se sospecha que cerca de 800 sustancias químicas presentes en el mercado son capaces de interferir con la recepción de las hormonas y su síntesis o conversión. A medida que ha ido aumentando el conocimiento de los disruptores endocrinos, también ha aumentado el interés público y político (Comisión Europea, 2016). El tema ha estado sujeto a estudios epidemiológicos de humanos y poblaciones de vida

silvestre. Sin embargo, la inmensa mayoría de los productos químicos en el mercado mundial no han sido evaluados en relación con estos efectos (WHO-UNEP Bergman A., et al. 2013:2).

Por otro lado, el prestar atención al tratamiento mejorado de potabilización del agua, tratamiento de agua residual y del sistema de alcantarillado se ha convertido en un reto en el mundo.

Figura 4-2. Movilidad de los plaguicidas en el ambiente. Gutiérrez, H. Arregui, M. (2000).



4.2.5 LA AGRICULTURA Y EL USO DE PLAGUICIDAS EN MÉXICO

El suelo agrícola es considerado uno de los recursos naturales más importantes para el proceso de desarrollo económico, pues constituye el factor fundamental para la producción de alimentos, además, para alcanzar seguridad alimentaria (Torres y Rojas, 2018). La agricultura en México, como actividad productiva, ocupa el porcentaje más importante del sector primario del país. Las cifras hablan por sí mismas: el PIB del sector primario lo conforma la agricultura con 63.4%, la ganadería con el 30.6%, el aprovechamiento forestal (3.1%), la pesca (2.6%) y los servicios relacionados (0.3%) (Gaucín, 2018). Dicho sector ha aportado en los últimos catorce años al PIB nacional total en promedio de 3.6% (**Anexo I. Gráfica I**).

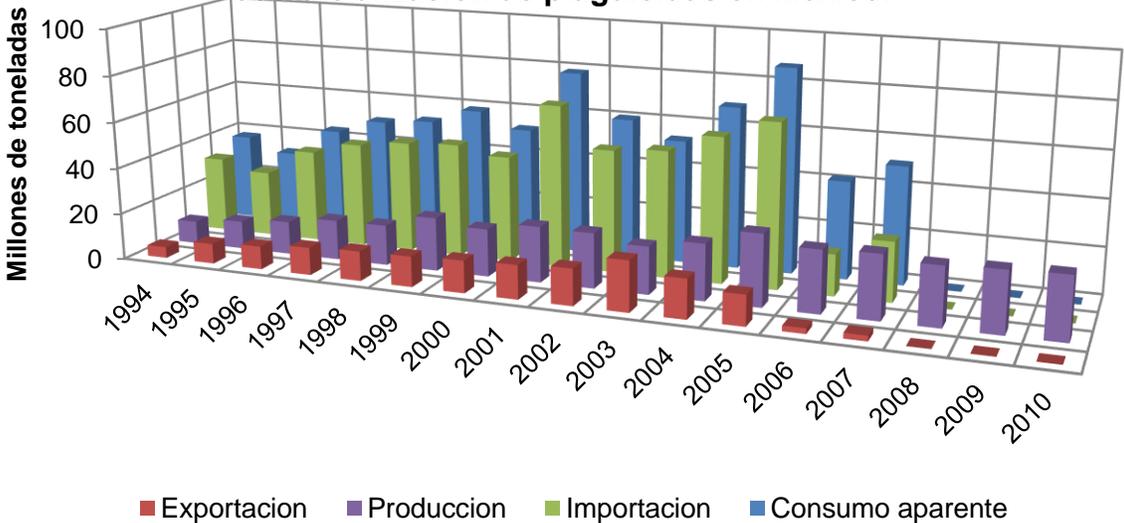
En cuanto al territorio que se destina, en México hay alrededor de 16 millones de hectáreas dedicadas al cultivo de productos de primera necesidad. Algunos de los más destacados por su importancia en la producción son caña de azúcar, naranja, plátano, limón, café, cacao, sorgo, maíz, calabaza, chile, jitomate, trigo, aguacate, frijol, alfalfa, mango, entre algunos otros. (**Anexo I. Gráfica II, III, y IV**). Para ello se utiliza alrededor del 10% de la superficie continental nacional (INEGI, 2018 y Torres, y Rojas, 2018).

Por otro lado, el *consumo aparente de plaguicidas* se mide por toneladas anuales. Este relaciona el consumo nacional con la superficie de tierras de cultivo (SARGARPA, 2004). Por lo tanto, México depende en gran parte de la importación de plaguicidas, ya que la producción y la exportación son casi similares. Aun así, la implementación de plaguicidas para el uso de suelo en la agricultura es elevada.

Es cierto que tanto la importación, exportación y por lo tanto también el consumo aparente anual de plaguicidas disminuyeron en 2006. Sin embargo, esto responde tanto a las cifras de producción de los mismos cultivos, que también se refleja en el porcentaje del PIB anual de ese año. Es decir, que el consumo aparente disminuyó, porque el sector agricultura también lo hizo (**Anexo I**).

A pesar de esta baja, podemos ver que después de 2007, la producción de insecticidas y plaguicidas se han regulado y han sido constantes en México (**Tabla 4-1, Gráfica 4-2**).

Gráfica 4-1. Consumo aparente de plaguicidas. Para mayores datos, ver Anexo I Tabla I. Indicadores del consumo aparente y comercialización de plaguicidas en México.

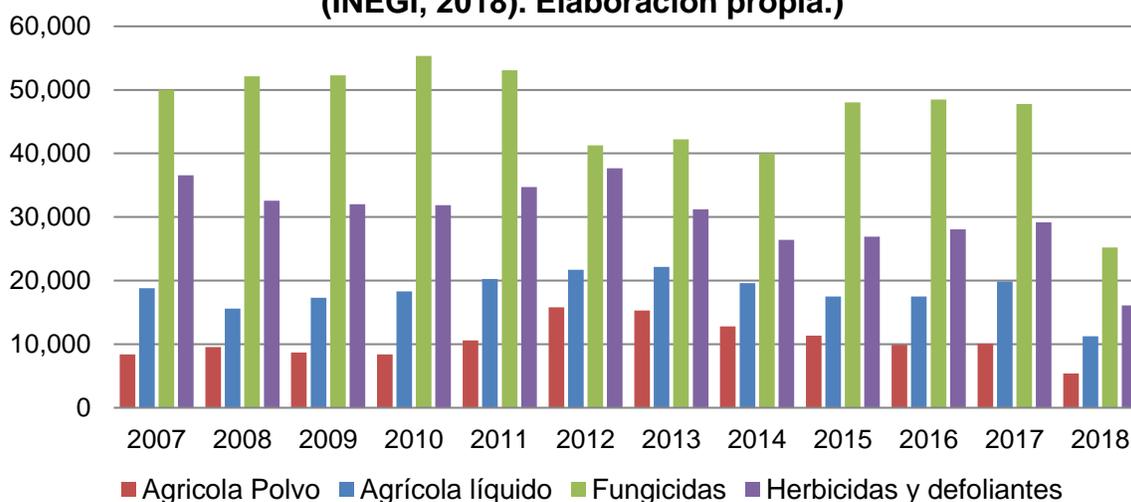


Por todo esto, se puede concluir que la producción agrícola es muy importante para México, y tiene aportaciones económicas considerables. Esto está directamente relacionado con el uso de plaguicidas y la forma que se emplean en el suelo y los cultivos.

Tabla 4-1. Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera en toneladas, de 2007 a 2018. (INEGI, 2018)

Año	Agrícola líquido	Agrícola Polvo	Fungicidas	Herbicidas y defoliantes
2007	18807	8,389	50,040	36,587
2008	15622	9,533	52,131	32,582
2009	17319	8,705	52,290	32,019
2010	18279	8,392	55,331	31,878
2011	20251	10,572	53,091	34,735
2012	21723	15,778	41,293	37,684
2013	22140	15,315	42,223	31,195
2014	19612	12,794	40,016	26,392
2015	17517	11,331	48,050	26,919
2016	17511	9,872	48,500	28,056
2017	19862	10,120	47,765	29,175
2018	11248	5,382	25,211	16,099

Gráfica 4-2. Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera (Toneladas) (INEGI, 2018). Elaboración propia.)



La disposición del suelo o de los residuos, la disposición y el manejo adecuado e inclusive la seguridad en el momento de la aplicación son muy importantes para asegurar el éxito de cada cultivo, y que se asegure que tales cultivos tengan una cosecha exitosa.

Aproximadamente el 30% del territorio hidalguense se dedica a la agricultura. Este es un valor importante, puesto que el Valle del Mezquital constituye un porcentaje alto de este territorio (lo conforman veintisiete municipios hidalguenses).

4.3 LA CONTAMINACIÓN EN EL VALLE DEL MEZQUITAL

En el ámbito Agrícola, el territorio Hidalguense cuenta con una gran diversidad de condiciones agro climáticas; las zonas del Valle del Mezquital cubren el 40% de la superficie estatal y en ellas se cultiva maíz, forrajes y hortalizas con riego (SADER, 2011). Como consecuencia, este Valle demanda una mayor cantidad de agua por el clima local (Núñez, 2015). El Valle se localiza a 80 km al norte de Ciudad de México. Pertenece al Estado de Hidalgo y abarca las regiones de Actopan, Mixquiahuala, Ixmiquilpan, Tasquillo, Tula de Allende y Alfajayucan.

Los cuerpos de agua superficial aportan cerca de 30% del total de agua para consumo humano (uso municipal) (Barreto, 2017). Estos cuerpos son altamente propensos a sufrir problemas de contaminación debido a que están expuestos a diversas fuentes que a continuación se plantean.

Un aspecto relevante en el Valle del Mezquital es que recibe aproximadamente 52 m³/s de agua residual no tratada proveniente de la Ciudad de México, cuyo tratamiento podría representar un recurso hídrico potencial, pero solo menos del 12% del agua residual tiene un tratamiento. La Ciudad de México tiene 29 PTAR

(Planta de Tratamiento de Agua Residual) con una capacidad instalada de 6,820.5 L/s y tratamiento de flujo de 3,112.8 L/s (Díaz y Peña-Álvarez, 2017). El agua residual que arriba al Valle del Mezquital desde la Ciudad de México, llega por el Gran Canal del Desagüe, el Interceptor Poniente y el Emisor Central (Díaz y Peña-Álvarez, 2017). Esta agua se utiliza para el riego de alrededor de 45 214 ha y parte se filtra al acuífero. En consecuencia, los alimentos que se generan en todo el Valle se han visto afectados, puesto que la actividad agrícola demanda agua residual por la necesidad de un abastecimiento regular que compense la escasez de agua (Núñez, 2015). Además, el 81% de los canales principales y el 52% de los canales laterales no se encuentran revestidos, lo que conlleva a una contaminación más agresiva a los cuerpos de agua, principalmente superficiales y subterráneos (Lesser-Carrillo, et al., 2011). Las aguas residuales se canalizan a través del río Tula hasta el Golfo de México en el océano Atlántico. (Díaz y Peña-Álvarez, 2017). Como resultado del balance de los cuerpos de agua subterránea, la principal entrada de agua al acuífero del Valle del Mezquital corresponde a la filtración de agua residual. Las salidas de agua del Valle del Mezquital descargan al río Tula, a través de diversos manantiales (Lesser-Carrillo, et al., 2011). El río Tula se considera como el río más contaminado en México (CONAGUA 2007-2012). Otra parte es extraída por pozos y el resto descarga hacia el norte y noreste, tanto en forma superficial (drenado por el río Salado), como subterránea (Lesser-Carrillo, et al., 2011).

Algunas de las presas del Valle de México que descarga en el Valle del Mezquital son la presa Endhó, Requena, Rojo Gómez y Aguirre (Núñez, 2015). La presa Endhó, en Hidalgo, está catalogada como fuertemente contaminada debido a que

recibe y almacena gran parte del agua residual no tratada de la Ciudad de México (Barreto, 2017).

En el año 2011 Lesser-Carrillo et al. realizaron análisis fisicoquímicos de muestras correspondientes a 65 zonas del Valle del Mezquital. Los resultados fueron comparados con los límites permisibles para agua de uso y consumo humano, establecidos en la norma oficial NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2000). Se determinó que el sodio y los Sólidos Disueltos Totales generalmente se encuentran por arriba del límite permitido. Además, de los 224 compuestos emergentes que se determinaron, 118 son originados por fármacos y productos para el cuidado personal, 7 hormonas y 99 compuestos originados por fenoles etoxilados, compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles. Los resultados de Lesser-Carrillo et al. (2011) muestran que solo 23 compuestos de los 224 fueron identificados en los pozos y 67 en los canales del Valle del Mezquital, el resto de las determinaciones dieron como resultado ND (no detectado).

Por otra parte, Page et al. (2010) realizaron un estudio de riesgo microbiológico y concluyeron que el riesgo de contaminación del acuífero es alto debido a la falta de un pretratamiento del agua residual recargada y al poco tiempo de residencia del agua descargada al acuífero. Sin embargo, la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), adjudicó en 2009 el contrato para el diseño, construcción y operación y mantenimiento al consorcio Aguas Tratadas del Valle de México (Acciona Agua, 2018). Se trata de la PTAR de Atotonilco. El consorcio está integrado por cinco empresas privadas, quienes gestionarán la planta durante 22 años (Acciona Agua, 2018). La PTAR de Atotonilco se puso en funcionamiento en

2017, y actualmente permite depurar las aguas residuales de 12,6 millones de habitantes equivalentes de la Ciudad de México. El agua tratada se reutiliza para usos agrícolas o riegos tecnificados, además de posibilitar el cambio de cultivos restringidos a no restringidos, entre otras ventajas. Tiene una capacidad nominal de tratamiento medio de $35\text{m}^3/\text{s}$ y un máximo de $50\text{m}^3/\text{s}$, incluida la evacuación final de los residuos sólidos y lodos que se generen. La planta también está dotada de un sistema de cogeneración para aprovechar el biogás producido en la digestión, permitiendo el máximo ahorro energético (Acciona-Agua, 2018). Además, la PTAR de Atotonilco reporta beneficios medioambientales para la región como el saneamiento de los cauces del río Tula y la restauración ecológica de la presa Endhó. Por lo que es necesario tener un balance actualizado de los contaminantes en el Valle del Mezquital. En la **Figura 4-3** se presenta un mapa que delimita el Valle del Mezquital y las presas instaladas en el mismo.

4.3.1 MANANTIAL CERRO COLORADO

El manantial de Cerro Colorado también forma parte del sistema hidráulico del Valle del Mezquital, pues abastece de agua potable a 83 comunidades de los municipios Mixquiahuala, Progreso, Tepatepec y Tezontepec, y ahora en menor proporción a Actopan y El Arenal. Además, los habitantes suelen lavar en este manantial las hortalizas de su siembra con el fin de quitarles restos de tierra. CONAGUA (2007-2012) asegura que el agua de Cerro Colorado es de muy buena calidad pero que se contamina aguas abajo por las descargas de drenes agrícolas.

Aunado a este factor contaminante, ha habido una preocupación constante de los habitantes, puesto que desde 2018 existen descargas constantes de lodo proveniente del río Tula. Estas descargas pueden afectar los mantos freáticos de Cerro Colorado (Godínez, 2018). Por esta razón se decidió que este manantial fuera el segundo lugar para realizar el análisis de este proyecto. Posteriormente, la **Figura 6-7 a, b y c** muestra la zonas de muestreo del manantial Cerro Colorado y Río Tula.

Figura 4-3. El Valle del Mezquital. Presas usadas en el sistema hidráulico de agua residual. Elaboración propia.



4.4 ANALITOS DE ESTUDIO

Atrazina (CAS 1912-24-9). Inhibidor de la fotosíntesis. Es relativamente estable en suelos y medios acuáticos, y a pesar de que se degrada por fotólisis y por la acción microbiana en el suelo, tiene un periodo de semidegradación del orden de

meses. (Vervliet-Scheebaum, et. al 2008). El uso generalizado de este herbicida también ha creado escorrentía, lo que garantiza que la atrazina termine en lagos, arroyos y, en ocasiones, incluso el agua potable. La atrazina es el número uno de los contaminantes encontrados en el agua potable en los EE.UU. y probablemente en todo el mundo. Es una de las doce sustancias tóxicas más utilizadas en el mundo, incluidas en el tratado de las Naciones Unidas de mayo de 2001 firmado en Estocolmo, Suecia. Considerado en la lista de plaguicidas altamente peligrosos bajo los criterios del PAN internacional y está prohibido en 37 países del mundo en los que no se encuentra México (Bejarano González, F., 2017, p98). La exposición a la atrazina tiene efectos adversos (**Tabla 4-4**).

Metolacloro (CAS 51218-45-2). El metolacloro es un herbicida selectivo de preemergencia que se utiliza en varios cultivos para controlar hierbas y malezas antes de que los cultivos broten del suelo. Puede desaparecer del suelo mediante biodegradación, fotodegradación y volatilización. (Eckermann, C et. al 2003). Es bastante móvil y puede contaminar las aguas subterráneas en determinadas condiciones, pero se encuentra sobre todo en aguas superficiales. La exposición al metolacloro tiene efectos adversos (**Tabla 4-4**).

Pentaclorofenol (CAS 87-86-5). Es una sustancia química manufacturada usada como plaguicida de uso restringido para la conservación de madera, como herbicida, alguicida, defoliante, germicida, y fungicida. Esta sustancia se ha encontrado en por lo menos 313 de los 1,585 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de

EEUU. Está considerado en la lista de plaguicidas altamente peligrosos bajo los criterios de la FAO-OMS, del PAN internacional y está prohibido en 62 países del mundo en los que no se encuentra México (Bejarano González, F., 2017, p98).

Hexaclorobenceno (CAS 118-74-1). Se puede encontrar principalmente, tanto en suelos donde se aplicó como en suelos no tratados, en sedimentos y en los océanos (Dell'Anno, A. et. al, 2008). También se le puede encontrar en el aire y en agua de superficie y subterránea. El hexaclorobenceno se encuentra en la lista de los plaguicidas altamente peligrosos incluidos en el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes, en donde se estipula su eliminación. También se encuentra en el Convenio de Róterdam sobre el Consentimiento Fundamentado Previo Aplicable a Ciertos Plaguicidas y Productos Químicos Peligrosos Objeto de Comercio Internacional, en donde el Anexo III incluye a 30 plaguicidas y 3 formulaciones consideradas extremadamente peligrosas en donde se encuentra el hexaclorobenceno (Bejarano González, F., 2017, p23). Puede acumularse en la cadena alimentaria y se ha detectado en leche materna. La exposición al hexaclorobenceno tiene efectos adversos (**Tabla 4-4**).

Vinclozolin (CAS 50471-44-8) Plaguicida que mata o inhibe el crecimiento de hongos en aplicaciones agrícolas, en madera, plásticos u otros materiales. Altera la diferenciación morfológica del sexo en ratas macho después de la exposición perinatal. Forma parte del grupo de compuestos que inhiben o antagonizan la biosíntesis o las acciones de los andrógenos. Considerado en la lista de plaguicidas altamente peligrosos bajo los criterios de la FAO-OMS, del PAN

internacional y está prohibido en 33 países del mundo en los que *no* se encuentra México (Bejarano González, F., 2017, p99).

4.4.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ECOTOXICOLÓGICAS DE LOS PLAGUICIDAS DE ESTUDIO

Los cinco compuestos analizados son plaguicidas con distintas actividades biológicas, utilizados de manera distinta en la agricultura. Sin embargo, todos ellos presentan características fisicoquímicas que permiten saber su comportamiento en el ambiente y la manera en que las matrices acuosas pueden analizarse en un laboratorio (**Tabla 4-3**).

Los plaguicidas con una alta presión de vapor, mayor de 1.33×10^{-4} Pa o 10^{-6} mm Hg, pueden ser volatilizados y movidos del sitio (Espinosa González, 2003). Puede deducirse que el vinclozolin y atrazina son moderadamente volátiles y los demás compuestos se consideran volátiles. Este parámetro también indica que puede utilizarse Cromatografía de Gases para su análisis.

El coeficiente de reparto octanol-agua, K_{ow} , considera la concentración del plaguicida en agua y en octanol, lo que ayuda a entender la polaridad a través de su afinidad sobre dichos disolventes. Los cinco plaguicidas tienen un K_{ow} bajo, es decir, que tienen una mayor afinidad por permanecer en los cuerpos de agua.

A excepción de hexaclorobenceno, todos los plaguicidas tienen una constante de Henry muy baja (menor a 10^{-7} atm m³ mol), es decir, que tienen una alta solubilidad en el agua y tienden a no migrar al aire. Esto tiene consecuencias ambientales considerables, ya que pueden lixiviarse hacia el subsuelo, contaminando cuerpos

de agua subterránea. Además, la atrazina y pentaclorofenol tienen características ácido base que se deben de considerar en el modelo de experimentación en el laboratorio.

Es importante mencionar que estos parámetros nos ayudan a saber cuáles son las variables a optimizar en el método de extracción SPME GC/MS. La gran ventaja de SPME es la versatilidad en su aplicación, pues existen distintos parámetros que inducen a cada analito a migrar de la fase acuosa a la sólida. Algunos son la Fuerza Iónica, Temperatura, Tipo de Fase, Tipo de extracción (ID o HS) entre otras (**Capítulo 4.7, Micro extracción en fase sólida, SPME**).

En las **Tablas 4-2, 4-3 y 4-4** se presentan los analitos y se muestran las propiedades fisicoquímicas de los analitos de dichos contaminantes, así como los datos ecotoxicológicos de los mismos.

Tabla 4-2. Analitos estudiados en el proyecto

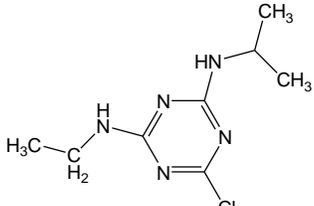
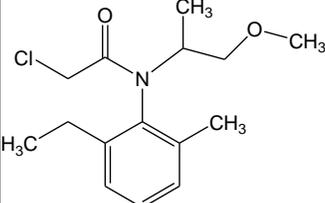
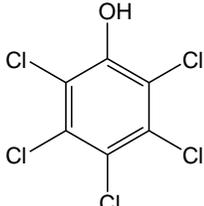
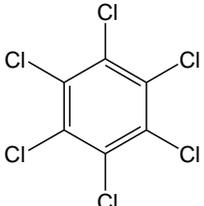
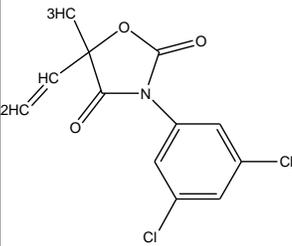
ANALITO	CAS	Estructura	Familia
Atrazina	1912-24-9		Triazinas
Metolacoloro	51218-45-2		Cloroacetanilidas
Pentaclorofenol	87-86-5		Organoclorados/ pentaclorobenzenos
Hexaclorobenceno	118-74-1		Organoclorado
Vinclozolin	50471-44-8		Dicarboximida

Tabla 4-3. Propiedades fisicoquímicas de los analitos de estudio

Analito	PM [g/mol]	logKow	pKa	Presión de vapor (Pa a 25°C)	Temperatura de ebullición °C	Densidad [g/mL]	Constante de Henry a 25°C [atm m³ mol]	Solubilidad en agua [mg/L]
ATR	215.686	2.7 (Elias, Daniel; Bernot, Melody J. , 2014)	1.60 (MacBean C., 2009)	3.87x10 ⁻⁵ (MacBean C., 2009)	-	1.23 a 22°C (MacBean C., 2009)	2.6X10 ⁻⁹ (USEPA 2013)	33.0 a 25°C (Yalkowsky, S.H., He, Yan, Jain, P., 2010. p. 152)
MET	283.8	3.13 (Hansch, C., Leo, A., D. Hoekman.,1995 , p. 135)	-	4.19x10 ⁻³ (Wauchope R.D.,1992)	340 (USEPA, 2019)	1.12 a 20°C (Lide, D.R., G.W.A. Milne, 1994)	9.00x10 ⁻⁹ (USEPA,2019)	488 a 25°C (ICSC, 2000)
PCP	266.338	5.11 (Hansch, C., Leo, A., D. Hoekman., 1995, p. 16)	4.7 (Cessna A.J., Grover R., 1978)	1.20x10 ⁻¹ (Lei, Y. D., Wania, F., Shiu, W.Y., Boocock, D., 1999)	309.5 (Jaw, C., Chen, I., Yen, J., Wang, Y.,1999)	1.978 (O'Neil, M.J.,2006 p. 1227)	2.45X10 ⁻⁸ (a 22°C) (USEPA, 2019)	14 a 25° C (Yalkowsky, S.H., He, Yan., 2003, p189)
HCB	284.784	5.73 (Gómez, M. J., Herrera, S., Sole, D., Garcia-Calvo, E., Fernandez-Alba, A. (2011)	-	1.87x10 ⁻³ (Paschke, H., Popp, P., 2005)	313 (USEPA, 2019)	1.73 (USEPA, 2019)	1.03x10 ⁻⁴ (Altschuh, J., Brueggemann, R., Santl, H., Eichinger, G., Piringer, O., 1999)	4.7X10 ⁻³ a 25° C (SRI Consulting, 2011, p330)
VIN	285.13	3.1 (Hansch C., 1995, p. 135)	-	1.6X10 ⁻⁵ (Wauchope, R.D., Butler, T.M., Hornsby, A.G., Augustine-Beckers P.W.M., 1992)	377 (USEPA,2019)	1.51 (Haynes, W.M., 2014-2015)	1.7x10 ⁻⁸ (Wauchope, R.D., Butler, T.M., Hornsby, A.G., Augustine-Beckers P.W.M., 1992)	2.6 a 20°C (MacBean C., 2009)

ATR: Atrazina, MET: metolacolor, PCP: pentaclorofenol, HCB: hexaclorobenceno, VIN: vinclozolin.

Tabla 4-4. Datos ecotoxicológicos de los analitos de estudio

Analito	Animales / Especies acuáticas	Humanos
ATR	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Exhibe efectos neuro endócrinos vistos en mamíferos, y puede alterar niveles hormonales en ratas que pueden tener consecuencias en el crecimiento y reproducción. Además, se ha visto reducción significativa de tamaño corporal y de órganos en múltiples especies de mamíferos y aves (EPA, 2016). ▪ El sistema reproductor femenino es el objetivo principal de la toxicidad de atrazina en animales de laboratorio. Se observó disminución de la fertilidad, alteración de las hormonas reproductivas y pérdida del embarazo en animales de laboratorio expuestos a niveles de atrazina de bajos a moderados antes y / o durante el embarazo (EPA, 2016). ▪ Las comunidades de plantas acuáticas se ven afectadas en muchas áreas donde el uso de atrazina es más intenso, y existe un riesgo crónico potencial para peces, anfibios e invertebrados acuáticos en estos mismos lugares (EPA, 2016) ▪ En el entorno terrestre, existen preocupaciones de riesgo para mamíferos, aves, reptiles, plantas y comunidades de plantas. (EPA, 2016) ▪ Aumenta la incidencia de tumores cancerígenos de las glándulas mamarias en ratas Sprague-Dawley (Foradori, 2014) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiene un posible papel teratogénico (sustancia, agente físico u organismo capaz de provocar un defecto congénito durante la gestación del feto). Sin embargo, la atrazina no es clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para los humanos (Grupo 3) (EPA, 2016). ▪ Disruptor neuroendócrino, (US EPA, 2018). La atrazina tiene el potencial de interactuar con las vías de señalización de estrógenos y andrógenos en mamíferos, incluyendo humanos, y otros animales salvajes (US EPA, 2016).
HCB	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cuando se administra por vía oral, el HCB induce tumores del hígado, tiroides y riñón en varias especies animales. (ATSDR, 1996 y US EPA IRIS, 1999) ▪ Efectos crónicos en el hígado, la piel, el sistema inmunitario, los riñones y la sangre por exposición oral al hexaclorobenceno. (ATSDR, 1996 y US HSDB, 1993) ▪ En animales, HCB indujo porfiria hepática (grupo de enfermedades metabólicas ocasionadas por un déficit de las enzimas que intervienen en la función de los glóbulos rojos), efectos neurotóxicos y tóxicos sobre la función tiroidea, el sistema reproductivo y el sistema inmunitario (Starek-Świechowicz, 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La EPA ha clasificado al HCB como un grupo B2, probable carcinógeno humano. (US EPA IRIS, 1999) ▪ Xenobiótico (sustancia química que se encuentra dentro de un organismo que no se produce naturalmente o se espera que no esté presente dentro del organismo) del desarrollo en humanos (US EPA, 1999) ▪ Disruptor hormonal (Starek-Świechowicz, 2017). ▪ Los objetivos principales de toxicidad para HCB son el hígado, la glándula tiroides, los puntos finales reproductivos, los puntos finales del

	<p>2017). También causa tumores en el hígado y la glándula mamaria en animales de laboratorio (Starek-Świechowicz, 2017).</p>	<p>desarrollo y la carcinogénesis (Starek-Świechowicz, 2017).</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ La exposición crónica suele actuar como desencadenante de disfunciones neurológicas, síntomas y trastornos inmunológicos (Starek-Świechowicz, 2017). ▪ La ingestión a largo plazo desarrolla una enfermedad hepática con lesiones cutáneas asociadas. (ATSDR, 1996) ▪ Desarrollo físico anormal en niños pequeños que ingirieron pan contaminado durante 4 años. (US EPA, 2000)
MET	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En ratas, se han observado un aumento de tumores hepáticos en hembras, así como algunos tumores nasales en los machos. Toxicidad para el desarrollo o la reproducción, especialmente en hembras (EPA, 2006). ▪ Daño celular en renacuajos de rana toro americana. ▪ Respuesta reducida en cangrejo de río a las señales olfativas de depredadores y fuentes de alimentos (USEPA/Office of Pesticide Programs, 2012). ▪ Efectos reproductivos crónicos en aves y mamíferos con la dosis más alta probada [1000 ppm]69. (USEPA/Office of Pesticide Programs, 2012). 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clasificación del cáncer: grupo C posible carcinógeno humano (EPA, 2018) ▪ Después de exposiciones agudas se presentan calambres abdominales, anemia, dificultad de coordinación, orina oscura, cianosis, hipotermia, colapso, convulsiones, diarrea, irritación gastrointestinal, Coloración amarillenta de la piel y las mucosas, debilidad, náuseas, shock, sudoración, vómitos, mareos, dificultad para respirar, daño hepático, inflamación de los tejidos del riñón, insuficiencia cardiovascular, irritación de la piel, dermatitis, dermatitis de sensibilización, irritación de los ojos y las membranas mucosas, opacidad corneal y efectos reproductivos adversos.(USEPA/Office of Pesticide Programs, 2012)
PCP	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Peligro agudo para el medio ambiente acuático con efectos duraderos (USEPA, 2006) ▪ Posible asociación entre la exposición por inhalación al pentaclorofenol y el cáncer (Enfermedad de Hodgkin, sarcoma de tejidos blandos y leucemia aguda) (ATSDR, 1999) ▪ En animales, aumento en los tumores hepáticos y dos tipos de tumores poco frecuentes (feocromocitomas de la médula suprarrenal, Hemangiosarcomas y hemangiomas) en ratones. (US EPA, 2000). ▪ En animales, efectos sobre el 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Las exposiciones combinadas a policlorofenoles o sus sales de sodio son posiblemente cancerígenas para los humanos (Grupo 2B) (USEPA-EDSP, 2009,2013). ▪ Adenomas de células foliculares tiroideas en hombres (USEPA, 2018). ▪ Presente en la lista del Programa de Detección de Disruptores Endócrinos (EDSP) de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) (USEPA-EDSP, 2009,2013) y en el Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos (USEPA, 2001)

	<p>sistema cardiovascular, sangre, hígado, disrupción endócrina, sistema inmune y sistema nervioso central (ATDSR, 1999) además de disminuir la supervivencia de la descendencia en ratas (US EPA, 2000)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efectos letales y subletales en embriones de pez cebrá, como ausencia de flujo sanguíneo, edema cardíaco, eclosión tardía y malformaciones de la cola. (Duan, 2008) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En humanos se ha comprobado cambios en la actividad motriz (Harley, 1977) ▪ Un estudio informó que 22 de 90 mujeres con antecedentes de abortos espontáneos, sin explicación infertilidad o trastornos menstruales se encontraron niveles elevados de pentaclorofenol en la sangre (ATSDR, 1999 y USEPA, 2000). ▪
<p>VIN</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Los principales efectos tóxicos inducidos están relacionados con su actividad antiandrogénica y su capacidad para actuar como un antagonista competitivo en el andrógeno receptor, lo que finalmente resulta en efectos de desarrollo en animales de prueba. Hay evidencia de que el vinclozolin se une muy débilmente al receptor de andrógenos pero que al menos dos metabolitos del vinclozolin, que se producen en mamíferos, plantas y suelo, son los responsables de gran parte de dicha actividad antiandrogénica. (US EPA, 2016) ▪ Moderadamente tóxico para los peces de agua dulce / estuarinos y los invertebrados de agua dulce / estuarinos en forma aguda (US EPA 2000). ▪ Los efectos se acentúan durante las etapas de desarrollo de los animales, lo que finalmente produce efectos reproductivos. También interfiere con el metabolismo y / o almacenamiento de los lípidos (US EPA, 2000). ▪ La inhibición del receptor de andrógenos en la rata tiene efectos sobre los órganos y funciones dependientes de andrógenos (US EPA, 2000). A niveles de dosis bajos (> 3 mg / kg / día), se observan los efectos más sensibles a los andrógenos, como disminución del peso de la próstata, reducción de peso en otros órganos sexuales, desarrollo del pezón / areolas y disminución de la distancia anogenital en ratas macho (US EPA, 2000). A niveles de dosis más altos, la reducción en el peso de los órganos sexuales masculinos se exagera y se observan malformaciones en los órganos sexuales, como el tamaño reducido del 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Se clasifica como un compuesto químico del Grupo C (posible carcinógeno humano) (US EPA, 2018). ▪ Exhibe una fuerte actividad antiandrogénica (Christen et al, 2014), (USEPA, 2016). ▪ Puede dañar la fertilidad o el feto (toxicidad para la reproducción) (UE ECHA, 2019).

	<p>pene, los testículos producidos fuera del lugar adecuado, entre otros (US EPA, 2000). En algunos estudios se observó retraso en la pubertad y cálculos renales (US EPA, 2000).</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos [Peligroso para el medio ambiente acuático a largo plazo] (UE ECHA, 2019). 	
--	--	--

***ATR: Atrazina, HCB: hexaclorobenceno, MET: metolacoloro, PCP: pentaclorofenol, VIN: vinclozolin.**

4.5 LA CALIDAD DEL AGUA EN MÉXICO

La disponibilidad del agua depende no solo de la cantidad, sino también de su calidad. Aunque haya agua, si está contaminada y se encuentra en una condición tal que no sea acorde con el uso que se le quiere dar, su empleo se limita (Jiménez, 2001, p. 34). Actualmente, los avances científicos y tecnológicos han repercutido en el desarrollo de técnicas analíticas y procesos capaces de identificar y de remover una amplia lista residual (Jiménez, 2001, p. 34). Sin embargo, debido a su costo, tales conocimientos no se aplican en forma común; más aún, no se plasman en políticas integrales de administración del agua que busquen:

- La conservación del recurso (agua superficial y subterránea)
- La preservación de su calidad, y,
- Su uso eficiente (reúso, ahorro y recirculación del agua).

Una vez que son desechados, llegan a las plantas de tratamiento de aguas residuales y pueden pasar a través de sus procesos unitarios sin sufrir modificación alguna (Barreto, 2017). Particularmente en México se ha evidenciado la falta de políticas que maximicen el tratamiento del agua residual y su posterior disposición. La principal causa de contaminación de las fuentes de agua es la inadecuada disposición del agua residual y residuos sólidos. Por poner un ejemplo, en 2015 de acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) sólo el 57% del agua residual colectada fue tratada, es decir, que alrededor de la mitad del agua generada a nivel nacional fue descargada al medio ambiente sin tratamiento alguno y el resto llegó a una Planta de Tratamiento de Agua Residual

(PTAR) (Cruz, 2018). Estas plantas trataron 120.9 m³/s, a pesar de que la capacidad de diseño era de 177.9m³/s (Cruz, 2018). Actualmente se ha encontrado que en México más de la mitad del agua residual tratada es descargada a un cuerpo de agua y el 14.4% es utilizada para irrigación (Cruz, 2018).

En México el efluente de la mayoría de estas plantas de tratamiento es descargado a los distritos de riego, permitiendo que estos contaminantes puedan ingresar a los acuíferos en forma de trazas, por otro lado, una amplia gama de sustancias usadas en la agricultura y otros propósitos han contribuido a la contaminación de cuerpos de agua superficial y subterránea (Brarreto, 2017).

4.5.1 REGULACIÓN AMBIENTAL DE LOS PLAGUICIDAS ESTUDIADOS

En el mundo la regulación en producción, exportación, importación y sobre todo el uso de los plaguicidas, así como su regulación en la calidad de agua potable poco a poco toman mayor importancia. Sin embargo aún existe un enorme quehacer para que dichas regulaciones ambientales sean más estrictas. Aunque existe una serie de regulaciones en el mundo, actualmente los estudios para conocer la incidencia de los cinco plaguicidas mencionados en matrices acuosas son escasos (**ver Anexo III**). En la **Tabla 4-5** se presentan los límites máximos permisibles para los plaguicidas estudiados en este proyecto en diferentes países e instituciones, además, en la **Tabla 4-6** se presentan la comercialización y uso de plaguicidas de acuerdo a las mismas organizaciones. Contradictoriamente, en México, el hexaclorobenceno está normado pero no está permitido utilizarse ni comercializarse.

Tabla 4-5. Límite Máximo Permisible en agua potable.

Analito	US EPA	Comisión Europea	OMS	México
Atrazina	0.003 mg/L	0.1 µg/L ¹	0.1 mg/L con la suma de sus metabolitos	No normado
Hexaclorobenceno	0.001 mg/L		*	1 µg/L
Metolacloro	-		0.01 mg/L	No normado
Pentaclorofenol	0.001 mg/L		0.009 mg/L	No normado
Vinclozolin	No normado		No normado	No normado
Referencia	United States Environment al Protection Agency (2017).	European Union Law (2017).	World Healt Organization (2011).	NOM 127 SSA 1 1994 (2000).

*** Incidencia en el agua potable a concentraciones muy por debajo de las que preocupan a la salud (OMS, 2011).**

1. A excepción de heptacloro, aldrin dileldrin y epóxido de heptacloro, la CE plantea la concentración máxima de 0.1 µg/L por plaguicida considerado o 0.5µg/L en total. La decisión para cubrir cada plaguicida de manera individual y/o metabolitos relevantes estará relacionada con la actividad toxicológica relevante. Es decir, aquellas que son tóxicos para mamíferos o al ambiente.

La Comisión Europea no tiene contemplado ninguno de los analitos estudiados de forma individual, sin embargo plantea, que la suma de todos los plaguicidas de interés dentro de cada país debe ser igual a 0.5ppb. A pesar de no tenerlos normados de manera concreta, considera en constante monitoreo a la atrazina, hexaclorobenceno, y pentaclorofenol. Además, estos tres plaguicidas están dentro de las 33 sustancias prioritarias y dentro de la lista de sustancias peligrosas en observación (European Commission, 2019).

Para la EPA, a pesar de que el vinclozolin y metolacloro no están normados, se encuentran dentro de la lista de candidatos contaminantes (CCL) y determinación reglamentaria.

Tabla 4-6. Comercialización y uso permitido de plaguicidas

Analito	COFEPRIS	Comisión Europea	US EPA
Atrazina	Permitido	No permitido ^a	Permitido. Uso restringido
Hexaclorobenceno*	No permitido	No permitido ^b	No permitido
Metolacoloro	Permitido	No permitido	Permitido
Pentaclorofenol	Permitido. Uso restringido.	No permitido ^c	Permitido. Uso restringido.
Vinclozolin	Permitido	No permitido ^d	No permitido
Referencia	Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. Base de datos.(2019)	European Union. Pesticides Database (2019)	Pesticide Product and Label System Database(2019)

*De acuerdo con el Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes (COP) La Producción, comercialización y uso de hexaclorobenceno están prohibidos.

a. Para la comisión europea está prohibido colocar en el mercado o utilizar productos fitosanitarios que contengan atrazina porque esta sustancia ha sido prohibida en octubre de 2009, relativo a la colocación de plantas productos de protección en el mercado.

b. En la UE no es posible exportar Hexaclorobenceno. Forma parte del Anexo V parte I del Registro, evaluación, autorización y restricción de las sustancias y preparados químicos comercialización de sustancias activas, en donde se enumeran los productos químicos cuya utilización está prohibida en la Unión Europea y que no pueden exportarse.

c. Sujeto al procedimiento completo de PIC con arreglo al Convenio de Rotterdam.

d. Sujeto al procedimiento de notificación de exportación, reúnen las condiciones para someterse al procedimiento de notificación PIC.

4.5.2 NORMAS PARA LA CALIDAD DEL AGUA EN MÉXICO

A continuación se presenta un análisis de las Normas Oficiales Mexicanas que regulan la calidad del agua potable, las técnicas de determinación de los plaguicidas, y la permisividad de ellos en México y en el mundo.

En la **NORMA Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996** establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. No se plantea de manera explícita parámetros de concentración para la regulación de plaguicidas. Si bien esta NOM establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad y posibilitar sus usos, los parámetros de vigilancia son muy generales. Entre ellos están presentes grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, nitrógeno y fósforo total, además de metales como mercurio, cadmio, arsénico, cianuro, entre otros. Sin embargo, no se especifican sustancias tóxicas como contaminantes emergentes o plaguicidas.

La **NORMA Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996** establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Esta NOM establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Sin embargo, sólo plantea los mismos contaminantes que la NOM-001-ECOL-1996. Es decir, que tampoco existen máximos permisibles para plaguicidas o contaminantes emergentes.

Por último, la **Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997**, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, solamente tiene Límites Máximos Permisibles para coliformes, huevos de helminto, grasas y aceites, Demanda Biológica de Oxígeno y sólidos suspendidos totales. Por lo tanto, la generalidad e imprecisión de las normas mencionadas implica que la contaminación constante de matrices ambientales acuosas sea fácil y acelerada. Es difícil garantizar agua libre de contaminantes emergentes. Además, tampoco se asegura que el agua residual descargada y reusada sea de calidad.

4.5.3 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994

La Norma Oficial Mexicana, NOM-127-SSA1-1994 se titula “**Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización**”. En esta norma se establece que el agua se debe someter a tratamientos de potabilización [NOM-127-SSA1-1994, pág. 2]. Esto con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor. Por esta razón, ahí mismo están establecidos los límites de concentración y el modo de determinación de distintos compuestos, para que la población mexicana pueda obtener el consumo de agua potable digna. En la **Tabla 4-7** se muestran los plaguicidas que están parametrizados bajo esta norma. Los únicos plaguicidas que se mencionan son algunos clorados. De todos los analitos estudiados en este proyecto de investigación, en esta norma sólo se encuentra el ***hexaclorobenceno***.

Tabla 4-7. Límites permisibles de plaguicidas. Los límites se expresan en mg/L y en µg/L. Los límites permisibles de metales se refieren a su concentración total en el agua, que incluye los suspendidos y los disueltos. [NOM-127-SSA1-1994 (2000) pág. 3]

PLAGUICIDAS	LIMITE PERMISIBLE [µg/L]
Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03
Clordano (total de isómeros)	0.20
DDT (total de isómeros)	1.00
Gamma-HCH (lindano)	2.00
Hexaclorobenceno	1.00
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03
Metoxicloro	20.00
2,4 - D	30.00

En esta norma se plantean los dos únicos métodos de pre concentración aceptados para realizar dichas determinaciones: extracción líquido-líquido mediante un embudo de separación y por separación con florisil activado. Éstas involucran los reactivos y sus cantidades en volumen o masa que se mencionan en la **Tabla 4-8**. En el segundo paso que es la determinación, se plantea el uso de un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de captura de electrones o un espectrómetro de masas [NOM-127-SSA1-1994, 1994, pág. 53]. Sin embargo, se

pone a consideración del analista la forma en que se pueda identificar la señal que corresponde a determinado plaguicida, es decir, que se acepta identificarlo solamente con el tiempo de retención del pico cromatográfico.

Es importante mencionar que la US EPA (United States Enviromental Protection Agency) utiliza la técnica de Extracción en Fase Sólida SPE con cromatografía de gases de columna capilar acoplado a espectroscopía de masas para la determinación de productos químicos orgánicos semivolátiles en agua potable (Munch, Grimmett, Munch y Wendelken, 2012).

Tabla 4-8. Elaboración propia. Reactivos y volumen a usar en el muestreo, además del uso de la LLE y separación por florisil activado para la determinación cuantitativa de dichos contaminantes.

Muestreo		
Reactivo	Volumen utilizado	Especificaciones
Ácido sulfúrico	-	Ajustar pH
<u>Cloruro mercurico</u>	1 mL	En el muestreo a modo de tener una concentración final de 10 mg/L
Hidróxido de sodio	-	Ajustar pH
Tiosulfato de sodio	80 mg por litro	Si hay cloro residual
Solución buffer de fosfatos	50 mL	Ajustar pH
a) Por Extracción Líquido-Líquido		
Reactivo	Volumen utilizado	Especificaciones
Disolución estándar	50mL	Fortificación de la muestra con esta cantidad antes de comenzar la extracción
<u>Cloruro de metileno</u>	236 mL	
Cloruro de sodio	100 g	
Metil terbutil éter		22.05 mL
Sulfato de sodio anhidro	10 g	
b) Separación por florisil		
Reactivo	Volumen utilizado	Especificaciones
éter de petróleo	70mL	Humedecimiento y enjuagues de columna
éter etílico / éter de petróleo	200mL	mezcla al 6%
éter etílico / éter de petróleo	200mL	mezcla al 15%
éter etílico / éter de petróleo	200mL	mezcla al 50 %

a) La Extracción Líquido-Líquido para determinación de plaguicidas consiste en tres extracciones de 60 mililitros de diclorometano. Posteriormente se elabora una evaporación por medio de un concentrador. En este paso la norma sugiere que la concentración requiere de enjuagues, por lo que se utiliza más volumen de disolvente [NOM-127-SSA1-1994, 1994, pág. 54].

b) El segundo método para separar los plaguicidas es mediante una columna cromatográfica con florisil activado [NOM-127-SSA1-1994, 1994, pág. 55].

El suministro y la calidad de dicha agua es responsabilidad de los municipios quienes tienen la atribución de decidir si la distribución a los usuarios es administrada por el gobierno o por la iniciativa privada (Barreto, 2017). La Secretaría de Salud, por medio de la Comisión Federal para la Prevención de Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), es la responsable de verificar el cumplimiento de la norma de agua potable y de tomar acciones cuando los valores obtenidos excedan los límites establecidos (Barreto, 2017).

4.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISIS AMBIENTAL

Como se planteó anteriormente, la contaminación es un problema considerable, con repercusiones en ecosistemas y para la salud humana en todo el mundo. Con el fin de identificar plaguicidas en concentraciones residuales, varios métodos analíticos han sido desarrollados con la finalidad de determinar distintos compuestos químicos que se consideran contaminantes o contaminantes emergentes. Estas determinaciones analíticas pueden dividirse en dos pasos: **pre tratamiento de la muestra y análisis cuantitativo.**

La primera etapa de estas determinaciones, que consiste en la preparación de la muestra, se refiere a la extracción de los compuestos objetivo de la matriz ambiental, cualquiera que esta sea, considerando una pre concentración de los analitos. Los principales obstáculos para obtener resultados analíticos apropiados en estos procedimientos están en términos de precisión, exactitud y sensibilidad (Hassan Abbas, H., Elbashir, A. y Aboul-Enein, H. 2015). Para resolver estos problemas, diferentes técnicas se han propuesto. En este sentido, la técnica

convencional para separar y preconcentrar analitos en agua ha sido durante muchos años la extracción líquido-líquido (LLE) (Hasan Abbas et al., 2015).

La LLE se puede definir como la transferencia de un compuesto determinado (o compuestos) desde una “fase líquida A” a otra “fase líquida B”, inmiscibles entre ellas. En un laboratorio, la LLE se suele realizar entre una disolución acuosa y otro disolvente orgánico inmiscible con dicha fase acuosa con la ayuda de un embudo de separación. Dicha transferencia del analito se realiza con base en su coeficiente de partición, que indica la afinidad de este compuesto por ambas fases. Esta afinidad puede ser influenciada por la variación de la actividad iónica a través del aumento de sales, que desplazan el equilibrio hacia la fase orgánica. Los disolventes clorados como: cloroformo, cloruro de metileno, tetracloruro de carbono quedan siempre en la capa inferior. Disolventes como: éter etílico, acetato de etilo, tolueno, benceno, hexano quedan siempre en la capa superior. La posición relativa de ambas fases depende de la relación de densidades. (Robles-Molina, J. et. al, 2013). Esta extracción es uno de los métodos clásicos y se emplea en varios marcos regulatorios, como en la **NOM-127-SSA1-1994**. Sin embargo es poco amigable con el ambiente ya que se emplea un volumen considerable de disolventes orgánicos, por lo que existe una generación de residuos mayores a los siguientes métodos de extracción.

Muy posterior a la extracción líquido-líquido, se desarrolló un nuevo método llamado **Extracción en Fase Sólida** (SPE por sus siglas en inglés). La SPE consiste en la extracción de un analito mediante sistemas sólido-líquido,

empleando principalmente cartuchos, discos o fases. Algunos autores la consideran como una cromatografía, donde se tiene como objetivo realizar la separación de ciertos componentes de una muestra mediante su distribución en dos fases: una estacionaria y otra móvil. La estacionaria es principalmente un sólido o un sólido con características gomosas retenido sobre un soporte, mientras que la fase móvil es líquida. (Quattrocchi, O., et al 1992). Esta fase líquida normalmente es la que contiene los analitos en cuestión, por lo que puede utilizarse la muestra obtenida del muestreo. La SPE necesita mucha menor cantidad de disolvente orgánico para la elución de los analitos de la fase sólida (alrededor de un mililitro). La desventaja de esta técnica es la cantidad de fase acuosa que se necesita para la acumulación de los analitos en la fase sólida en relación con otras técnicas de extracción. Sin embargo, la mayoría de las veces esto no es una limitante.

También existen alternativas micro analíticas que son sugeridas para la determinación de plaguicidas, como la **Micro Extracción-Emulsificación Asistida con Ultrasonido**, (USAEME, por sus siglas en inglés). Esta es una técnica que se optimiza mediante cavitaciones generadas por ultrasonido (Regueiro, J. et. al, 2009). La transferencia de analitos se realiza a través del área superficial fase orgánica-fase acuosa, y, gracias a dichas cavitaciones, el área de contacto entre fases, aumenta. Es decir, que el principio es el mismo que en LLE, pero gracias al aumento de la superficie, no hace falta más que 100 micro litros de fase orgánica y emulsificar la mezcla de fases para maximizar su extracción. Esta

es una microtécnica muy interesante y novedosa. Sin embargo, ésta técnica se limita a analitos clorados.

4.7 MICRO EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA, SPME

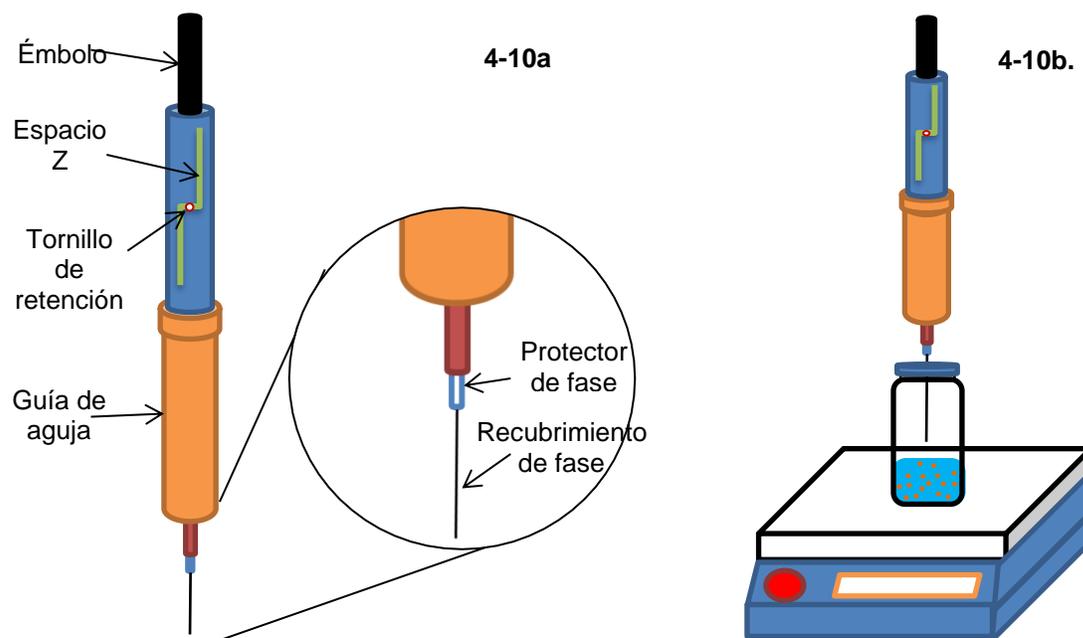
Fue desarrollada por Arthur y Pawliszyn en 1990. La SPME se basa en la extracción de los analitos de la matriz de la muestra mediante una fase de sílice fundida que está recubierta de un sorbente extractante, en la mayoría de los casos polimérico, seguida de la desorción de los analitos mediante temperatura o un disolvente orgánico (Alpendurada, M.F., 2000). Los analitos en cuestión se transfieren a la fase extractante, de la fase acuosa o la fase de vapor (Hassan Abbas, et al. 2015). Actualmente, varias micro técnicas analíticas han sido desarrolladas para acercarse a la química verde. Uno de los principales propósitos es disminuir el volumen de disolventes que se emplean sin perder los valores de algún parámetro de validación e incluso para aumentarlos. SPME es un método adecuado para el análisis de matrices ambientales acuosas, pues se necesita una pequeña cantidad de muestra, en donde se puede prescindir de disolventes orgánicos en su totalidad (Basheer, C., Chong, H. G, Hii, T. M., Lee, H. K., 2007), a diferencia de la SPE o LLE y otras técnicas micro analíticas (Alpendurada, M.F., 2000). En la **Tabla 4-9** se muestran los protocolos utilizados en tres técnicas de preparación de muestras.

Tabla4-9. Protocolos utilizados en diferentes técnicas de preparación de muestras: extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE) y microextracción en fase sólida (SPME). (Alpendurada, 2000).

LLE	SPE	SPME
<ul style="list-style-type: none"> -Adición de disolventes orgánicos a la muestra. -Agitación en un embudo de separación. -Separación de fases acuosas y orgánicas. -Eliminación de la fase orgánica. -Evaporación / concentración de la fase orgánica. -Inyección en el instrumento analítico. 	<ul style="list-style-type: none"> -Acondicionamiento de fases SPE. -Elución de la muestra. -Elución con disolvente para eliminar interferencias y desorción de analitos. -Evaporación / concentración de la fase orgánica. -Inyección en el instrumento analítico. 	<ul style="list-style-type: none"> -Exposición de la fase SPME a la muestra (extracción). -Desorción de analitos en el instrumento analítico.

La técnica SPME se presenta como una alternativa para la cuantificación de contaminantes, mostrando alta sensibilidad, selectividad, reproducibilidad y ausencia total de disolventes. (M. Sakamoto, T. Tsutsumi, 2004). Se han hecho estudios en los que se compara la sensibilidad, precisión, y repetibilidad del método SPME con respecto al LLE. La SPME ha resultado ser más sensible. Por ejemplo, en el estudio de Rodriguez-Lafuente et al. (2016), se compararon algunos parámetros en la determinación de los mismos analitos utilizando ambas técnicas: LLE Y SPME. Como resultado, la SPME obtuvo un puntaje mucho menor en la evaluación con la eco escala verde (diseñada por Gałuszka et al. 2012). Es decir, que ésta técnica analítica contamina menos. Además de obtener mejores resultados en la validación (Rodriguez-Lafuente, Piri-Moghadam, L. Lord, Obal, y Pawliszyn, J. 2016).

Figura 4-5a. Partes del dispositivo para SPME. El pequeño tamaño de la fase y su geometría cilíndrica permiten incorporarla en un dispositivo parecido a una jeringa. 4-5b. Montaje del dispositivo para la extracción.



En la **Figura 4-5** se puede observar el dispositivo utilizado para esta técnica y el funcionamiento de la fase. Cabe mencionar que existe un código de colores con los que se identifica el componente de la fase y por lo tanto sus características físicas y químicas del mismo (**Tabla 4-10**).

4.7.1 COEFICIENTE DE REPARTO EN LA MICROEXTRACCION EN FASE SÓLIDA

Como se ha mencionado, la SPME es una técnica no exhaustiva, es decir, que la extracción se considera completa cuando el analito alcanza el equilibrio de

distribución entre la muestra y la fase extractante. Existen, básicamente dos formas de extracción con SPME: 1. introduciendo la fase extractante dentro de la muestra líquida (*Inmersión Directa, DI-SPME*) o bien, 2. en espacio de cabeza (*Headspace, HS-SPME*). El modelo matemático que explica la dinámica del proceso de absorción cuando la fase se **introduce directamente** en la muestra fue descrita por Louch, D., Motlagh, S. y Pawliszyn, J. en 1992. Con éste modelo se puede concluir que la cantidad de sustancia n depende de una constante de partición del analito entre la fase y la muestra K_{fs} , el espesor de la fase V_F , el volumen de la muestra acuosa V_s y la concentración inicial del analito en la muestra acuosa C_0 .

$$n = \frac{K_{fs}V_F C_0 V_s}{K_{fs}V_F + V_s} \quad \text{Ecuación 4 - 1}$$

El principio en el que se basa la SPME es la partición de los analitos entre la fase acuosa y el recubrimiento de fase, representada por K_{fs} (Louch y Pawliszyn, 1992).

En las condiciones experimentales con las que se trabaja en la SPME, generalmente se cumple que el volumen de la muestra es mayor en relación con el volumen o espesor de la fase, es decir que $V_s \gg K_{fs}V_F$. Así se llega a la **ecuación 4-2**, en donde se observa que la cantidad de analito extraída n es directamente proporcional a la concentración de analito en la muestra C_0 , y es independiente del volumen de muestra V_s (Louch y Pawliszyn, 1992). Esta última es una de las virtudes más valiosas de SPME: la cantidad extraída es

independiente del volumen de la muestra, siempre que ésta sea mayor al volumen de la fase.

$$n = K_{fs}V_F C_0 \quad \text{Ecuación 4 – 2}$$

Como se puede observar en las **ecuaciones 4-1 y 4-2** la eficacia de la extracción depende del coeficiente de partición o de distribución, K_{fs} , que es un parámetro característico de cada pareja analito-fase y que describe el comportamiento entre el recubrimiento de la fase y su afinidad para cada analito.

En la práctica, teniendo en cuenta un 5% de error se puede asumir que:

$$V_s = 20 K_{fs} V_F \quad \text{Ecuación 4 – 3}$$

Esto implica que el volumen de muestra acuosa V_s debe ser veinte veces el volumen (o espesor) de la fase V_F . Es decir, que para compuestos con K_{fs} superiores a 200 y una fase de 100 μm , es suficiente un vial de 2 ml para conseguir la máxima sensibilidad. Mientras tanto, un vial de 40 ml puede ser usado para compuestos con K_{fs} hasta 4000 (Pawliszyn, 1997). En consecuencia, el uso de volúmenes de muestra mayores del volumen limitante no afectará a la sensibilidad del método pero sí puede mejorar la precisión (Alpendurada, 2000).

Otra cuestión importante es que la cantidad de moléculas extraídas por la fase es proporcional a su concentración en la muestra, y, una vez que llega al equilibrio, dicha concentración se vuelve independiente del tiempo (**Gráfica 4-3**). Así, se puede asegurar que la cantidad que llegue al instrumento de análisis de trazas

(usualmente cromatógrafo) está directamente relacionado con su concentración en la muestra problema (**Ecuación 4-1 y 4-2**). Esto no quiere decir que con estas ecuaciones se realicen las determinaciones analíticas de concentración de cada analito. Para llegar a ello se requiere realizar una curva de calibración adecuada. Las **ecuaciones 4-1 y 4-2** únicamente son para demostrar que los fundamentos fisicoquímicos sustentan la efectividad del uso de esta técnica de extracción.

El modelo matemático para describir HS SPME es un poco diferente. Sin embargo, se mantiene la proporcionalidad que presenta la cantidad de analito extraída en el equilibrio y la concentración inicial de la muestra, así como el papel que juega K_{fs} en la extracción. Esta K_{fs} permite hacer la cuantificación del analito. Además, cabe mencionar que K_{fs} es independiente al número de fases involucradas en el sistema, pues describe solamente a la reacción de equilibrio analito-fase extractante (**Figura 4-7 y 4-8**).

4.7.2 ETAPA 1. PROCESO DE EXTRACCIÓN

En la extracción se efectúa la movilidad de los analitos hacia la fase extractante, en el momento en que la muestra se pone en contacto con dicha fase. Dicha extracción se realiza bajo condiciones específicas de temperatura y tiempo, y de ser necesario también condiciones acidez y fuerza iónica. E incluso puede realizarse en este paso la derivatización de los analitos, de ser necesaria. La simplificación de los pasos para la preparación de la muestra es una de las virtudes que tiene la SPME: se realizan en este primer paso todas las condiciones idóneas para inducir la migración de los analitos desde la fase acuosa a la sólida,

hasta que se alcance un equilibrio de distribución entre la muestra y la fase extractante (Peñalver, a. 2002).

4.7.2.1 CONDICIONES DE EXTRACCIÓN

Existen muchas variables que deben controlarse al realizar un experimento con SPME. Algunas de ellas son el tipo de extracción, tipo de fase SPME, temperatura de extracción, agitación, fuerza iónica (FI), pH, tiempo y temperatura de desorción. Esto es necesario dentro de una extracción para poder asegurar repetibilidad entre cada experimento realizado. En la **Figura 4-5** se presenta un esquema de las variables que intervienen en la SPME.

4.7.2.2 TIPOS DE EXTRACCIÓN: DI-SPME Y HS-SPME

Los analitos pueden ser extraídos ya sea sumergiendo directamente la fase sólida en soluciones acuosas, conocida como inmersión directa (DI-SPME) (**Figura 4-6a**), o sumergiendo la fase de vapor por encima de la solución acuosa, conocida como espacio de cabeza (HS-SPME) (**Figura 4-6b**) (Hassan Abbas, et al. 2015).

Figura 4-5. Esquema de las variables a controlar en una extracción con SPME

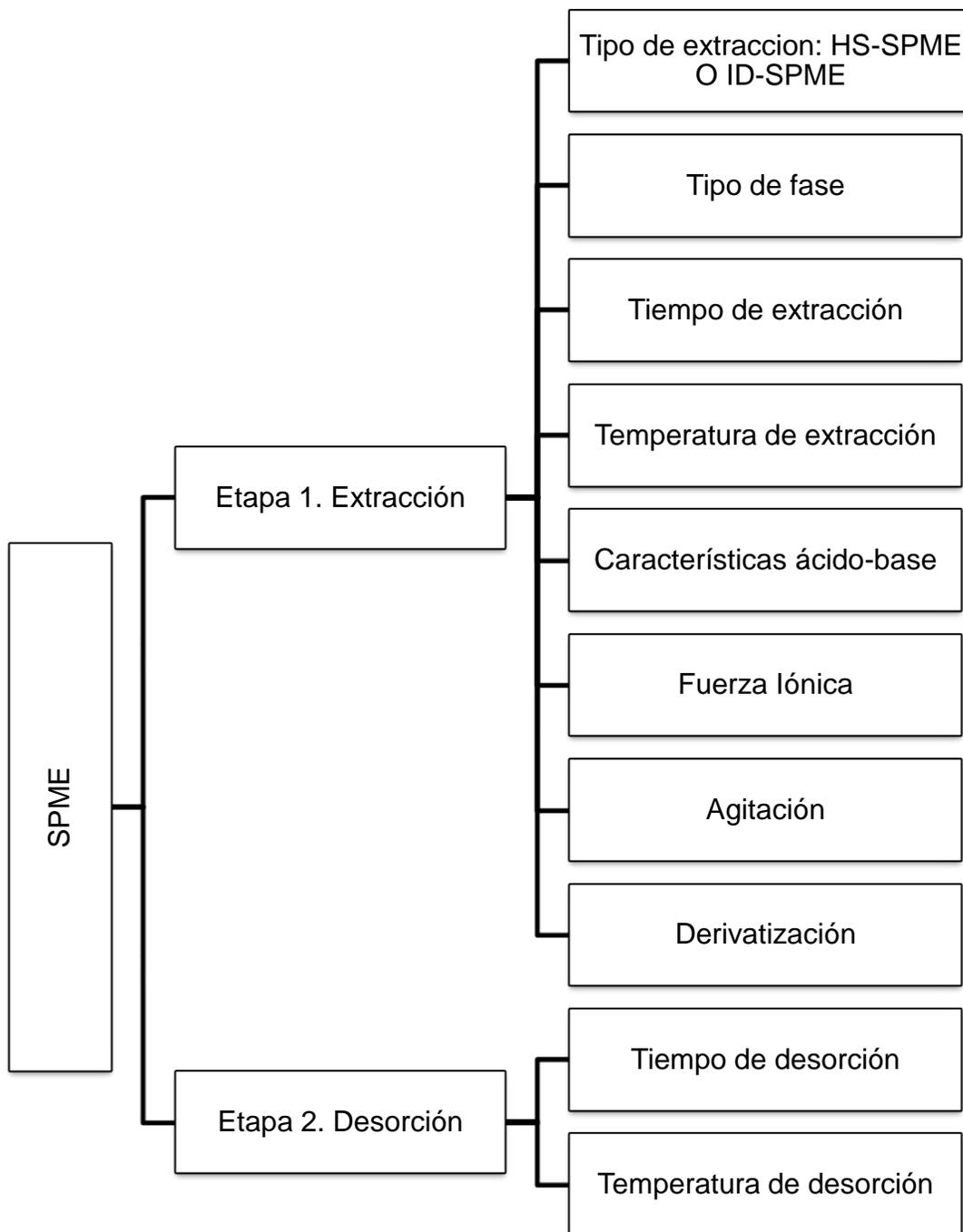
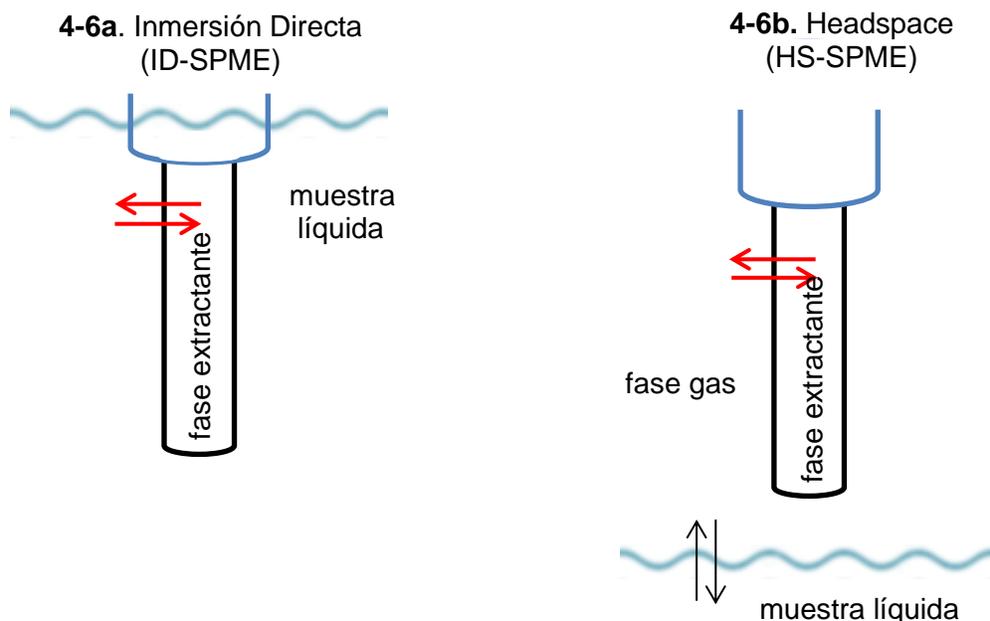


Figura 4-6a. Extracción tipo Inmersión Directa (DI-SPME, por sus siglas en inglés). Figura 4-6b. Extracción tipo Headspace o espacio de cabeza (HS-SPME)



4.7.2.2.1 SPME POR INMERSIÓN DIRECTA (DI-SPME)

La **DI-SPME** se utiliza principalmente para analitos que sí son afines a las fases sólidas pero no son lo suficientemente volátiles como para poder llegar a la fase sólida a través de su estado en vapor. Este modo de extracción da muy buenos resultados de reproducibilidad, precisión y exactitud. Sin embargo, si la matriz acuosa es muy compleja o está muy contaminada de otros componentes (como agua residual o lodos), pueden adherirse a la fase otros compuestos que no sean de interés. En este caso la extracción puede ser menos limpia que en HS-SPME. Además, el tiempo de vida media de la fase disminuye por las condiciones de temperatura, pH, fuerza iónica que pudiera requerir dicha extracción. La vida

media de una fase va desde varias decenas a centenas de extracciones. Siempre depende de las condiciones experimentales a las que se sometan en cada experimento. Si dicha fase se somete a muestras complejas, que contengan demasiadas interferencias, entonces tiene que someterse a limpiezas previas a cada extracción.

Figura 4-7. Reacción de equilibrio que sucede durante la DI-SPME (*Propuesta propia*)



De acuerdo a la reacción propuesta en la **Figura 4-7** el analito, primeramente, se encuentra disuelto en la muestra acuosa. Con ayuda de la temperatura durante la extracción (T_{ext}), la fuerza iónica (**FI**), y el **pH** de dicha disolución, se puede contribuir a que el equilibrio se desplace a la derecha, es decir, que la afinidad de los analitos se queden retenidos en la fase sólida. En la segunda etapa del proceso, los analitos se desorben dentro del inyector cromatográfico, es decir, que ocurre el desplazamiento hacia **1a**. En esta parte interviene la temperatura de desorción (T_{des}). Dicha reacción de absorción-desorción está determinada por la constante de partición para Inmersión Directa K_{fs} .

4.7.2.2 SPME POR ESPACIO DE CABEZA (HS-SPME)

La microextracción en fase sólida por headspace, **HS-SPME**, normalmente se utiliza para analitos que son volátiles. Esta microextracción tiene la ventaja de ser

limpia, ya que se asegura que los compuestos químicos que se adhieren a la fase sólida son los de interés, y supone que los demás componentes quedarán en la fase acuosa y por lo tanto la fase se conservará en buen estado para la siguiente extracción. Los factores como temperatura de extracción, agitación, pH, fuerza iónica y derivatización (si es el caso), deben ser considerados para hacer posible la volatilización de los analitos. Sin embargo tales condiciones, por muy drásticas que estas sean, no afectarán a la vida media de la fase, a excepción de la temperatura.

Figura 4-8. Reacción de equilibrio que sucede durante la HS-SPME
(Propuesta propia).



De acuerdo a la reacción propuesta en la **Figura 4-7**, el analito se encuentra disuelto en la muestra, en este caso acuosa. Con ayuda de la temperatura durante la extracción (T_{ext}), la fuerza iónica (**FI**), y el pH de dicha disolución, se puede contribuir a que el equilibrio se desplace a la derecha, es decir, a la volatilización de los analitos. Una vez volatilizados (**analito_{gas}**), el analito se adhiere a la fase sólida, para que, en la segunda etapa del proceso, se desorban dentro del inyector cromatográfico, es decir, que ocurre el desplazamiento hacia **2b**. En esta parte interviene la temperatura de desorción (T_{des}). Dicha reacción de absorción-

desorción está determinada por la constante de partición para headspace K_{fs} , ya que éste es quien define la interacción analito-fase extractante.

4.7.2.3 TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN

Como lo vemos en los **Figuras 4-7 y 4-8**, en SPME también se debe tener en cuenta la cinética del proceso de extracción, ya que las reacciones de equilibrio entre la fase extractante y el analito pueden modificar la volatilidad de los compuestos, favoreciendo la extracción y acortando el tiempo en que se alcanza el equilibrio. Los analitos deben ser transportados desde la matriz de la muestra a la fase en inmersión (DI-SPME) o desde la matriz de la muestra al espacio de cabeza y de allí hacia la fase extractante, en el caso de que la extracción sea HS-SPME (Peñalver, a. 2002). Para aumentar la velocidad de la extracción es necesario hacer uso de la temperatura, asegurando así la aceleración de la extracción de los analitos a la fase extractante en un menor tiempo.

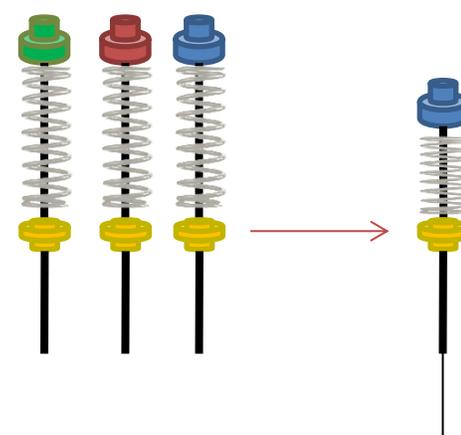
El aumento de la temperatura puede resultar contraproducente si sobrepasa el límite óptimo para acelerar la extracción, pues los analitos pueden llegar a desorberse, es decir, disociarse de la fase extractante, volviendo así a la matriz acuosa o al espacio de cabeza (**Figuras 4-7 y 4-8, Ecuación 4-4**). Por esta razón es necesario descubrir de manera experimental la temperatura óptima para favorecer la extracción del analito o el grupo de analitos.

4.7.2.4 TIPOS DE FASE EXTRACTANTE EN SPME

Como se planteó anteriormente, la **SPME** consiste en extraer los analitos contenidos en una fase usualmente acuosa o gaseosa (aunque también se ha utilizado en fase sólida) a una fase extractante sólida del orden de micras de espesor, para que en una segunda etapa, dichos analitos adheridos a ésta fase puedan ser analizados en un instrumento analítico (**Figura 4-10**).

Estas fases consisten en un soporte sólido como la sílice fundida recubierta de la fase extractante que puede ser un polímero de alto peso molecular, sílice o carbono compuestos (**Tabla 4-10**). Dicho recubrimiento se realiza por dispersión, lo que ayuda a maximizar el área de contacto analito-fase extractante. Dependiendo de la compatibilidad entre la polaridad de cada de fase extractante y la polaridad de los analitos es como se logra la selectividad y sensibilidad exitosas.

Figura 4-9. Funcionamiento de la fase extractante. Al presionar la cabeza de la fase, el material extractor (revestimiento de fase) de analitos se expone. Cada material extractante se distingue por el color de la cabeza de la fase (en verde, PDMS de 7um, en rojo, PDMS de 100um, en azul, PDMS/DVB de 100um).



Los recubrimientos más populares son las fases PDMS. Se recomienda que siempre que sea posible deben usarse, ya que son recubrimientos líquidos muy

resistentes que pueden soportar altas temperaturas de inyector de hasta aproximadamente 300°C (Madgic y Pawliszyn, 1996).

La extracción de los analitos de la muestra mediante las fases de PDMS se debe principalmente a un fenómeno de absorción (Górecki y Pawliszyn, 1999) se ha indicado que la extracción de algunos analitos (sobre todo si son muy apolares) puede realizarse vía adsorción ya que existe una cierta competitividad entre ambos efectos (**Figura 4-10**).

En general las fases en las que ocurre adsorción son la PDMS/DVB, CW/DVB, CAR/PDMS, y las que ocurre absorción son PDMS y PA (Peñalver, 2002).

Como regla general de selección, podemos aplicar la afinidad de un compuesto a la fase por medio de la polaridad de ambos. La selectividad se puede saber con la K_{fs} de cada fase extractante con un determinado analito. Hasta la fecha, solo están disponibles recubrimientos generales, y la selectividad necesaria se basa en las diferencias de polaridad y volatilidad entre las moléculas. Además de los recubrimientos comerciales, se han desarrollado fases "a medida" para la extracción de analitos específicos. Algunos ejemplos son los de carbón, C₈, C₁₈, polipirrol o incluso fases recubiertas con polímetros de huella molecular (MIPs). De esta manera se pueden conseguir fases muy selectivas para un determinado compuesto (Peñalver, A. 2002).

Tabla 4-10. Tipos de fases comerciales en SPME.

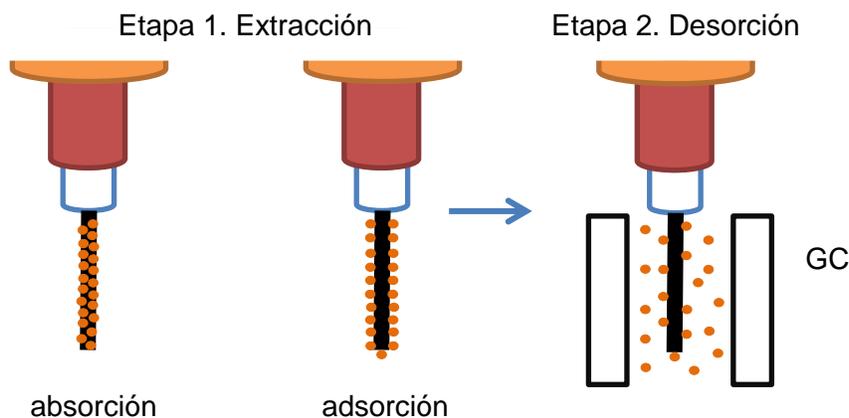
Fase	Espesor de película [µm]	Temp. de uso límite [°C]	Polaridad	Color	Aplicaciones propuestas (Alpendurada, 2000)
Carboxen/ Polidimetilsiloxano (PDMS)					VOCs, hidrocarburos
Carboxen/PDMS	75	320	Bipolar	negro	
Carboxen/PDMS	85	320	Bipolar	azul claro	
Polidimetilsiloxano (PDMS)					Compuestos no polares como VOCs, hidrocarburos aromáticos policíclicos, benceno, tolueno, etilbenceno, xileno, plaguicidas organoclorados.
PDMS	7	340	No polar	verde	
PDMS	30	280	No polar	amarillo	
PDMS	100	280	No polar	rojo	
Polidimetilsiloxano (PDMS)/ Divinilbenzeno (DVB)					Hidrocarburos aromáticos, aminas aromáticas, VOCs.
PDMS/DVB	60	270	Bipolar	café	
PDMS/DVB	65	270	Bipolar	azul intenso	
Poliacrilato (PA)					Compuestos orgánicos polares.
Poliacrilato (PA)	85	320	Polar	blanco	
Divinilbenzeno/Carboxen/ Polidimetilsiloxano					-
DVB/CAR/PDMS	50/30	270	Bipolar	gris	
Polietilenglicol (PEG)					-
PEG	60		-	violeta	
Sílice fundida					-
Sílice fundida	-		-	naranja	

Una técnica de análisis ambiental debe tener la capacidad de identificar concentraciones del analito muy pequeñas (ppm, ppb y/o ppt). Por ello se busca tener la menor cantidad de pasos posibles para evitar pérdidas en la preparación

de la muestra. En general, el proceso SPME puede describirse en dos sencillas etapas: **la extracción y la desorción (Figura 4-10)**. Éstas contienen distintas variables que deben explorarse y controlarse en dependencia con la naturaleza de los analitos y la fase extractante a utilizar.

Es necesario acondicionar la fase antes de usarla por primera vez, o cuando hay probabilidades de que la fase tienda a “ensuciarse” debido al tipo de muestra y sus interferencias. Las especificaciones de acondicionamiento (tiempo y temperatura) se especifican en el empaque de cada fase comercial. En algunos casos donde se utiliza DI-SPME también debe limpiarse entre cada análisis, ya que puede llegar a ocurrir el llamado “efecto memoria”, en donde los analitos no logran desorberse por completo en el cromatógrafo, afectando así los resultados del siguiente experimento. Este efecto también está relacionado con la correcta optimización del tiempo de desorción. Además de la polaridad y la volatilidad, el espesor de la fase es importante, ya que es directamente proporcional al tiempo de extracción y a la sensibilidad: entre mayor es el espesor de la fase, la sensibilidad mejora, pero se necesita más tiempo para la extracción. Por ejemplo: PDMS es una fase no polar que extrae muy bien los analitos no polares. Sin embargo, también se pueden usar para extraer compuestos más polares después de optimizar las condiciones de extracción, como el pH, la concentración de sal y la temperatura.

Figura 4-10. Primera etapa: la extracción en la fase, tipo absorción o adsorción. Segunda etapa de la extracción: la desorción de los analitos en el inyector del cromatógrafo de gases.



En el caso de las fases PDMS que están disponibles comercialmente en diferentes espesores, debemos elegir el recubrimiento más delgado que logre el límite de detección requerido (LOD). La fase PA, por ejemplo, es adecuada para compuestos más polares como los fenoles (Alpendurada, 2000). La versatilidad de todas las fases, en conjunto con el ajuste de otras variables, hace que la SPME pueda ser aplicable a distintos analitos en un amplio intervalo de características fisicoquímicas.

4.7.2.5 AGITACIÓN

La agitación asegura que este proceso se efectúe de manera continua, asegurando la migración de los analitos hacia la superficie de la fase extractante y se alcance el equilibrio. Esto no es necesario con muestras de gas, ya que las muestras en este estado mantienen la homogeneidad de la distribución de los

analitos en el espacio, pero sí para muestras líquidas. En el caso de HS-SPME las moléculas de los analitos tienen que volatilizarse, y una vez estando en fase gaseosa, ocurra la extracción. En DI-SPME la agitación debe ser constante por lo ya mencionado. En otras palabras, estos sistemas de agitación sirven para disminuir el efecto causado por la zona estática que se forma alrededor de la fase y que disminuye la velocidad de extracción (Peñalver, A. 2002).

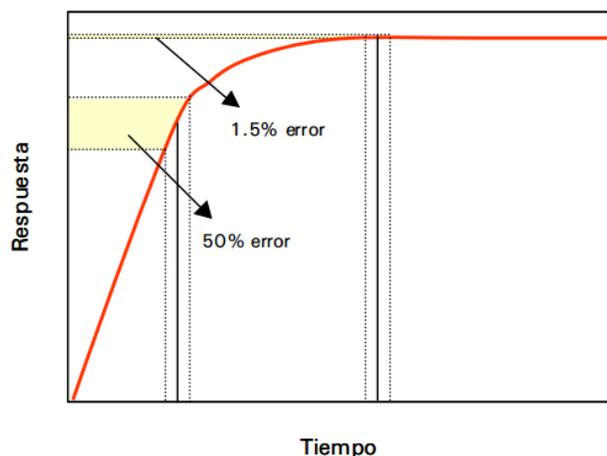
Se han diseñado varias alternativas para muestras acuosas, como la agitación magnética (la más utilizada), ultrasonidos o movimientos de la fase o el vial. Esto con el objetivo de aumentar la velocidad de extracción (Peñalver, 2002).

4.7.2.6 TIEMPO DE EXTRACCIÓN

El tiempo de equilibrio es una variable importante, pues a partir de este tiempo la cantidad de analito extraída se mantiene constante (Pawliszyn, 1997). Una vez que se alcanza el equilibrio, la cantidad de analito en la fase se mantiene constante con el paso del tiempo y el porcentaje de error disminuirá considerablemente (**Gráfica 4-3**).

La extracción también puede realizarse en condiciones de pre equilibrio. Sin embargo, este tipo de extracción sí es dependiente del tiempo. Esta opción se utiliza cuando los analitos tardan un tiempo demasiado largo para llegar al equilibrio. En ese caso el tiempo de extracción debe ser controlado. También debe asumirse que el error experimental es más grande, dependiendo de la rapidez con la que aumenta la cantidad de analito extraído en función del tiempo (**Gráfica 4-3**).

Gráfica 4-3. Efecto en la variación del tiempo de extracción con la respuesta del instrumento analítico. Éste está directamente relacionado con cantidad de analito extraída. Tomada de Peñalver, 2002.



4.7.2.7 FUERZA IÓNICA Y pH

En caso de que los analitos no sean volátiles o sean muy afines a la matriz acuosa, se puede recurrir al efecto del *salting out* con la adición de un electrolito fuerte, generalmente cloruro de sodio o sulfato de sodio. Cuando esto ocurre, la muestra aumenta el coeficiente de distribución K_{fs} de los analitos que están presentes en forma no ionizada, por lo que la cantidad de analito extraída generalmente aumenta (Pawliszyn, 1997). Pero si los analitos están en forma ionizada, se observará una disminución de la eficacia de la extracción (Peñalver, 2002). Esto se debe al aumento del coeficiente de actividad de las especies iónicas al aumentar la fuerza iónica de la solución (Pawliszyn, 1997). Así, para inducir la salida de los analitos de la muestra, se debe asegurar que éstos se encuentren en forma neutra al aumentar la fuerza iónica.

Otra consideración es el control del pH. Solamente puede usarse para sustancias que tengan características de disociación con un K_a determinado. Esta condición es determinante para que puedan efectuarse las extracciones, ya que las fases extractantes sólo pueden extraer molecular neutras. Así, las moléculas regresan a su estado neutro y pueden tener mejor afinidad a la fase sólida. Se recomienda

respetar el intervalo de pH con el que las fases extractantes trabajan (**Tabla 2**), particularmente cuando se utiliza DI-SPME. De lo contrario el tiempo de vida media de dichas fases disminuye considerablemente.

4.7.2.8 DERIVATIZACIÓN

La determinación de compuestos polares presenta un mayor problema en el análisis medioambiental (Peñalver, 2002). La derivatización es uno de los procesos más comunes que se emplean para convertir moléculas polares en moléculas no polares. A pesar de que existen fases extractantes polares en SPME como PA, este tipo de analitos son muy difíciles de extraer y separar mediante GC. De esta manera, la SPME puede ser combinada con la derivatización de diferentes maneras, principalmente las siguientes: *una* es que la derivatización se efectúe en la muestra, *otra* es dopando la fase extractante del derivatizante, la *tercera* es derivatizando una vez teniendo los analitos extraídos en la fase, y la *ultima* es realizando la derivatización en el puerto de inyección del CG (Alpendurada, 2000). De cualquier manera, una ventaja que tiene la SPME es que no se aumenta el número de pasos en la extracción de los analitos, evitando así la pérdida de sensibilidad del proceso.

4.7.3 ETAPA 2. PROCESO DE DESORCIÓN

Una vez que los analitos están retenidos por la fase, el **segundo paso** es la desorción de los compuestos extraídos en para su análisis.

Cuando el análisis se realiza con HPLC, la desorción se realiza mediante el uso de un disolvente orgánico, cuyos parámetros a optimizar son el *tipo de disolvente orgánico* (que debe ser compatible con la fase y con la técnica analítica posterior) y el *volumen de disolvente* (Pawliszyn, 1997). En general, debe utilizarse el menor volumen de disolvente orgánico posible sin que se produzca efecto memoria de forma que el factor de pre concentración sea mayor.

Cuando el análisis se realiza con GC, la fase extractante es transferida al puerto de inyección, donde ocurre la disociación entre las moléculas y la fase. Existen dos variables a controlar en esta etapa: la temperatura de desorción y el tiempo de desorción.

4.7.3.1 TEMPERATURA DE DESORCIÓN

Si bien en la etapa de extracción la temperatura ayudaba a acelerar la cinética de la extracción, también puede favorecer la disociación de los analitos en la fase extractante (**Figura 4-7 y 4-8**). Al aumentar la temperatura, la afinidad de los compuestos por la fase disminuye, por lo que la disociación puede suceder directamente dentro del inyector del cromatógrafo de gases. En la **Ecuación 4-4** se observa como disminuye linealmente los coeficientes de partición al aumentar la temperatura (Pawliszyn, 1997).

$$\log K_{fs} = a \left(\frac{1}{T} \right) + b \quad \text{Ecuación 4 - 4}$$

Se recomienda fijar la temperatura entre la máxima de uso de la fase recomendada por el fabricante (**Tabla 4-10**) y la temperatura de descomposición de los analitos, de ser el caso. En la GC ésta temperatura está relacionada con la temperatura del inyector del cromatógrafo, ya que ahí se efectúa dicha desorción.

La cromatografía de gases permite cuantificar los compuestos separados e identificarlos, en este caso por espectrometría de masas o con cualquier otro detector. Se dice que el área del pico está directamente relacionado con el coeficiente de partición analito-fase extractante K_{fs} , y que el ensanchamiento de los picos se relaciona a la velocidad en que se desorbe cada analito. Por lo tanto, debe asegurarse la desorción rápida a través de la temperatura.

4.7.3.2 TIEMPO DE DESORCIÓN

El tiempo de desorción de los analitos en el inyector es no menos importante. Con este se asegura que todos los analitos extraídos migren de la fase al detector. Éste debe ser el adecuado para que la desorción de los analitos de la fase sea completa y no haya *efecto memoria*, es decir, que los analitos no se disocien de la fase extractante, y que alteren el resultado de la siguiente extracción. Esto puede suceder si el tiempo o la temperatura de desorción no son suficientes para la desorción completa de los analitos (Pawliszyn, 1997).

4.8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO EN SPME

Dado que los contaminantes emergentes y disruptores endócrinos generalmente están presentes como mezclas a niveles traza en sistemas acuáticos, se requieren

métodos analíticos altamente selectivos y sensibles para el monitoreo a concentraciones ambientalmente relevantes. La separación cromatográfica junto con la detección con espectrometría de masas permite el análisis de contaminantes traza en matrices complejas. El análisis de plaguicidas se ha realizado tradicionalmente usando cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS) usando ionización electrónica (EI) (He y Aga, 2019).

Como se ha comentado anteriormente, la SPME fue inicialmente diseñada para su uso junto con la GC. Esto debido a que el acoplamiento SPME-GC es muy sencillo y no es necesario hacer ninguna modificación especial durante en el análisis. La SPME se puede acoplar fácilmente a GC porque el puerto de inyección del cromatógrafo de gases se puede usar para la desorción térmica de analitos de la fase.

La SPME combinada con la GC ha sido utilizada para la determinación de muchas clases de contaminantes medioambientales, como por ejemplo, compuestos orgánicos volátiles (VOCs), PAHs, plaguicidas, bifenilos policlorados, aminas aromáticas, ácidos carboxílicos, fenoles, etc. y en diferentes tipos de muestras medioambientales como aire, aguas de diferentes procedencias y suelos.

Cuando la temperatura aumenta, la afinidad de los analitos hacia la fase disminuye y se liberan. Además, el flujo de gas portador dentro de un inyector de cromatógrafo de gases también ayuda a eliminar los analitos de la fase y transferirlos a la columna cromatográfica de gases (Peñalver, 2002). Se requieren insertos de revestimiento con bajos volúmenes para asegurar una rápida transferencia de analitos desorbidos a la columna cromatográfica (Pawliszyn,

1999). La desorción generalmente se logra en menos de dos minutos para la mayoría de los compuestos. La desorción térmica en GC puede verse afectada por varios parámetros, como la temperatura del inyector de GC y la velocidad de flujo del gas portador que determina el tiempo de desorción del proceso SPME. En general, la temperatura del inyector se ajusta a la temperatura máxima para la estabilidad del recubrimiento de fase. Los compuestos con alto peso molecular normalmente necesitan temperaturas de desorción más altas que esta temperatura. En consecuencia, estos compuestos pueden permanecer retenidos en el recubrimiento de fases y aparecer en análisis posteriores. Los altos tiempos de desorción pueden ayudar a disminuir este efecto

La desorción térmica es el modo más sencillo de separar los analitos de la fase pero hay compuestos que son térmicamente inestables o poco volátiles y por lo tanto no se pueden determinar directamente mediante GC. En estos casos la combinación de la SPME con la HPLC es más adecuada siendo necesario utilizar un disolvente orgánico para desorber los analitos (Peñalver, 2002).

5. MATERIAL Y METODOLOGÍA

5.1 MATERIAL

5.1.1 ESTÁNDARES ANALÍTICOS

- Atrazina, 98.1% Chem Service
- Hexaclorobenceno, 99.1% PESTANAL Sigma Aldrich
- Metolacloro, 97.3% PESTANAL Sigma Aldrich
- Pentaclorofenol, 98.7% Supelco
- Vinclozolin, 99.5% PESTANAL Sigma Aldrich

5.1.2 REACTIVOS

- Cloruro de sodio anhidro, ≥99% Sigma Aldrich
- Agua calidad analítica tipo I, Millipore Advantage A 10
- Agua calidad analítica tipo II, Elix Technology Inside 10
- Helio 5.0 ultra alta pureza
- Acetato de etilo, HPLC J.T. Baker
- Metanol, HPLC≥ 99.8%. Sigma Aldrich
- Hexano, HPLC Honeywell B&J ACS/HPLC

5.1.3 INSTRUMENTOS

- Balanza analítica, resolución 0.0001g, OHAUS E1240
- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard Agilent 6890N G1530N acoplado a detector selectivo a masas Hewlett Packard Agilent 5973. Columna capilar

HP5 MS UI Agilent de 30m x 0.25mm x 0.25 μ m. Inyector split-splitless.
Liner de 0.75 mm de diámetro.

- Fases extractantes para SPME: PA, PDMS 100 μ m y PDMS/DVB. Supelco. Sigma- Aldrich. Bellefonte PA, USA.
- Pipeta volumétrica de 10.0 mL
- Viales para extracción SPME de 20 mL Agilent.
- Septum de aluminio con PTFE/butil de 20mm.
- Parrilla con agitación magnética, Barnstead International SP 131325. Barras de agitación magnética.
- Termómetro de Hg de -20°C a 150°C.
- Micro jeringas analíticas de 10, 50, 100 y 250 μ L Supelco.

5.1.4 SITIOS DE MUESTREO

- Agua residual municipal Cerro Colorado, Tezontepec de Aldama, Hidalgo.
- Agua potable de manantial Cerro Colorado, Tezontepec de Aldama, Hidalgo.
- Agua superficial de Rio Tula, Hidalgo.

5.2 METODOLOGÍA

5.2.1 PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES ESTÁNDAR

Se realizaron disoluciones de distintas concentraciones a partir de los estándares analíticos en viales ámbar de 1.5mL con metanol HPLC, a excepción del hexaclorobenceno, en donde se utilizó hexano como disolvente. Cada estándar se preparó por separado. Posteriormente se realizó una mezcla de todos los

estándares a partir de las disoluciones individuales, dejando evaporar el disolvente con nitrógeno líquido, para posteriormente agregar 1 mL de una mezcla de acetato de etilo: hexano 8:2. En esta mezcla la concentración de cada estándar fue la misma.

5.2.2 PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES PARA SPME

Cada disolución de prueba para SPME se preparó con 10.0 mL de agua tipo I utilizando una pipeta volumétrica. Se agregó una barra de agitación magnética. Se engrapó dicho vial con un septum. Finalmente se midió y se inyectó el volumen requerido a la mezcla de estándares con micro jeringas analíticas.

En los experimentos a pH ácido, se inyectó el volumen necesario de la disolución de ácido sulfúrico 1M con micro jeringa analítica a cada vial.

En los experimentos con variación en fuerza iónica, la adición de NaCl se pesó en la balanza analítica antes de agregar los 10.0 mL de agua.

5.2.3 ESPECIFICACIONES CROMATOGRÁFICAS

Se realizaron diferentes pruebas para obtener la rampa de calentamiento (**Gráfica 6-1**) en donde se obtuviese el menor tiempo de análisis con la mejor resolución de picos posible. El inyector se utilizó en modo splitless. Todas las inyecciones fueron manuales. La temperatura del inyector fue de 270°C, el flujo de helio fue de 1.2 mL min⁻¹, la temperatura del cuadrupolo fue de 150°C, la de la fuente de ionización fue de 230°C, la temperatura de la interfaz entre el cromatógrafo y el detector de masas fue de 280°C. La rampa de calentamiento se describe en la **Tabla 6-1 y Gráfica 6-1**. El tiempo total de análisis es de 13.95 minutos.

El detector selectivo de masas se usó en modo SCAN para cada blanco de fase (para cerciorar que no hubiera efecto matriz), blanco de columna (mediante una inyección de 1 µL de acetato de etilo), blancos de muestra, optimización del programa de temperatura y para la primera prueba de optimización del método, que fue la selección de fase extractante.

Se utilizó el modo SIM para las demás pruebas, ya que esta proporciona mejor sensibilidad. Los iones seleccionados (m/z) para programar este modo, y el tiempo de retención promedio de cada analito, están descritos en la **Tabla 6-2**.

5.2.4 OPTIMIZACIÓN DE SPME

Se realizó un diseño de variables mutuamente independientes. Se hicieron múltiples pruebas paso a paso de las variables para optimizar: tipo de fase extractante, tipo de extracción, saturación de sal NaCl, temperatura y tiempo de extracción, tiempo de desorción. Se asume que la variación de una de ellas no influye en el comportamiento de las demás. Cuando se optimizó una variable, ésta fue la única que se modificó y las demás se controlaron a un parámetro fijo y constante. Las pruebas se realizaron preparando las disoluciones como se plantea en el apartado **5.2.2 Preparación de las disoluciones para SPME**. La concentración de la mezcla de estándares fue de 100 ppb. Dado que atrazina y pentaclorofenol tienen un pKa determinado, se decidió fijar el **pH** a 3 para todas las pruebas. La **temperatura del inyector** también se fijó en 270°C de acuerdo con la recomendación de Rodríguez-Lafuente et al. (2016). Todas las pruebas se hicieron con agitación magnética y por triplicado. El análisis cromatográfico se

realizó bajo las condiciones descritas en el apartado **5.2.3 Especificaciones cromatográficas**, y en el apartado **6.1 Condiciones cromatográficas**.

5.2.4.1 TIPO DE FASE

Se evaluó el comportamiento de los analitos con respecto a las fases extractantes PDMS de 100µm, PA 85µm y PDMS-DVB de 65µm. Se realizó con agitación magnética. El pH no se fijó. Esta prueba se realizó con un tiempo de extracción de 30 minutos más 3 minutos al inicio para homogenizar la disolución. La temperatura de extracción se mantuvo a 18°C. Además de un tiempo de desorción de 5 minutos. Esta prueba se realizó en modo headspace considerando el favorecimiento de los analitos que son altamente volátiles.

5.2.4.2 TIPO DE EXTRACCIÓN

Dado que una parte de los analitos son moderadamente volátiles, se decidió que el tipo de extracción fuera inmersión directa (DI-SPME). Sin embargo, para asegurar que los analitos volátiles fueran extraídos por la fase, se decidió fijar en **5 minutos** a la fase en modo headspace (HS-SPME) después del tiempo con ID.

5.2.4.3 TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN

Para esta parte se fijaron las siguientes condiciones: el pH se fijó a 3, la concentración de los estándares fue de 250ppb, y saturación de sal NaCl al 80%. Para identificar la temperatura óptima se realizó un barrido general en temperaturas en 18°C, 30°C, 50°C y 70°C. Posteriormente se realizó un segundo

barrido más particular en la temperatura elegida en cinco grados Celsius por encima y por debajo de ella.

5.2.4.4 TIEMPO DE EXTRACCIÓN

Una vez detectada la fase extractante y la temperatura, se continuó con las pruebas de optimización para determinar el tiempo de extracción. Esta solamente se valoró para el modo inmersión directa DI-SPME, ya que se decidió con anterioridad el tiempo de extracción en modo HS-SPME.

Las pruebas se realizaron a pH de 3, con una saturación de sal NaCl del 80%, y una concentración de estándares de 120 ppb. El tipo de fase y la temperatura fue la optimizada anteriormente.

5.2.4.5 SATURACIÓN DE SAL

Una vez detectada la fase extractante, la temperatura y el tiempo de extracción en ID, se hicieron las pruebas para conocer el porcentaje óptimo de sal. Se realizaron extracciones al 50, 60, 70 y 80% de saturación de sal. También se controló el pH a 3. La concentración de los estándares fue de 120ppb.

5.2.4.6 TIEMPO DE DESORCIÓN

Posteriormente se optimizó el tiempo de desorción variando en 3, 5, 7 y 10 min. Las condiciones se fijaron de acuerdo con la optimización de la fase extractante, la temperatura y el tiempo de extracción en ID, y el porcentaje de sal. La concentración de los estándares fue de 120ppb, y se controló el pH a 3.

5.2.5 ACONDICIONAMIENTO DE LOS RECIPIENTES PARA

MUESTREO

Se lavaron con agua tipo I frascos ámbar de 500mL y 4L. Posteriormente se lavaron con metanol grado reactivo y se dejaron secar. Los frascos de 4L se llevaron a la mufla.

En el momento del muestreo, se enjuagaron dos veces con el agua muestra antes de llenar los frascos. Con ayuda de papel pH se fijó el pH a 3 con ácido sulfúrico. Se almacenaron los frascos para su posterior análisis en una cámara fría.

5.2.6 PARÁMETROS DE CALIDAD Y DETERMINACIÓN DE LOS

CONTAMINANTES EN LAS MUESTRAS

Una vez optimizado el método, se realizaron curvas de calibración por triplicado. También se determinó el intervalo de trabajo, el intervalo lineal, los límites de cuantificación y detección (LOD y LOQ), la desviación estándar relativa y el porcentaje de recobro para dos niveles de concentración.

Posteriormente se realizó el análisis químico bajo las condiciones de optimización con las muestras reales almacenadas con anterioridad.

6. RESULTADOS

6.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

A continuación se presenta la rampa de calentamiento **Gráfica 6-1** y sus especificaciones en la **Tabla 6-1**. En la **Tabla 6-2** se observan los tiempos de retención identificados y los iones seleccionados para análisis en espectrómetro de masas en modo SIM. En la **Figura 6-1** se muestra un cromatograma típico obtenido por este método.

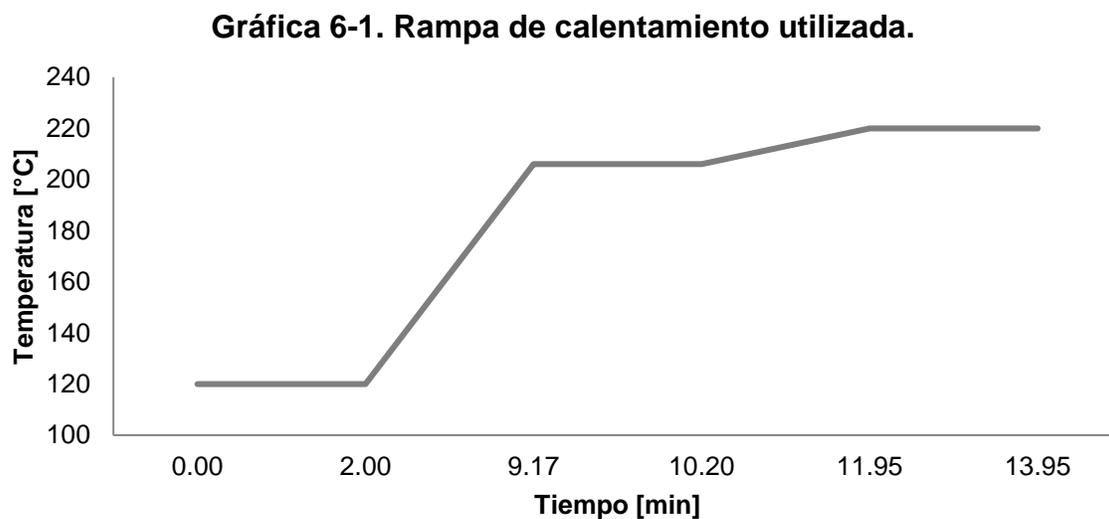


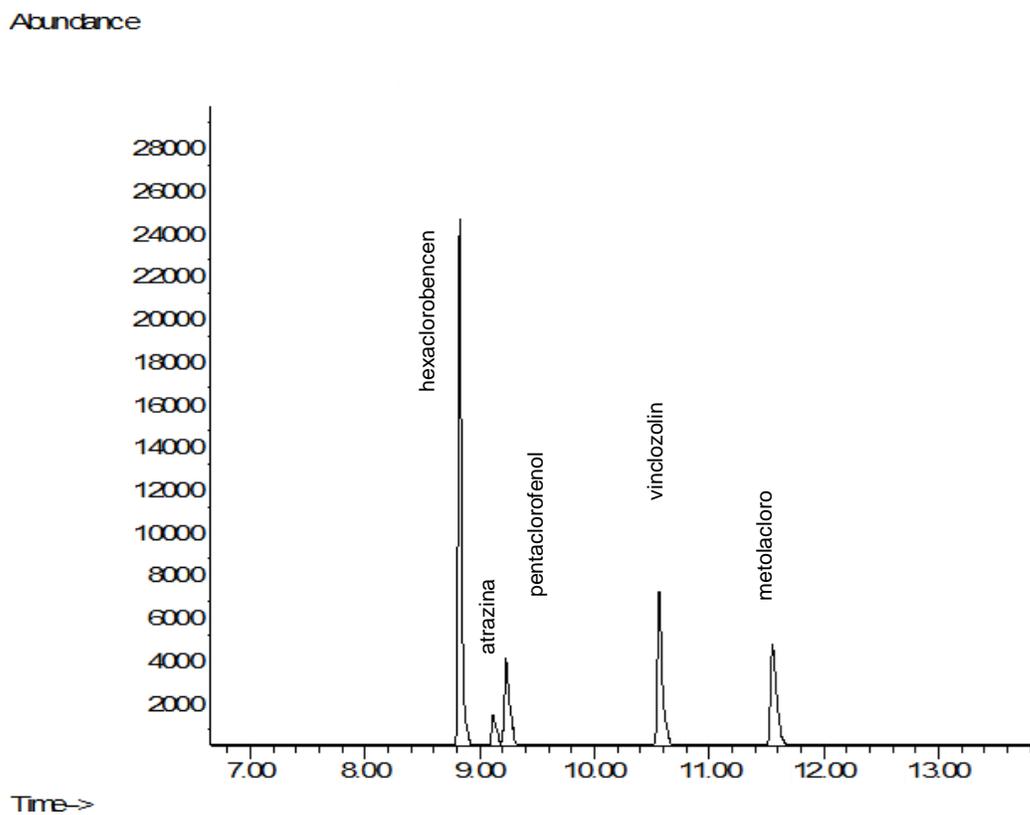
Tabla 6-1 Programa de la rampa de calentamiento

Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Hold [min]
120	0.00	2
120	2.00	
206	9.17	1
206	10.20	
220	11.95	2
220	13.95	

Tabla 6-2. Tiempos de retención y iones seleccionados para programar el modo SIM de cada analito.

Analito	Tiempo de retención [min]	Ionización de electrón
Hexaclorobenceno	8.85	284, 286, 282, 288
Atrazina	9.14	200, 215, 173, 217
Pentaclorofenol	9.29	266, 264, 268, 270
Vinclozolin	10.58	212, 198, 285, 187
Metolacoloro	11.57	162, 238, 240, 146

Figura 6-1. Cromatograma típico de una disolución estándar con el método SPME/GC-MS.



De la **Figura 6-2** a **6-6** se muestran los espectros de masas obtenidos en modo SIM para hexaclorobenceno, atrazina, pentaclorofenol, vinclozolin y metolaclo ro respectivamente.

Figura 6-2. Espectro de masas típico obtenido para hexaclorobenceno

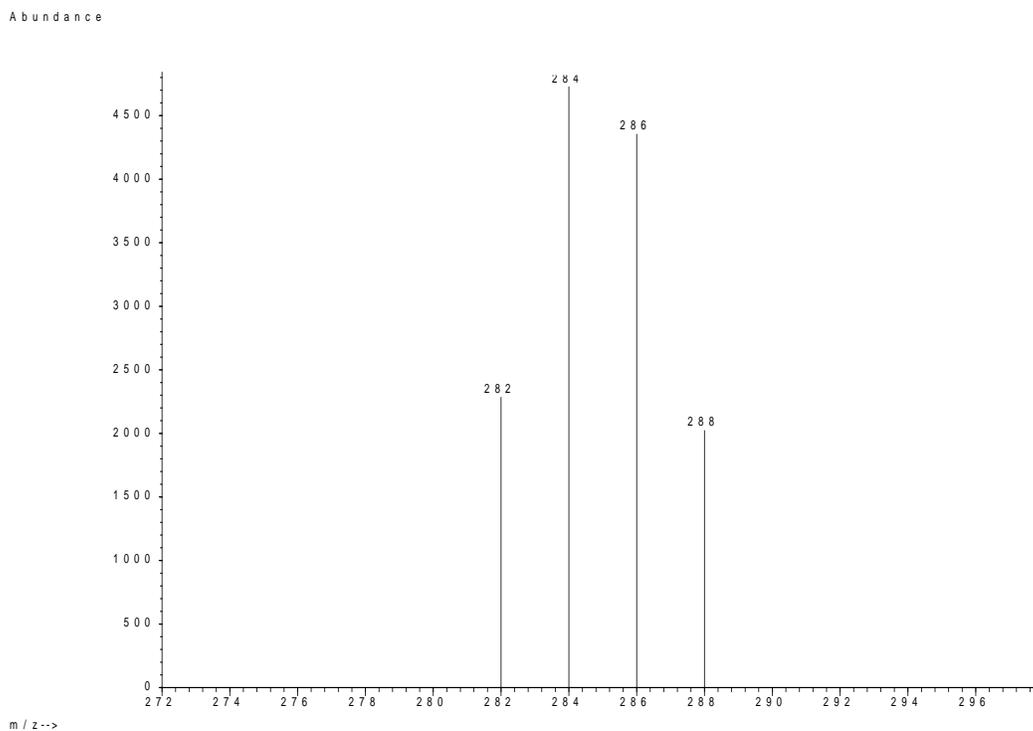


Figura 6-3. Espectro de masas típico obtenido para atrazina

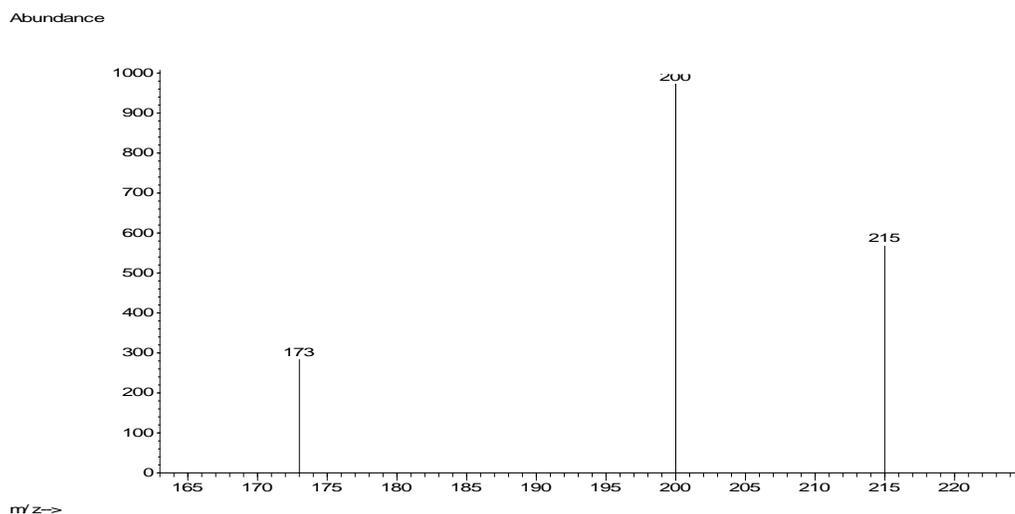


Figura 6-4. Espectro de masas típico obtenido para pentaclorofenol

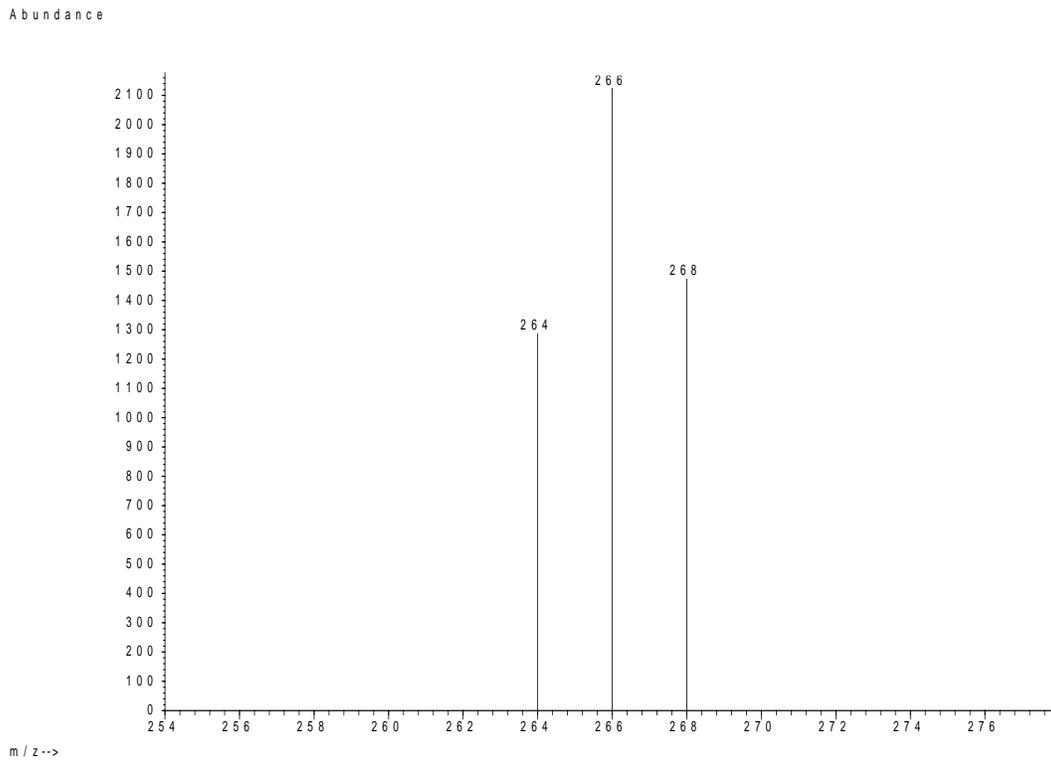


Figura 6-5. Espectro de masas típico obtenido para vinclozolin

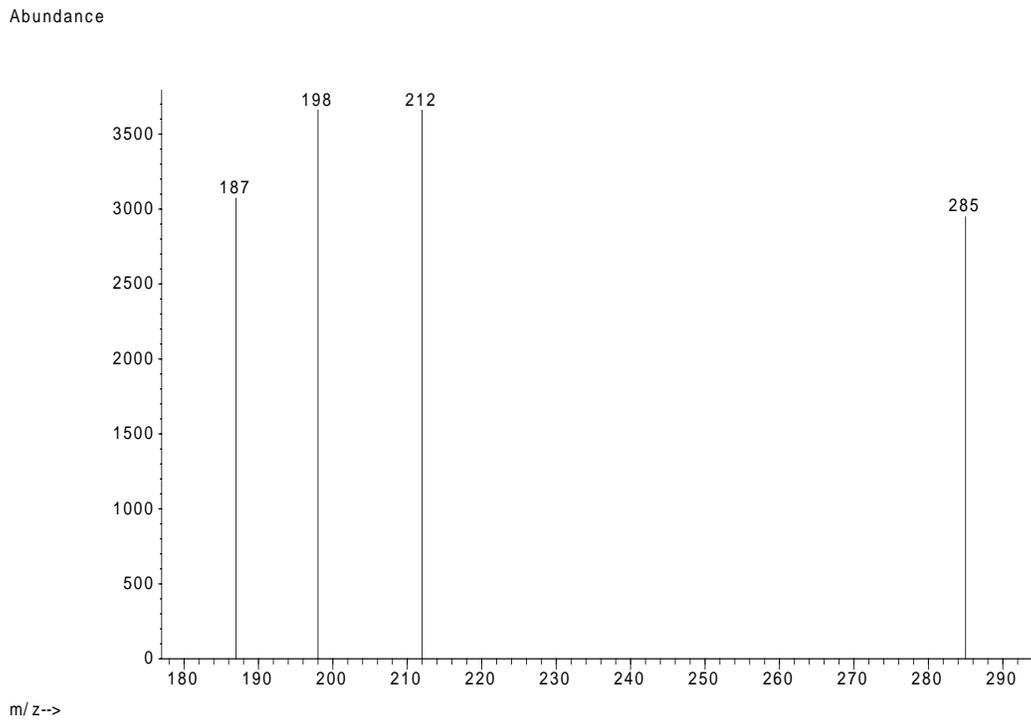
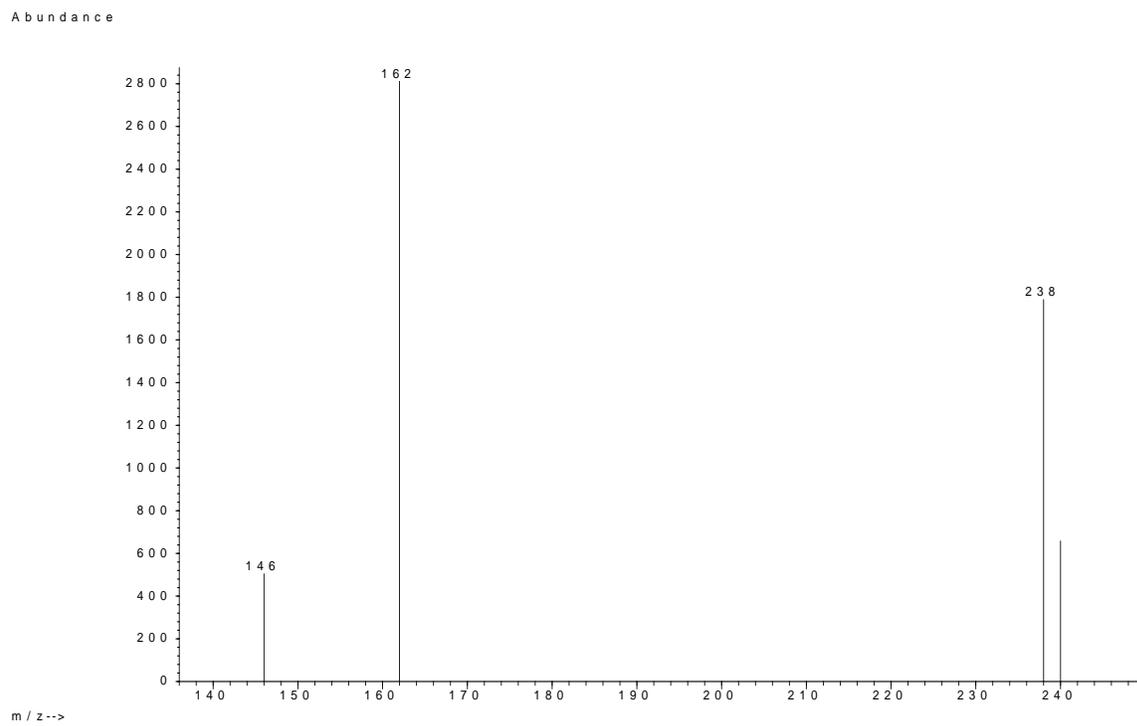


Figura 6-6. Espectro de masas típico obtenido para metolacoloro



6.2 OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO

Para optimizar el método se hicieron pruebas por triplicado de cada prueba. Se controlaron todas las condiciones a excepción de la variable a optimizar. Una vez encontrado el estado óptimo adecuado de dicha variable, se prosiguió a valorar otra. Siempre se consideraron los valores optimizados de las variables anteriores. Se comenzó por el tipo de fase, tipo de extracción, posteriormente con la temperatura y tiempo de extracción, saturación de sal y tiempo de desorción. Cabe resaltar que todos los experimentos se fijaron a un pH de 3, a excepción de los experimentos para optimizar el tipo de fase. Para todas las pruebas se mantuvo el programa de temperatura indicado en la sección **5.2.3 Especificaciones cromatográficas** y **6.1 Condiciones cromatográficas**. Para todas las pruebas se utilizaron viales de 20 mL, un volumen acuoso de 10.0mL y agitación magnética constante.

En la **Tabla 6-3** se muestran las condiciones en las que se realizó cada extracción para la optimización de sus variables. Primero se optimizó el tipo de fase, una vez elegida PDMS de 100 μm , con ella se realizaron los siguientes experimentos. Posteriormente se evaluó la temperatura de extracción y se dejaron las demás variables fijas. Una vez optimizada, se evaluó el tiempo de extracción considerando la temperatura óptima de extracción así como el tipo de fase, y así sucesivamente.

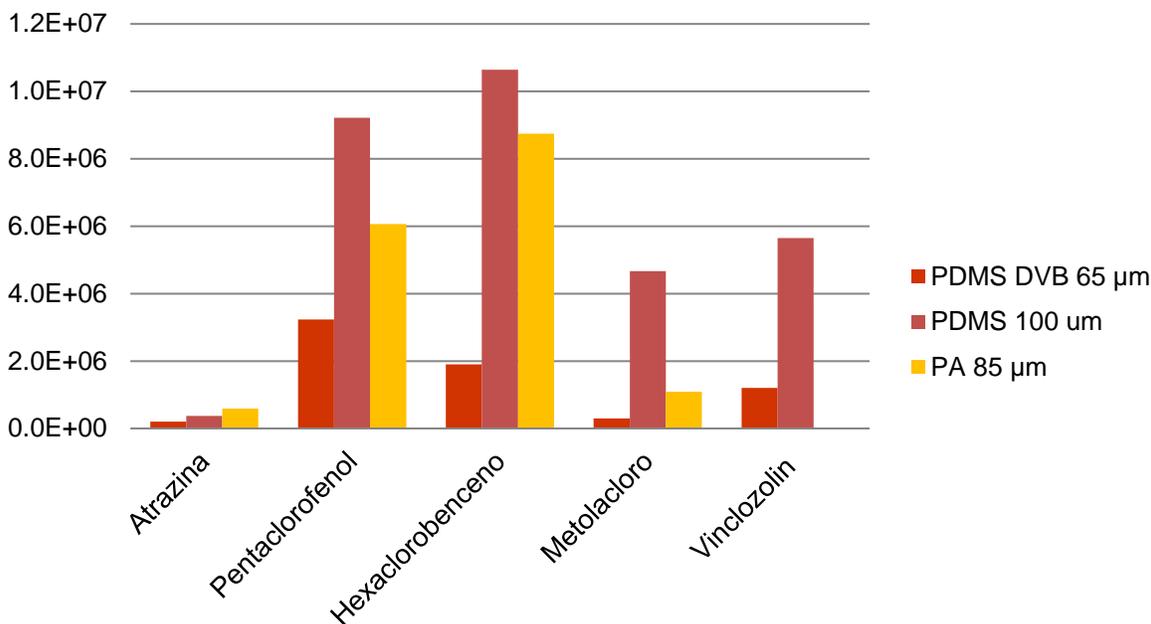
Tabla 6-3. Condiciones de cada experimento en su optimización. Cada variable se numera en el orden en que se optimizó.

	Variables de cada experimento	1.Tipo de fase	2.Temperatura de extracción	3.Tiempo de extracción	4.Saturación de sal	5.Tiempo de desorción
Condiciones experimentales en cada extracción	Volumen de agua Tipo I [mL]	10	10	10	10	10
	Agitación	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
	pH	Sin fijar	3	3	3	3
	Tipo de fase	Variable	PDMS 100 μm	PDMS 100 μm	PDMS 100 μm	PDMS 100 μm
	Tipo de extracción	HS-SPME	ID-SPME	ID-SPME	ID-SPME	ID con HS-SPME
	Temperatura de extracción [°C]	50	variable	35	35	35
	Tiempo de extracción [min]	20	20	variable	25 ID + 5 HS	26 ID + 5 HS
	Saturación de sal NaCl %	80	80	80	variable	80
	Tiempo de desorción [min]	10	10	10	10	variable
	Concentración de los analitos [μgL^{-1}]	120	250	120	120	120

6.2.1 TIPO DE FASE EXTRACTANTE

Condiciones: 10.0 mL de agua tipo I, agitación, pH sin fijar, tipo de extracción HS-SPME, temperatura de extracción de 50°C, tiempo de extracción de 20 minutos, 80% de saturación de sal NaCl, 10 min de tiempo de desorción, y concentración de analitos de 120 μgL^{-1} .

Gráfica 6-2. Pruebas para la optimización del tipo de fase extractante. (PDMS/DVB de 65 μm , PDMS 100 μm y PA de 85 μm .)

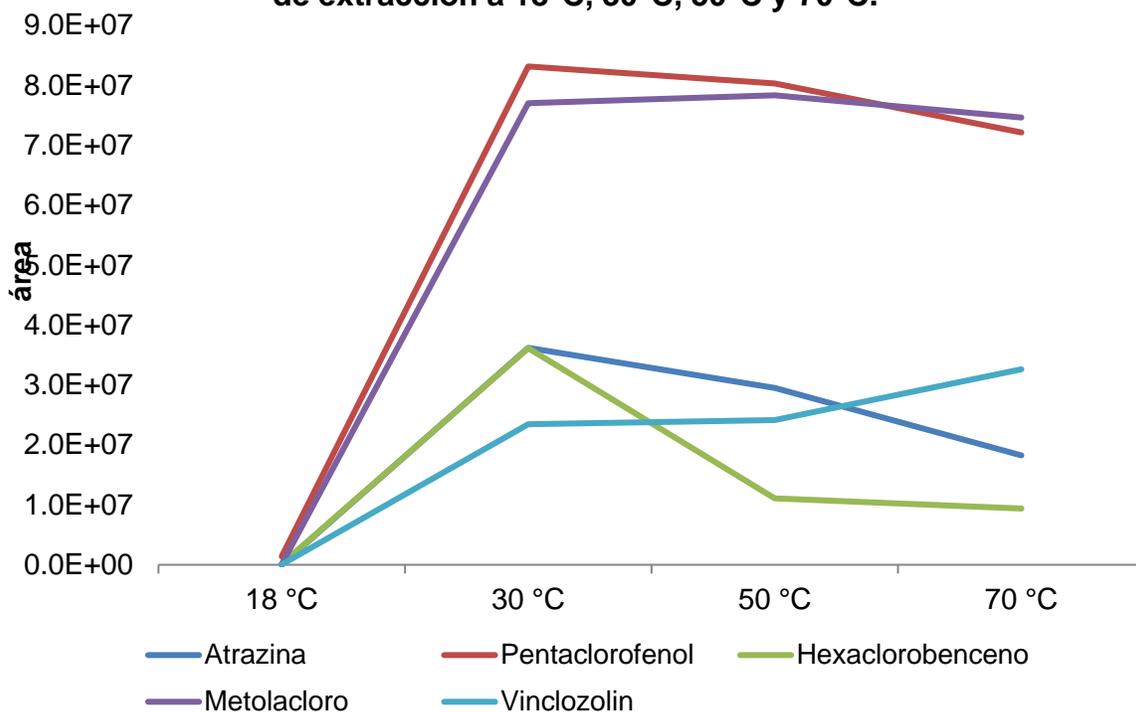


Fase extractante elegida: PDMS 100 μm . Es necesario hacer pruebas previas para saber qué tipo de fase es la adecuada para los compuestos a analizar. (Gráfica 6-2) Los compuestos triazínicos, según la literatura, se extraen mejor con fases polares o semi polares, sin embargo, se prefirió darle prioridad a los 4 analitos que mantenían una mejor respuesta.

6.2.2 TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN

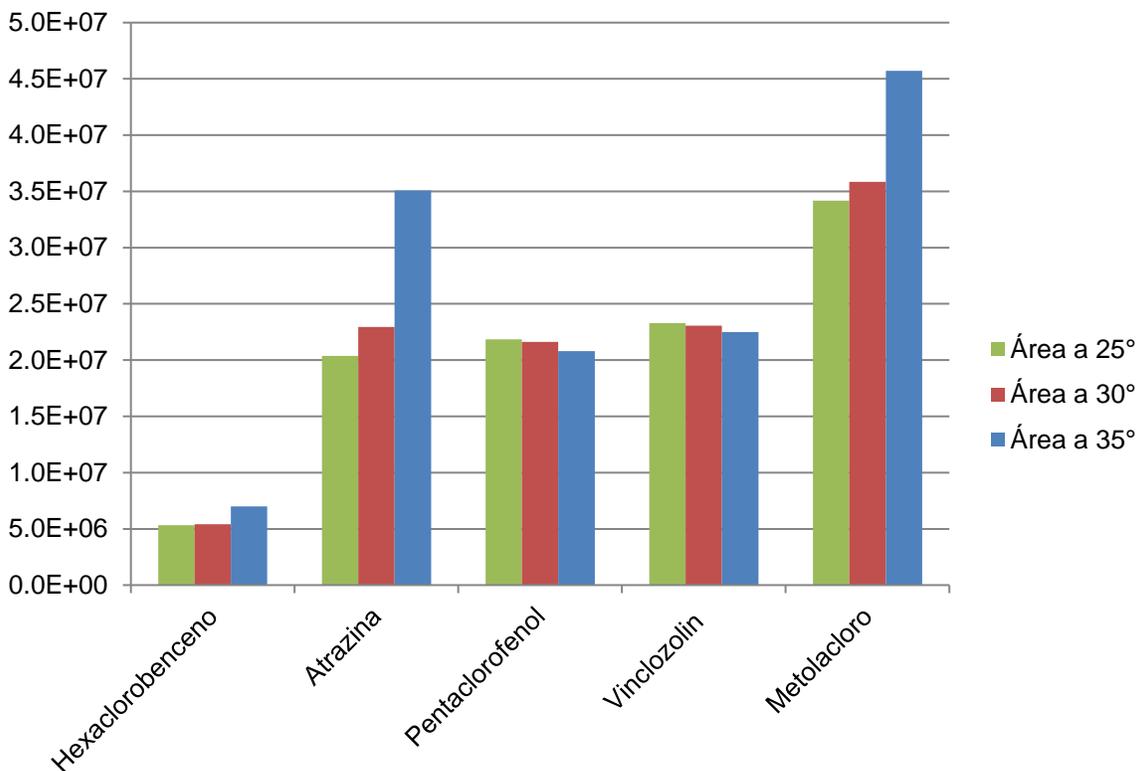
Condiciones: 10.0 mL de agua tipo I, con agitación, pH de 3, fase PDMS de 100 μm , tipo de extracción ID-SPME, tiempo de extracción de 20 minutos, 80% de saturación de sal NaCl, 10 min de tiempo de desorción, y concentración de analitos de 250 μgL^{-1} .

Gráfica 6-3. Pruebas para la optimización de la temperatura de extracción a 18°C, 30°C, 50°C y 70°C.



Con estos resultados se determinó que la mejor temperatura sería alrededor de 30°C, pues beneficia a la totalidad de los analitos. Además, la cantidad de sustancia extraída de atrazina se eleva, ya que se fija el pH a 3 y se realiza con inmersión directa. También puede observarse que para algunos la extracción es constante con la temperatura siempre que sea arriba de 18°C. Posteriormente se realizaron pruebas a 25°C y 35°C para una mejor elección de la temperatura. Los resultados se encuentran en la **Gráfica 6-4**.

Gráfica 6-4. Pruebas para la optimización de la temperatura de extracción a 25°C, 30°C y 35°C. Las pruebas a 30°C se repitieron en el laboratorio a la misma concentración de los demás analitos.

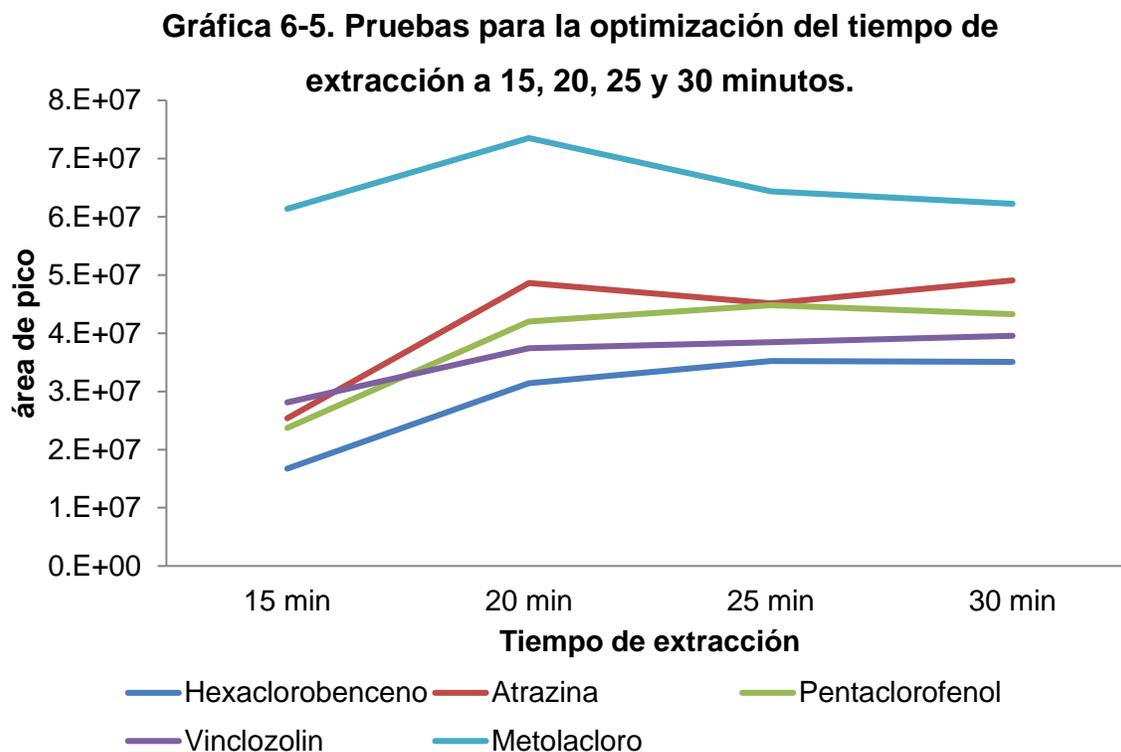


Se puede observar que la extracción se mantiene, para la mayoría de analitos, en este intervalo de temperatura, y que por lo tanto pueden trabajar en un rango alrededor de 30°C. Sin embargo, se eligió una temperatura de 35°C, ya que ésta favorece a atrazina y metolacoloro. Hay una baja respuesta de hexaclorobenceno, por lo que supone que dicho analito puede encontrarse volatilizado y no preferentemente en la fase acuosa.

6.2.3 TIEMPO DE EXTRACCIÓN

Condiciones: 10.0 mL de agua tipo I, con agitación, pH de 3, fase PDMS de 100µm, tipo de extracción ID y HS-SPME, temperatura de extracción de 35°C,

80% de saturación de sal NaCl, 10 min de tiempo de desorción, y concentración de analitos de 120 µgL⁻¹.



Las pruebas indicaron que el tiempo de extracción óptima que debe tener el modo de inmersión directa **ID-SPME es de 20 minutos**. Además de este tiempo, se debe considerar el modo de extracción también con HS-SPME, pues como se puede observar, el hexaclorobenceno, pentaclorofenol y vinclozolin se encuentran incluso por debajo de la respuesta que corresponde a atrazina. Esto quiere decir que estos analitos se encuentran preferentemente en la fase gaseosa, puesto que a 35°C éstos se encuentran mayoritariamente volatilizados.

6.2.4 TIPO DE EXTRACCIÓN

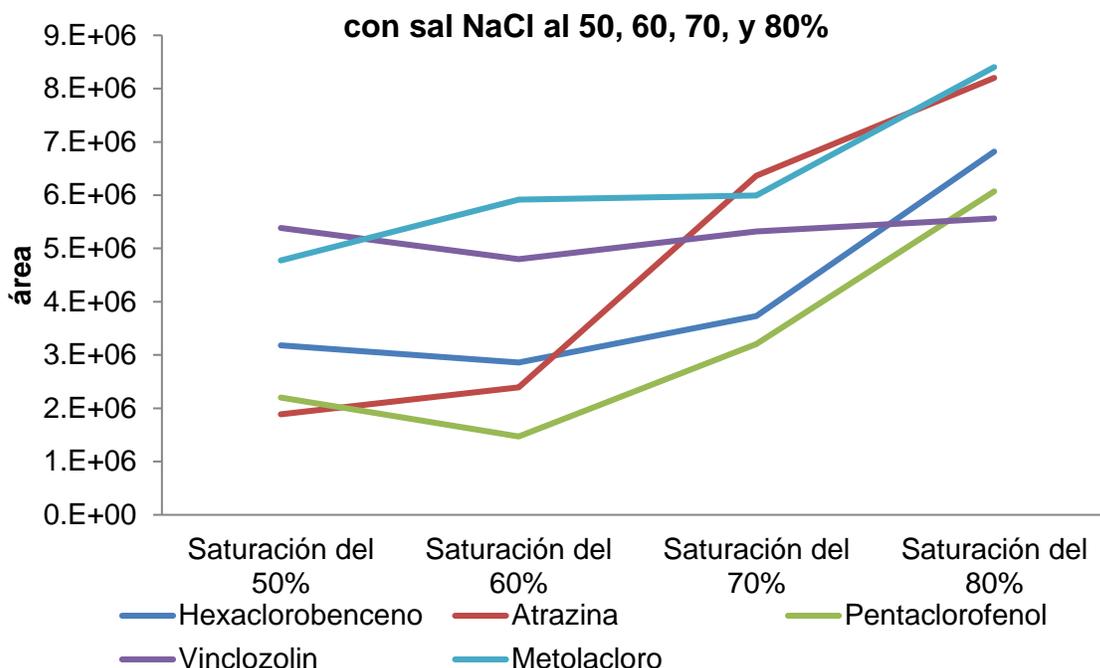
Con el tipo de fase elegido, se consideró un tiempo de 5 minutos en modo headspace (HS-SPME) para que los analitos más volátiles consiguieran ser extraídos. Además, se planteó que la extracción tuviera primeramente una parte de inmersión directa (ID-SPME) para asegurar que los analitos moderadamente volátiles fueran extraídos. De modo que el tipo de extracción será ID-SPME seguido de 5 minutos de HS-SPME, puesto que ese tiempo es suficiente para asegurar una buena respuesta. La experimentación se hizo variando el orden en que se realizaban estos tipos de extracción y se concluyó que era mejor que el modo de inmersión directa sucediera primero, seguido del modo *headspace*.

6.2.5 SATURACIÓN CON CLORURO DE SODIO

Condiciones: 10.0 mL de agua tipo I, con agitación, pH de 3, fase PDMS de 100 μm , tipo de extracción ID y HS-SPME, temperatura de extracción de 35°C, tiempo de extracción de 20 minutos por inmersión directa y 5 por headspace, 10 minutos de tiempo de desorción, y concentración de analitos de 120 μgL^{-1} .

Como se observa, la variación de la fuerza iónica sí actúa considerablemente con

Gráfica 6-6. Pruebas para la optimización de la saturación

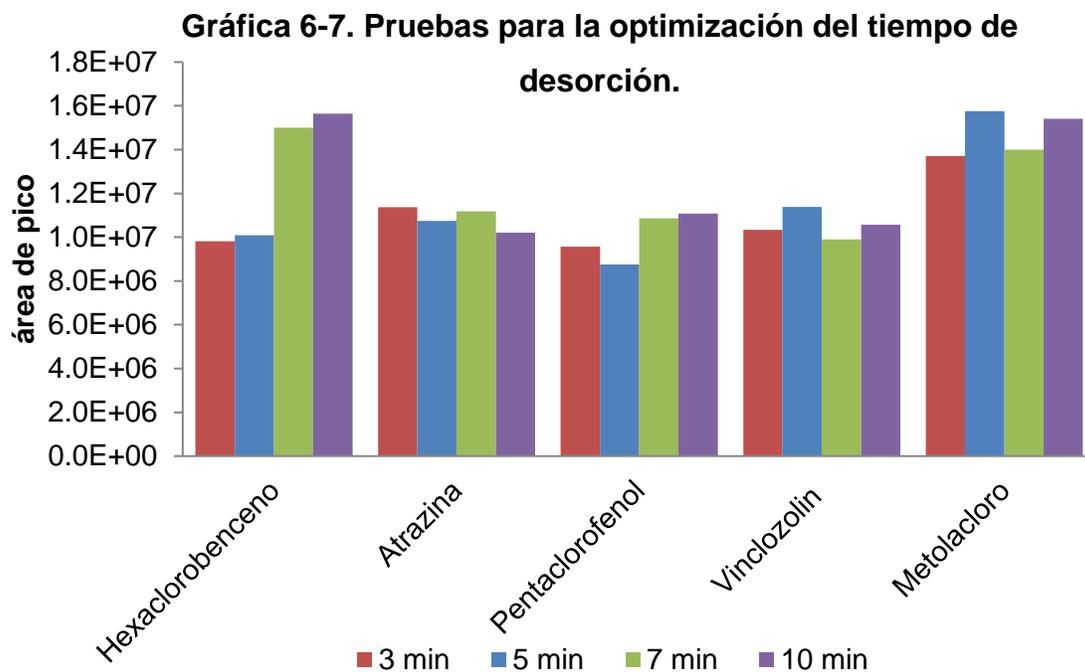


los analitos en cuestión, favoreciendo su salida de la fase acuosa. La saturación de sal al 80% es la adecuada para su extracción.

6.2.6 TIEMPO DE DESORCIÓN

Condiciones: 10.0 mL de agua tipo I, con agitación, pH de 3, fase PDMS de 100 μm , tipo de extracción ID y HS-SPME, temperatura de extracción de 35°C, tiempo de extracción de 20 minutos por inmersión directa y 5 por headspace, saturación de sal del 80% y concentración de analitos de 120 μgL^{-1} .

El tiempo más adecuado para los analitos, aparentemente es de 5 minutos. Sin embargo, se eligió un tiempo de desorción de 7 minutos para que la señal correspondiente al hexaclorobenceno tuviera una mejor respuesta.



Finalmente, las condiciones optimizadas para realizar el análisis en cada extracción son las que se plantean en la **Tabla 6-4**.

Tabla 6-4. Condiciones del método optimizado (SPME; GC-MS)

SPME	
Volumen de muestra	10.0 mL
pH	3
Agitación	Constante
Fase	PDMS de 100µm
Temperatura de extracción	35°C
Tiempo de extracción	20 minutos en ID-SPME, seguido de 5 minutos en HS-SPME
Saturación de sal NaCl	80%
Tiempo de desorción	7 minutos
GC-MS	
Gas	Helio alta pureza, 1.2 mL min ⁻¹
Inyección	Splitless
Columna	Capilar HP5-MS-UI
Temperatura de inyector	270°C
Temperatura de interfaz	280°C
Rampa de calentamiento	Gráfica 5-1
Modo de ionización	Impacto de electrón a 70eV
Solvent delay	2 minutos

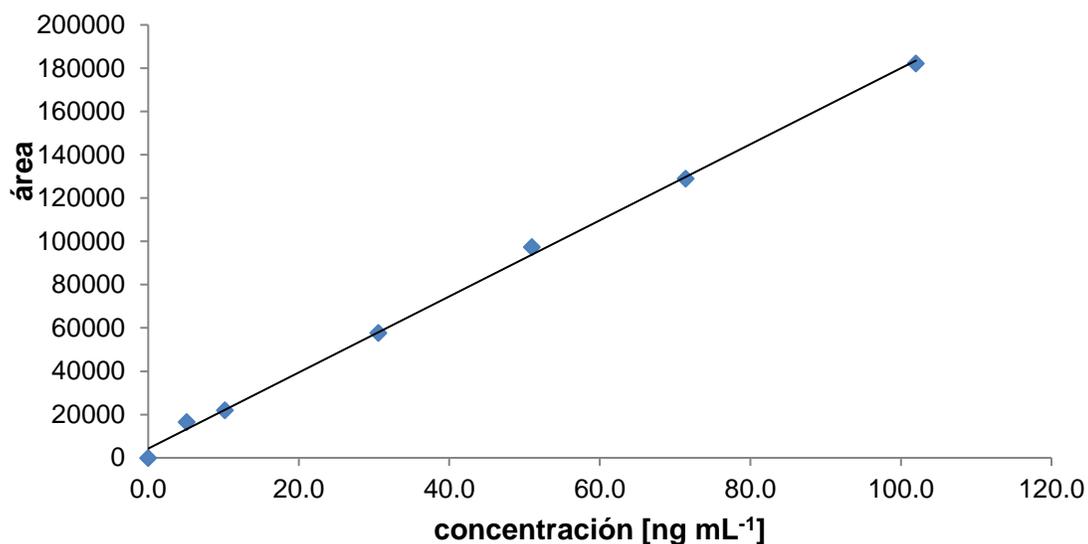
6.3 PARÁMETROS DE CALIDAD

Para poner a prueba el método optimizado, se evaluaron algunos parámetros de validación. Además, se desarrollaron curvas de calibración para cada uno de los analitos. Posteriormente se realizó un ajuste lineal por mínimos cuadrados. Una vez realizado este proceso de validación parcial, se procedió a analizar las muestras reales. Dichos parámetros de validación se realizaron de acuerdo a la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (2011).

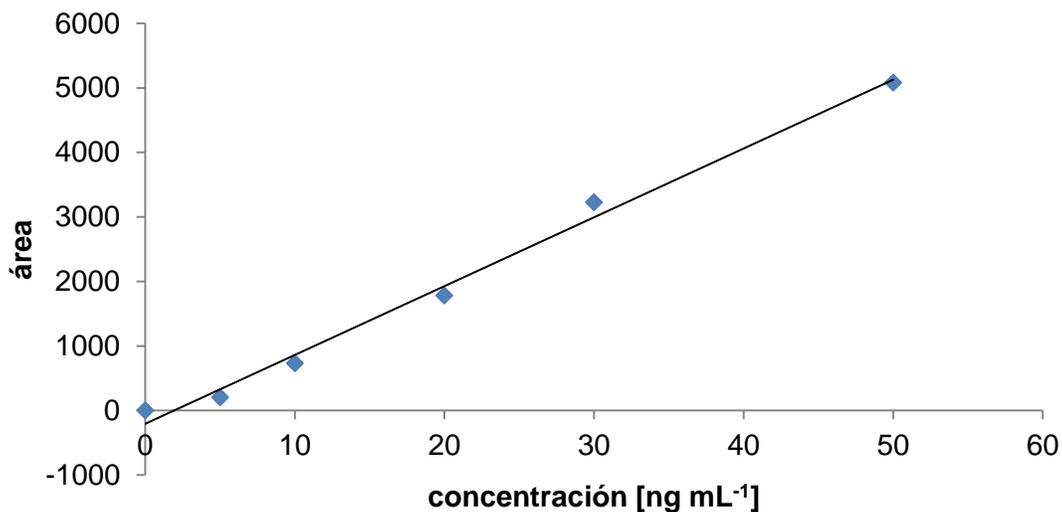
El **intervalo en el que se trabajó** fue de 5 a 100 ng mL⁻¹, mediante 7 puntos incluyendo el blanco. Cada uno por triplicado. Cada uno de los experimentos se realizaron bajo el método SPME / GC-MS optimizado planteado anteriormente. En dicho intervalo existe un comportamiento lineal en la gráfica de concentración en relación con la respuesta analítica. Para la atrazina, el intervalo de trabajo fue de 5 a 50 ng mL⁻¹, ya que pierde linealidad antes de los 100 ng mL⁻¹. Para corroborar la linealidad, los diagramas de residuales son una de las dos herramientas de ayuda (**ANEXO II, Gráficas I a V**). Estos indicaron que atrazina puede tener una tendencia no lineal, pues tiene tres puntos que no son aleatorios. Sería necesario realizar más puntos en este intervalo de trabajo y concluir si efectivamente responde a la linealidad requerida. Lo mismo sucede con vinclozolin, en los últimos dos puntos de concentración. Sin embargo, el segundo parámetro que contamos es el coeficiente de correlación. Éste indicó que el método era aceptable para todos los analitos por su $r \geq 0.98$ (**Tabla 6-7**), por lo que se decidió mantener el intervalo de trabajo inicial, a excepción de atrazina (5 a 50 ng L⁻¹).

A continuación se presentan las curvas de calibración de los analitos. Cada uno de los experimentos se realizaron por triplicado y bajo el método SPME / GC-MS optimizado planteado anteriormente. En las **Gráficas 6-8 a 6-12** se pueden observar dichas curvas para pentaclorofenol, hexaclorobenceno, atrazina, vinclozolin y metolacloro.

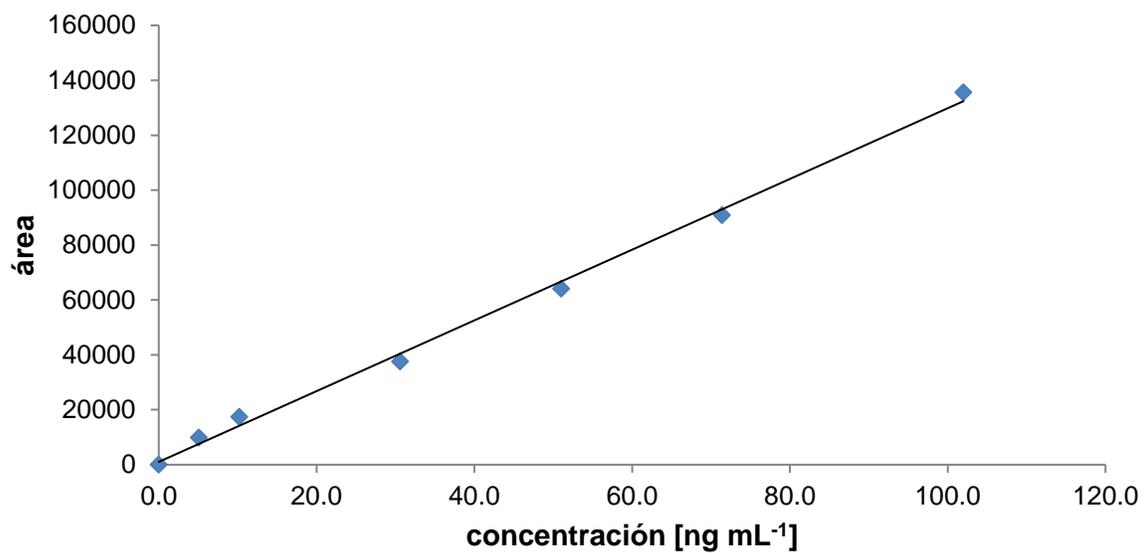
Gráfica 6-8. Curva de calibración para pentaclorofenol



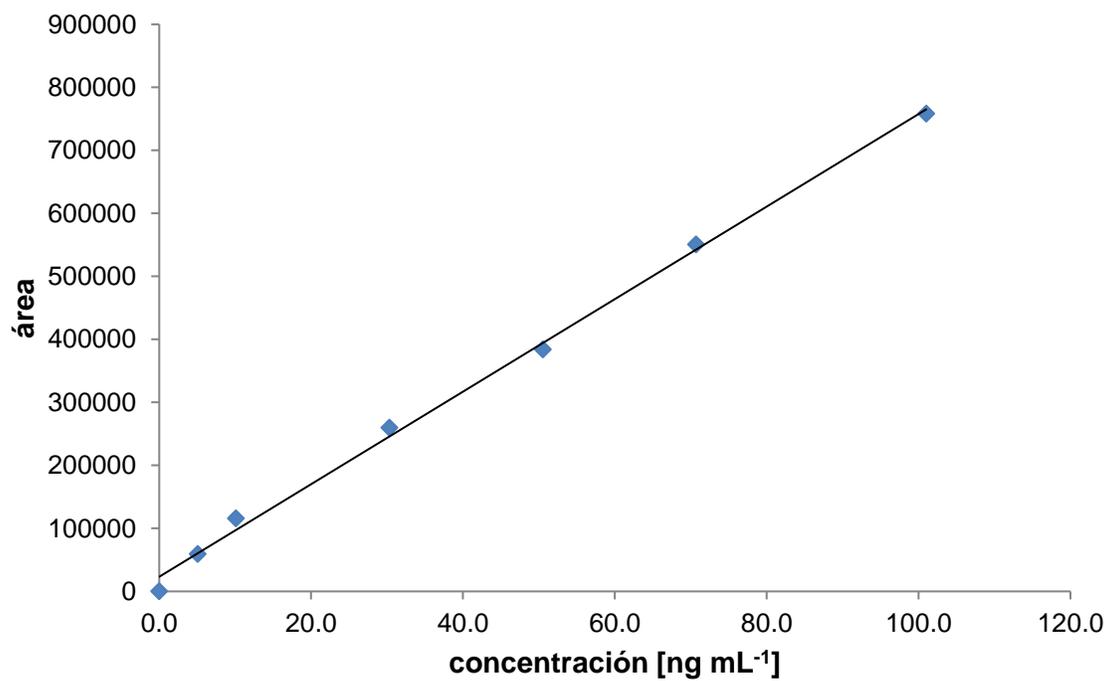
Gráfica 6-9. Curva de calibración para atrazina



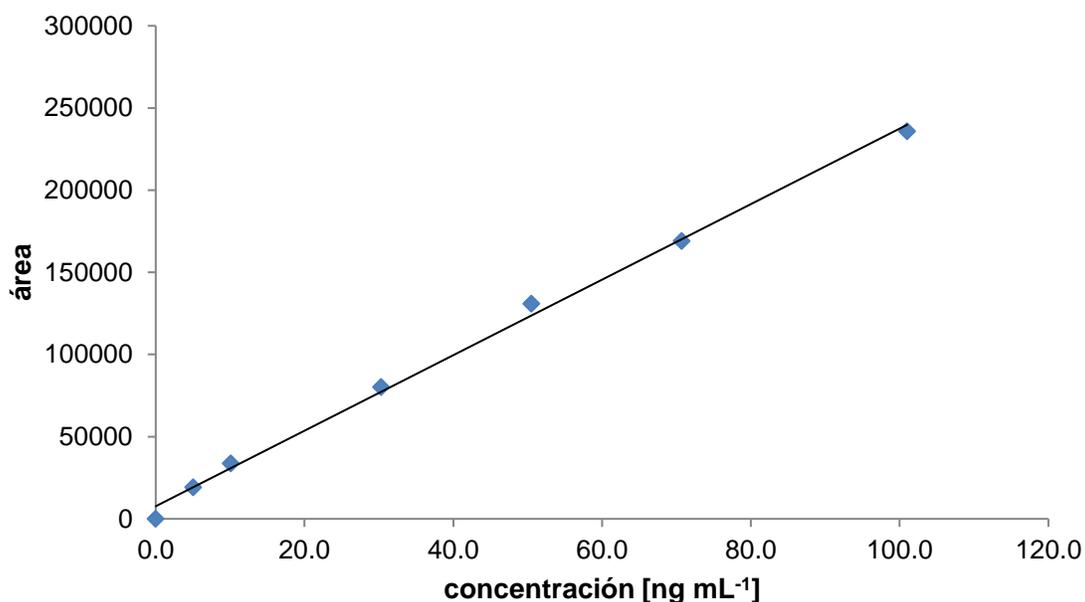
Gráfica 6-10. Curva de calibración para metolacloro



Gráfica 6-11. Curva de calibración para hexaclorobenceno



Gráfica 6-12. Curva de calibración para vinclozolin



En la **Tabla 6-5** se muestran los ajustes lineales para cada curva, además de algunos parámetros importantes: **intervalo lineal**, coeficiente de determinación **R²**, coeficiente de correlación **r**, límite de detección (**LOD**), y límite de cuantificación (**LOQ**). Todas las lecturas analíticas fueron obtenidas a través del análisis de muestras independientes. Los límites de detección y cuantificación se realizaron de acuerdo a la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (2011). Los resultados pueden observarse en la **Tabla 6-3**.

La **sensibilidad** del método es favorable para todos los analitos. Aunque la pendiente de la recta de cada curva de calibración es positiva y mayor a uno, para atrazina presenta la menor sensibilidad de todos. Es decir, la relación entre el cambio de respuesta analítica por unidad de concentración es menor que los demás analitos. Esto sucede porque es el compuesto con más polaridad, y la fase extractante PDMS tiende a extraer mejor a compuestos no polares.

Tabla 6-5. Parámetros de validación (R^2 : coeficiente de determinación, LOD: Limite de Detección, LOQ: límite de cuantificación, m: pendiente de recta, b: ordenada al origen).

Analito	Intervalo lineal [ng mL⁻¹]	m	b	r	R2	LOD [ng mL⁻¹]	LOQ [ng mL⁻¹]
HCB	5-100	7344.2	23268.5	0.9986	0.9972	0.04	0.12
ATR	5-50	106.7	-207.0	0.9961	0.9923	0.34	1.03
PCP	5-100	1757.3	4268.5	0.9992	0.9984	0.07	0.22
VIN	5-100	2297.4	7690.2	0.9984	0.9969	0.07	0.22
MET	5-100	1288.1	1018.7	0.9984	0.9968	0.12	0.37

*ATR: Atrazina, HCB: hexaclorobenceno, MET: metolacloro, PCP: pentaclorofenol, VIN: vinclozolin.

Es de suponerse que la K_{fs} de la atrazina-fase extractante es menor que la K_{fs} de los demás analitos. Quienes presentan mejor sensibilidad en el método son vinclozolin y hexaclorobenceno (**Tabla 6-5**). Sin embargo, pentaclorofenol y metolacloro también presentan una buena sensibilidad, puesto que presentan valores altos de pendiente **m**.

Todas las curvas de calibración presentan un coeficiente de determinación del 0.99. Significa un ajuste lineal aceptable de acuerdo con la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (2011). Para conocer si existe efecto matriz,

sería necesario hacer pruebas con estándar interno, puesto que las curvas de calibración no tienden a cero en la ordenada al origen.

El **porcentaje de recuperación o recobro (%R)** se realizó en dos niveles de concentración distintos: 30 y 70 ng mL⁻¹ por triplicado. Para atrazina se realizó a 30 y 50 ng mL⁻¹. Para el **coeficiente de variabilidad** o desviación estándar relativa (**%DER**), se realizaron en los mismos niveles. Los resultados se presentan en la **Tabla 6-6**.

Tabla 6-6. Parámetros de validación %R (porcentaje de recobro) y %DER (desviación estándar relativa o coeficiente de variabilidad) en dos niveles de concentración, de 30 y 70 ng mL⁻¹.

Analito	30 ng mL ⁻¹		70 ng mL ⁻¹	
	%R	%DER	%R	%DER
Hexaclorobenceno	106.4	6.0	101.6	5.9
Atrazina	107.3	5.6	99.2	11.1
Pentaclorofenol	99.4	17.7	99.4	6.4
Vinclozolin	104.0	5.7	99.3	5.4
Metolacloro	92.6	1.5	97.7	8.7

*Para atrazina, el nivel alto de concentración no es de 70 ng mL⁻¹ sino de 50 ng mL⁻¹.

Todos los valores de desviación estándar relativa se sitúan de 1.5 a 17.7% para el nivel bajo de concentración, mientras que en el nivel alto se sitúan entre 5.4 y 11.1%. Por lo tanto, todos los valores son aceptables, puesto que no exceden el 20% establecido (**Tabla 6-9**). Para el porcentaje de recobro, los valores del nivel

bajo de concentración se encuentran entre 92.6 y 107.3%, y para el nivel alto de concentración se encuentran entre 99.2 y 101.6%. Todos los valores son admisibles, puesto que están dentro del intervalo permisible (**Tabla 6-8**). Estos valores indican que el método presenta una precisión y repetibilidad aceptable.

Los resultados anteriores indican que el método permite realizar una extracción de hexaclorobenceno, pentaclorofenol, vinclozolin y metolacloro de manera paralela y efectiva. Aunque el intervalo de trabajo fuera mayor que las concentraciones encontradas en la bibliografía (**Anexo III**). Para atrazina también es un método de extracción efectivo, aunque con consideraciones como la baja sensibilidad y el reducido intervalo de trabajo, en comparación con los resultados de los demás analitos. Además, en el análisis cuantitativo y cualitativo es posible mediante la cromatografía de gases en conjunto con espectrometría de masas.

Tabla 6-7. Criterios de aceptación para el intervalo lineal y el intervalo de trabajo (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011)

Parámetro	Criterio de aceptación
Intervalo lineal	a) Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica.
	b) Datos aleatorios en el gráfico de residuales
Intervalo de trabajo	a) Pendiente: valor cercano a 1
	b) Coeficiente de correlación: r ≥ 0.98 para cuantificación de residuos e impurezas r ≥ 0.99 para cuantificación de contenido e ingrediente activo

Tabla 6-8. Criterios de aceptación para el porcentaje de recuperación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011).

Recuperación para residuos y contaminantes en alimentos y agua.	
Concentración del analito	Criterio de aceptación
1 a 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ó $\mu\text{g L}^{-1}$	60-120%
10 a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ó $\mu\text{g L}^{-1}$	70-120%

Tabla 6-9. Criterios de aceptación para el porcentaje de recuperación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2011).

Repetibilidad y reproducibilidad para residuos y contaminantes en alimentos y agua	
Concentración del analito	Repetibilidad
1 a 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ó $\mu\text{g L}^{-1}$	DER \leq 30%
10 a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ó $\mu\text{g L}^{-1}$	DER \leq 20%

6.4 DETERMINACIÓN DE LOS CONTAMINANTES EN LAS MUESTRAS

Se realizó un muestreo de tres partes dentro del Valle del Mezquital, en donde se colectaron muestras de agua: en el manantial Cerro Colorado, en el Rio Tula y en

una parte del manantial Cerro Colorado que conecta con el desagüe del agua residual generada por los cultivos del rededor (**Figura 6-7**).

Figura 6-7a. Manantial Cerro Colorado. Tomada de CONAGUA 2007-2012. 6-7b. Manantial Cerro colorado, agua residual. Elaboración propia. 6-7c. Manantial Cerro colorado, agua limpia. Elaboración propia. 6-7 d. Zona de muestreo Rio Tula.





Para el análisis de dichas muestras se utilizó el método SPME/GS-MS optimizado con anterioridad. Se realizaron extracciones de las muestras por triplicado. Cada una de ellas fue diferente e independiente.

A pesar de que cuatro de los cinco picos correspondientes a los analitos estudiados están presentes en todas las muestras, dichas señales se encuentran por debajo del límite de cuantificación del método. La atrazina fue el único analito

que no se detectó. Probablemente se deba a que fue quien presentó menor sensibilidad al método o al tiempo de almacenaje de las muestras. Sin embargo, esto puede no significar que atrazina no esté presente en el los cuerpos de agua muestreados. Además, es necesario considerar que la estación del muestreo no necesariamente coincide con la época de aplicación de éstos plaguicidas.

En la **Tabla 6-10** se observan los resultados de dichas muestras.

Tabla 6-10. Resultados del análisis de plaguicidas en las muestras acuosas en el Valle del Mezquital.

Analito	Cerro Colorado	Rio Tula	Cerro Colorado Residual
HCB	>LOD	>LOD	>LOD
ATR	ND	ND	ND
PCP	>LOQ	>LOD	>LOD
VIN	>LOD	>LOD	>LOD
MET	>LOQ	>LOD	>LOQ

*HCB: hexaclorobenceno, ATR: Atrazina, PCP: pentaclorofenol, VIN: vinclozolin, MET: metolacoloro.

7. CONCLUSIONES

El método SPME GC-MS desarrollado en este trabajo representa un método eficiente para la determinación de contaminantes a niveles traza en matrices acuosas.

SPME es una metodología analítica versátil, que incluso ayuda a analizar compuestos de familias químicas diferentes en una misma extracción, como se vio en este trabajo, siempre que cumplan con características fisicoquímicas generales adecuadas para esta técnica.

La metodología basada en la SPME seguida de GC-MS resultó ser rápida y repetible para la determinación simultánea de cinco plaguicidas: hexaclorobenceno, atrazina, pentaclorofenol, metolacloro y vinclozolin, considerados contaminantes emergentes y con características de probabilidad de disrupción endócrina. Sin embargo, es necesario realizar la totalidad de parámetros de validación (reproducibilidad, robustez, etcétera), además de aumentar el número de pruebas para mejorar la evaluación del método.

Asimismo, con dicha metodología se detectó la presencia de pentaclorofenol, hexaclorobenceno, vinclozolin y metolacloro en los sitios muestreados en el Valle del Mezquital. Todos por debajo del límite de cuantificación, LOQ. Suponemos que la ausencia de atrazina se debe a su baja sensibilidad en el método.

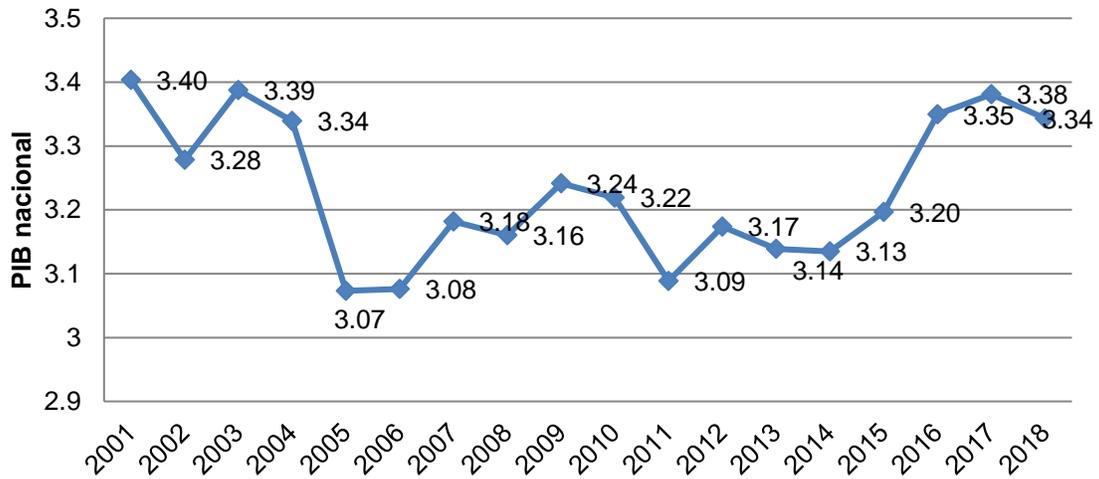
Este trabajo puede sentar bases para evidenciar la presencia de plaguicidas no normados en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, la Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-

1997 y en la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, así como la urgencia de poner atención en el estudio y la normatividad de dichos plaguicidas y en general de los contaminantes emergentes.

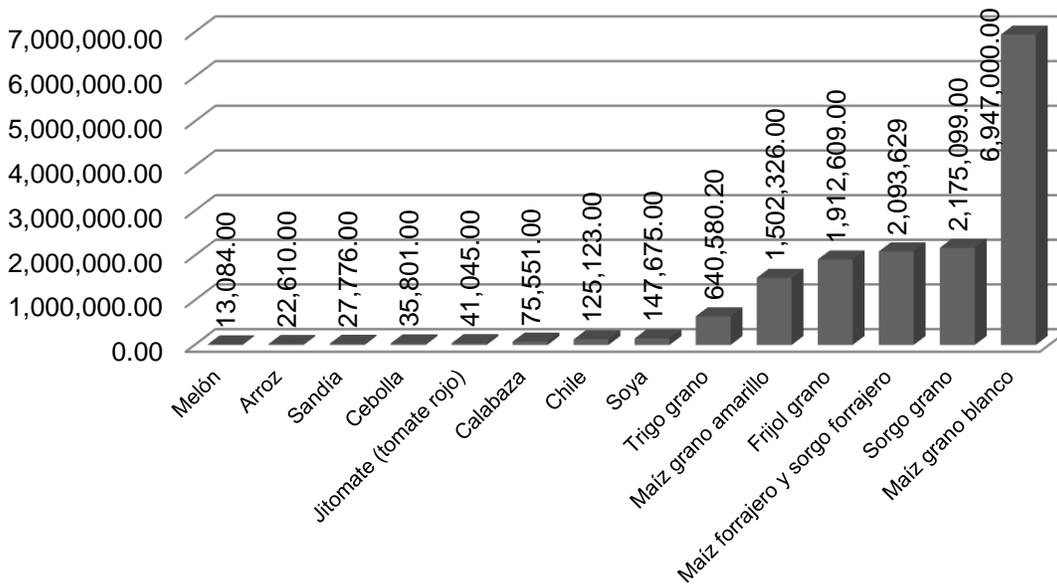
Es importante crear e implementar políticas públicas enfocadas en la salud pública y garantizar la seguridad en los sistemas acuáticos. Además del estudio de nuevos contaminantes, se sugiere a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 que los análisis químicos estén basados en SPME o alternativas analíticas verdes.

ANEXO I. AGRICULTURA Y PLAGUICIDAS EN MÉXICO

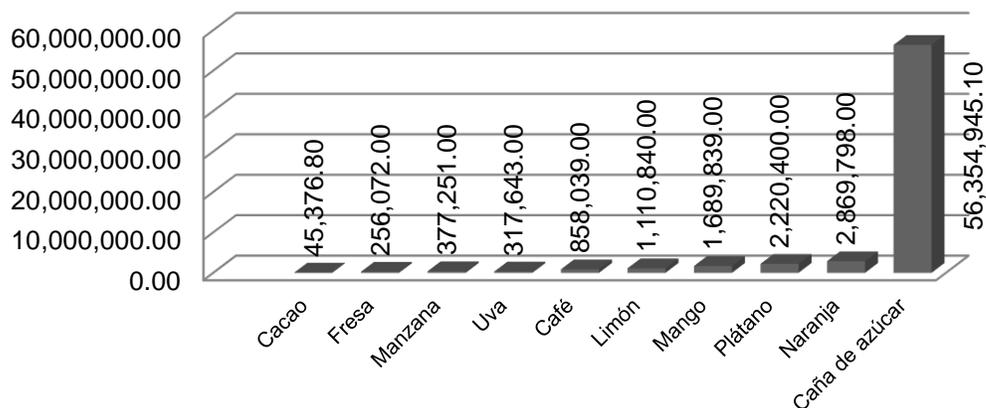
Gráfica I. Agricultura. (% del PIB de 2001 a 2018) Banco mundial (2019).



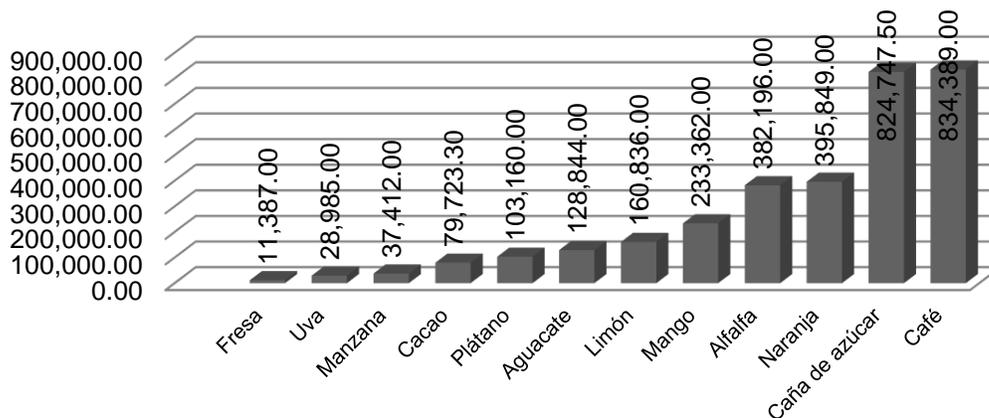
Gráfica II. Superficie sembrada o plantada (hectáreas).



Gráfica III. Cultivos perennes. Producción a cielo abierto (toneladas)



Gráfica IV. Cultivos perennes. Superficie cultivada a cielo abierto (hectáreas)



Datos tomados de INEGI. <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/> Gráfica propia.

Tabla I. Indicadores del consumo aparente y comercialización de plaguicidas en México

Importación		Exportación		Consumo aparente		Producción	
Cantidad [MDT]	AÑO	Cantidad [MDT]	AÑO	Cantidad [MDT]	AÑO	Cantidad [MDT]	AÑO
32.7	1994	4.8	1994	37.7	1994	9.8	1994
28.4	1995	8.6	1995	31.9	1995	12.1	1995
39.8	1996	9.9	1996	44.1	1996	14.2	1996
45	1997	11.8	1997	50.3	1997	17.1	1997
47.7	1998	12.7	1998	52.3	1998	17.3	1998
48.9	1999	13	1999	58.8	1999	22.9	1999
45.5	2000	13.8	2000	52.1	2000	20.4	2000
69.5	2001	14.5	2001	78.8	2001	23.8	2001
52.42	2002	15.61	2002	60.33	2002	23.52	2002
54.17	2003	21.52	2003	52.95	2003	20.31	2003
61.99	2004	16.69	2004	69.24	2004	23.93	2004
69.92	2005	12.94	2005	87.47	2005	30.49	2005
17.63	2006	2.31	2006	41.77	2006	26.45	2006
25.36	2007	2.29	2007	50.27	2007	27.2	2007
ND	2008	ND	2008	ND	2008	25.16	2008
ND	2009	ND	2009	ND	2009	26.02	2009
ND	2010	ND	2010	ND	2010	26.67	2010

Notas:

- 1) El consumo aparente se calculó con base a la producción, las importaciones y las exportaciones.
- 2) ND= Información no disponible.
- 3) $Ca = P + I - E$, donde Ca = consumo aparente de plaguicidas, P = producción anual, I =importación anual y E = exportación anual.

Fuentes:

Elaboración propia con datos de INEGI. La industria química en México. Ediciones 2000 y 2002. INEGI. México, 2001 y 2003.

INEGI. La industria química en México 2009. Serie estadísticas sectoriales . INEGI. México, 2010.

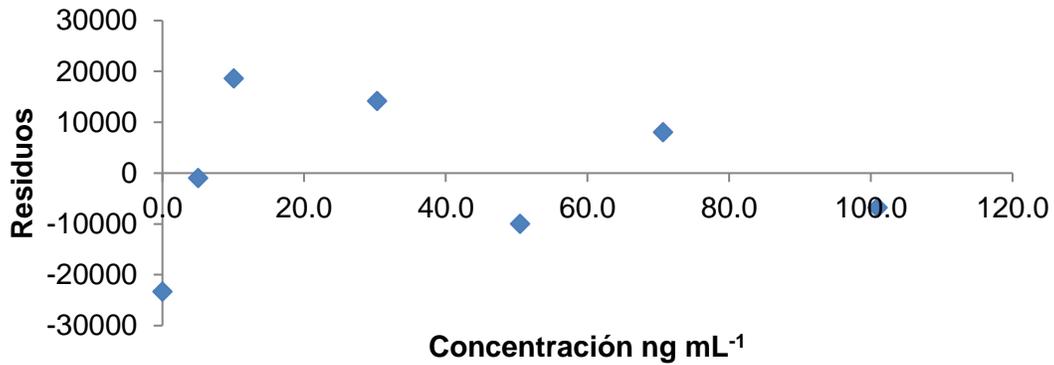
INEGI. El sector alimentario en México, 2009, 2010 y 2011 . Serie estadísticas sectoriales. INEGI. México, 2009, 2010 y 2011.

INEGI. Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera EMIM . INEGI. Disponible en:

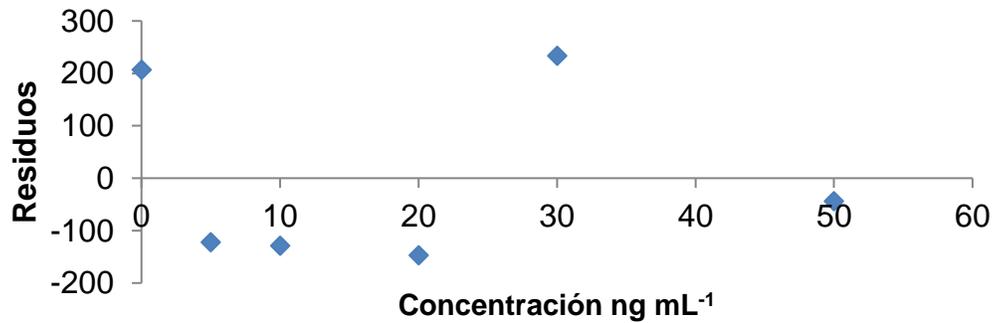
<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/establecimientos/secundario/emim/tabulados.aspx>.

ANEXO II. DIAGRAMAS DE RESIDUALES DE CADA CURVA DE CALIBRACIÓN

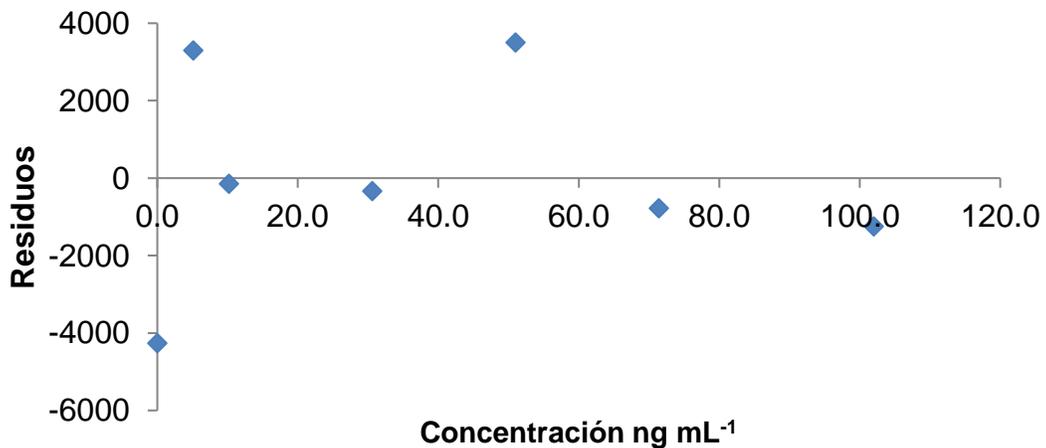
Gráfica I. Gráfica residuales de pentaclorofenol



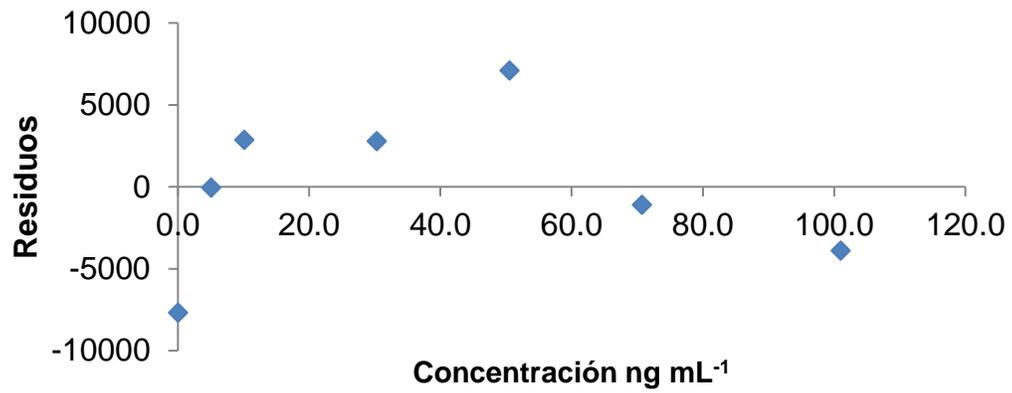
Gráfica II. Gráfica residuales de atrazina



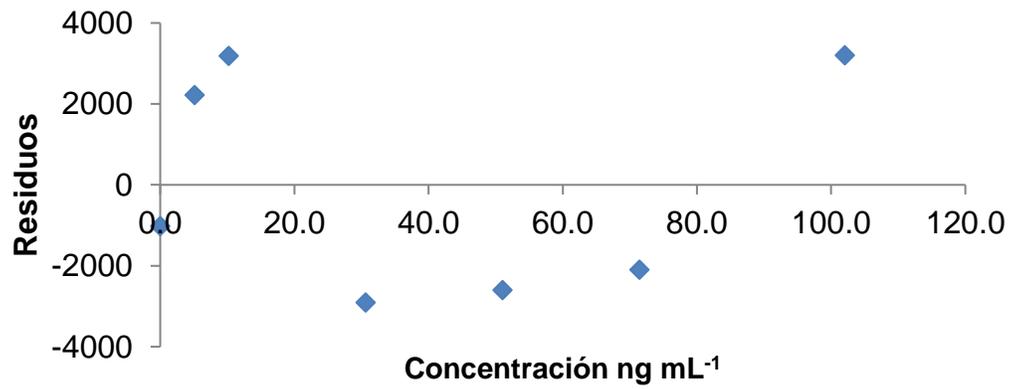
Gráfica III. Gráfica residuales de hexaclorobenceno



Gráfica IV. Gráfica residuales de vinclozolin



Gráfica V. Gráfica residuales de metolacloro



ANEXO III. INCIDENCIA DE LOS ANALITOS EN MATRICES ACUOSAS

Tabla II. Incidencia reportada de los analitos en matrices acuosas.

Matriz	Analito	Concentración [ng mL]	Metodología	Lugar y referencia
Agua superficial	Atrazina	1.571	SPE GC-MS y LC-MS/MS	Sudáfrica (Rimayi et al. 2018)
Agua superficial	Atrazina	0.6-20.6	SPME-CG-MS	EEUU (Pappas y Huang, 2008)
Agua superficial	Atrazina	49.3	SPE- GC-MS	EEUU (Rocha 2008)
Agua superficial	Atrazina	0.063-0.52	SPE- LC-MS/MS	EEUU-Canadá (Challis et al. 2018)
Agua superficial	Atrazina	0.7-19	SPME-GC/MS	Canadá (Rodríguez-Lafuente et al. 2016)
Agua superficial	Atrazina	7.0-1.5.0	SPE-C18/HPLC-DAD	Brasil (S. Sousa et al. 2016)
Agua superficial	Atrazina	0.0065-0.155	SPE-HPLC-MS/MS	Francia (Camilleri et al. 2015)
Agua superficial	Atrazina	0.07-19	SPE-CG/MS	EEUU (Smalling et al, 2015)
Agua superficial	Atrazina	0.350-0.475	*SPE-HPLC-DAD	China (Cao et al. 2017)
Agua superficial	Atrazina	>LOD(1.64 ng mL)	SPE LC-MS, GC-MS	Brasil (Rocha et al., 2015)
Agua superficial	Atrazina	1.61-7.31x10 ³	SPE GC-MS	EEUU (Raub ET AL. 2015)
Agua superficial	Hexaclorobenceno	0.115	SPME-GC/MS	China (Li, et al., 2010)

Tabla II. Incidencia reportada de los analitos en matrices acuosas. (Continuación)

Matriz	Analito	Concentración [ng mL]	Metodología	Lugar y referencia
Agua superficial	Hexaclorobenceno	61.4	SPME-GC-ECD	Botsuana (Mmualefe et. Al. 2009)
Agua de lluvia	Hexaclorobenceno	0.0627	*SPME-GC/MS	China (Ke et al.,2013)
Agua superficial	Metolacoloro	22.2	SPE- GC-MS	St Joseph River, EEUU (Rocha 2008)
Agua superficial	Metolacoloro	1.3-15	SPME-GC/MS	Canadá (Rodríguez-Lafuente et al. 2016)
Agua superficial	Metolacoloro	0.028-0.28	SPE-GC/MS	EEUU (Hladik et al. 2008)
Agua superficial	Metolacoloro	0.012-0.017	SPE-HPLC-MS/MS	Suiza-Francia (Chèvre et al. 2008)
Agua superficial	Metolacoloro	0.14	SPE-CG/MS	USA (Smalling et al, 2015)
Agua superficial	Metolacoloro	0.039	SPE UHPLC-MS-MS and GC-MS	Italia (Loos et al., 2017)
Agua superficial	Metolacoloro	0.0127-0.02	SPE LC-MS/MS	Brasil (Arias et al., 2017)
Agua superficial	Metolacoloro	ND	SPE LC-MS/MS	Brasil (Rocha et al., 2015)
Agua superficial	Metolacoloro	0.007	SPE LCMS/MS Y GC-MS/MS	Grecia (Charalampous et al., 2015)
Agua superficial	Metolacoloro	ND	SPE GC-MS	EEUU (Raub ET AL. 2015)
Agua superficial	Pentaclorofenol	0.3-18	SPME-GC/MS	Canadá (Rodríguez-Lafuente et al. 2016)

Tabla II. Incidencia reportada de los analitos en matrices acuosas. (Continuación)

Matriz	Analito	Concentración [ng mL]	Metodología	Lugar y referencia
Agua superficial	Pentaclorofenol	0.036-0.117	SPE-GC/MS	Polonia (Michałowicz et al. 2008)
Agua superficial	Pentaclorofenol	0.0011-0.594	SPME-GC/MS	China (Gao et al. 2008)
Agua potable	Pentaclorofenol	1.07	*SPME-HPLC- DAD	China (Mei et al., 2014)
Agua superficial	Pentaclorofenol	71	HS-SPME-IMS	Finlandia (Holopainen et al., 2013)
Agua potable	Pentaclorofenol	0.06 ± 0.0025	SPE GC-ECD	Ben Hassine (2015)
Agua superficial	Pentaclorofenol	0.07	SPE GC-MS	Hungría (Kovács et al. 2011)
Agua superficial	Vinclozolin	0.025-0.06	SPE GC-ECD GC-MS	Grecia (Valsamaki, et al., 2007)
Agua superficial	Vinclozolin	NR	SPE HPLC DAD	Italia (D'Archivio, et al., 2007)
Agua superficial	Vinclozolin	ND	SPME Y SPE	Grecia (Lamboproulou et al., 2000)

***Fase no comercial. NR: no reportada. ND: no detectada.**

8. REFERENCIAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1996). Toxicological Profile for Hexachlorobenzene. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, EEUU.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1999). Toxicological Profile for Pentachlorophenol. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, EEUU.
- Alpendurada, M. F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for simple. *Journal of Chromatography A*, (889) 3–14.
- Altschuh, J., Brueggemann, R., Santl, H., Eichinger, G., Piringer, O., (1999). Henry's law constants for a diverse set of organic chemicals: Experimental determination and comparison of estimation methods. *Chemosphere*. 39 (11), 1871 – 1887.
- Arias, J. L. de O., Schneider, A., Batista-Andrade, J. A., Vieira, A. A., Gehrke, V. R., Camargo, E. R., Primel, E. G. (2017). Evaluation of dilute-and-shoot and solid-phase extraction methods for the determination of S-metolachlor and metolachlor-OA in runoff water samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Methods*, 9(39), 5777–5783.
- Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19), 2145–2148.
- Banco Mundial. (2019). Agricultura, valor agregado (% del PIB). Datos sobre las cuentas nacionales del Banco Mundial y archivos de datos sobre cuentas nacionales de la OCDE.
- Barceló, D., López de A., M. (2012). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona.
- Barreto Rosales, R. (2017). *Contaminantes Emergentes*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería. Ciudad de México.
- Basheer, C., Chong, H. G, Hii, T. M., Lee, H. K., (2007). Application of Porous Membrane-Protected Micro-Solid-Phase Extraction Combined with HPLC for the Analysis of Acidic Drugs in Wastewater, *Journal of Analytical Chemistry*. 69, 6845-6850.
- Bejarano González, F. (2017). *Los Plaguicidas Altamente Peligrosos en México*. (1ª edición). Texcoco, Estado de México: RAPAM.
- Ben Hassine, S., Hammami, B., Touil, S., & Driss, M. R. (2015). Determination of Chlorophenols in Water Samples Using Solid-Phase Extraction Enrichment Procedure and Gas Chromatography Analysis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(5), 654–660.
- Camilleri, J., Baudot, R., Wiest, L., Vulliet, V., Cren-Olive, C., Daniele, G., (2015) Multiresidue fully automated online SPE-HPLC-MS/MS method for the quantification of endocrine-disrupting and pharmaceutical compounds at trace level in surface water, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 95 (1) 67–81.

- Cao, W., Yang, B., Qi, F., Qian, L., Li, J., Lu, L., & Xu, Q. (2017). Simple and sensitive determination of atrazine and its toxic metabolites in environmental water by carboxyl modified polyacrylonitrile nanofibers mat-based solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography A* 1491 (2017) 16–26.
- Challis, J. K., Cuscito, L. D., Joudan, S., Luong, K. H., Knapp, C. W., Hanson, M. L., & Wong, C. S. (2018). Inputs, source apportionment, and transboundary transport of pesticides and other polar organic contaminants along the lower Red River, Manitoba, Canada. *Science of The Total Environment*, 635, 803–816.
- Charalampous, A. C., Machera, K., Miliadis, G. E., & Koupparis, M. A. (2015). The spatial and temporal distribution/variation of pesticide residues in Viotikos Kifissos basin before and after the application of a low input crop management system. A three-year study. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95 (13), 1263–1282.
- Cheng H.H. (1990). *Pesticides in the soil environments - An overview*. SSSA Book Series. No. 2, Madison, WI.
- Christen, V., Crettaz, P., & Fent, K. (2014). Additive and synergistic antiandrogenic activities of mixtures of azol fungicides and vinclozolin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 279 (3), 455–466.
- COFEPRIS. (2019). Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. Base de datos. Consultado en Diciembre de 2019. Recuperado de <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp>
- Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. Clave CCAYAC-P-05. Secretaría de Salud, México.
- Comisión Europea. (2016). Comunicación de la Comisión al parlamento europeo y al Consejo relativa a los alteradores endocrinos y los proyectos de actos de la Comisión por los que se establecen los criterios científicos para su determinación en el contexto de la legislación de la UE en materia de productos fitosanitarios y biocidas. Bruselas.
- Comisión Nacional del Agua, CONAGUA. (2007–2012). Acciones de infraestructura de drenaje y abastecimiento de agua en el Valle de México. México, 1–122.
- Corporativo Acciona Agua. (2018). *La EDAR de Atotonilco (México), la mayor planta de tratamiento de aguas residuales del mundo, cumple un año desde su puesta en marcha*. CAA.
- Cruz Romero, J. R. (2018). *Diagnóstico de la disposición final de agua residual tratada en México, y rpropuesta técnica para el uso del agua en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM)*. (Tesis de Especialidad). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería. Ciudad de México.
- D'Archivio, A. A., Fanelli, M., Mazzeo, P., & Ruggieri, F. (2007). Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from

- groundwater coupled with high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 71(1), 25–30.
- Del Ángel Reyes, M. (2018). *Comparación de técnicas analíticas convencionales y microtécnicas analíticas para la determinación de plaguicidas en matrices acuosas*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Ciudad de México.
 - Dell'Anno, A., Raffaelli, F., Danovaro, R., Nanetti, L., Vignini, A., Moroni, C., Mazzanti, L. (2008). *Cytotoxic effects induced by hexachlorobenzene in Squilla mantis (L.) (Crustacea, Stomatopoda)*. *Environmental Toxicology*, 23(1), 9 – 14.
 - Duan, Z., Zhu, L., Zhu, L., Kun, Y., & Zhu, X. (2008). Individual and joint toxic effects of pentachlorophenol and bisphenol A on the development of zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 774–780.
 - Eckermann, C.; Matthes, B.; Nimtz, M.; Reiser, V.; Lederer, B.; Boeger, P.; Schroeder, J. (2003) Covalent binding of chloroacetamide herbicides to the active site cysteine of plant type III polyketide synthases. *Phytochemistry*, 64(6), 1045 – 1054.
 - Elias D., Bernot, M.J. (2014). Effects of Atrazine, Metolachlor, Carbaryl and Chlorothalonil on Benthic Microbes and Their Nutrient Dynamics. *Plos One* 9(10), 109-190.
 - Espinosa González, J. (2003). Muestreo para el Control de la Calidad de Plaguicidas Agrícolas. *Ministerio de desarrollo agropecuario. Organismo Internacional Regional de sanidad agropecuaria*. Panamá.
 - European Commission. (2019). Priority Substances and Certain Other Pollutants according to Annex II of Directive 2008/105/EC. Actualizado en 2019.
 - European Union Law. (2017). Proposal for a directive of the european parliament and of the council on the quality of water intended for human consumption (recast)
 - European Union. (2019). Pesticides Database. Active Substances.
 - Foradori, C. D., Sawhney Coder, P., Tisdell, M., Yi, K. D., Simpkins, J. W., Handa, R. J., y Breckenridge, C. B. (2014). The Effect of Atrazine Administered by Gavage or in Diet on the LH Surge and Reproductive Performance in Intact Female Sprague-Dawley and Long Evans Rats. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 101(3), 262–275.
 - Gałuszka, A., Migaszewski, Z. M., Konieczka, P. & Namies´nik, J. (2012) Analytical eco-scale for assessing the greenness of analytical procedures. *TrAC Trends Anal. Chem.* 37, 61–72.
 - Gao, J., Liu, L., Liu, X., Zhou, H., Huang, S., & Wang, Z. (2008). Levels and spatial distribution of chlorophenols – 2,4-Dichlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol, and pentachlorophenol in surface water of China. *Chemosphere*, 71(6), 1181–1187.
 - Gaucín, D. (2018). Desempeño del sector agroalimentario (I) *El Economista*. Consultado en Diciembre de 2019. Recuperado de <https://www.economista.com.mx/opinion/Desempeno-del-sector-agroalimentario-I-20180611-0098.html>
 - Gómez, M. J., Herrera, S., Sole, D., Garcia-Calvo, E., Fernandez-Alba, A. (2011). Automatic Searching and Evaluation of Priority and Emerging

- Contaminants in Wastewater and River Water by Stir Bar Sorptive Extraction followed by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography-Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 83(7), 2638 – 2647.
- Górecki, T., Yu, X., & Pawliszyn, J. (1999). Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *The Analyst*, 124(5), 643–649.
 - Gutiérrez, H., Arregui, M. (2000). Comportamiento de herbicidas en suelos, agua y plantas. *Revista FAVE. Universidad del Litoral*, 14(1), 73-89.
 - Hansch, C., Leo, A. y Hoekman, D., (1995). Exploring QSAR: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. *American Chemical Society*, Washington, DC.
 - He, P. y Aga D.S. (2019). Comparison of GC-MS/MS and LC-MS/MS for the analysis of hormones and pesticides in surface waters: Advantages and pitfalls. *Analytical Methods, Royal Society of Chemistry*, 1-37.
 - Hladik, M. L., Smalling, K. L., & Kuivila, K. M. (2008). A Multi-residue Method for the Analysis of Pesticides and Pesticide Degradates in Water Using HLB Solid-phase Extraction and Gas Chromatography–Ion Trap Mass Spectrometry. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(2), 139–144.
 - Holopainen, S., Luukkonen, V., Nousiainen, M., & Sillanpää, M. (2013). Determination of chlorophenols in water by headspace solid phase microextraction ion mobility spectrometry (HS-SPME-IMS). *Talanta*, 114,(2013) 176–182.
 - ICSC: 1360. (2000) Metolachlor. CAS number 51218-45-2.
 - INEGI. (2018). Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera EMIM. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/establecimientos/secundario/emim/tabulados.aspx>
 - Jaw, C., Chen, I., Yen, J., Wang, Y.(1999). Partial solubility parameters of chlorobenzene and chlorophenol compounds at equilibrium distribution in two immiscible phases. *Chemosphere*. 39(15), 2607-2620.
 - Jiménez Cisneros, B. E. (2001). La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. México: *Limusa, Colegio de Ingenieros Ambientales de Mexico, A.C., Instituto de Ingeniería de la UNAM y Femisca*.
 - Ke, Y., Zhu, F., Zeng, F., Luan, T., Su, C., & Ouyang, G. (2013). Preparation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber and its application on organochlorine pesticides determination. *Journal of Chromatography A*, 1300 (2013) 187–192.
 - Kovács, Á., Mörtl, M., & Kende, A. (2011). Development and optimization of a method for the analysis of phenols and chlorophenols from aqueous samples by gas chromatography–mass spectrometry, after solid-phase extraction and trimethylsilylation. *Microchemical Journal*, 99(1), 125–131
 - Lambropoulou, D. A., Konstantinou, I. K., & Albanis, T. A. (2000). Determination of fungicides in natural waters using solid-phase microextraction and gas chromatography coupled with electron-capture and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 893(1), 143–156.
 - Lei, Ying D., Wania, F., Shiu, W.Y., Boocock, D. (1999). Temperature Dependent Vapor Pressures of Chlorinated Catechols, Syringols, and Syringaldehydes. *Journal of Chemical and Engineering Data* 44(2), 200 – 202.

- Lesser-Carrillo, L.E., Lesser-Illades, J.M., Arellano-Islas, S, González-Posadas, D. (2011) Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle Mezquital. *México central: Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3), 323-336.
- Li, Wei, Xinran, Liang, Jinming Duan, Beecham Simon; Mulcahy, Dennis. (2018) Influence of spent filter backwash water recycling on pesticide removal in a conventional drinking water treatment process. *Environmental Science Water Research & Technology*, 4, 1057–1067.
- Li, X.-J., Ye, C.-W., Huo, X.-L., & Zeng, Z. (2010). Solid-phase microextraction using a diglycidyl ether of poly(arylene ether sulfone) coated fiber combined with gas chromatography: very simple, rapid and sensitive method for the determination of chlorobenzenes in water. *Microchimica Acta*, 168(12), 161–167.
- Lide, D.R., Milne, G.W.A. (1994). *Handbook of Data on Organic Compounds*. Volume I. 3ª edición. Press, Inc. Boca Raton ,FL.
- Loos, R., Tavazzi, S., Mariani, G., Suurkuusk, G., Paracchini, B., & Umlauf, G. (2017). Analysis of emerging organic contaminants in water, fish and suspended particulate matter (SPM) in the Joint Danube Survey using solid-phase extraction followed by UHPLC-MS-MS and GC-MS analysis. *Science of The Total Environment*, 607–608 (2017) 1201 –1212.
- Louch, D., Motlagh, S., Pawliszyn, J. (1992). Dynamics of Organic Compound Extraction from Water Using Liquid-Coated Fused Silica Fibers. *Anal. Chem.* 64, 1187-1199.
- MacBean C, (2009). Pesticide Manual. 15ª edición, versión 5.1, Alton, UK: British Crop Protection Council.
- Mei, M., Huang, X., & Yuan, D. (2014). Multiple monolithic fiber solid-phase microextraction: A new extraction approach for aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1345, (2014) 29–36.
- Michałowicz, J., Bukowska, B., & Duda, W. (2008). The differences in phenolic content in rivers exposed and non-exposed to anthropogenic contamination. *Chemosphere*, 71(4), 735–741.
- Mmualefe, L. C., Torto, N., Huntsman-Mapila, P., & Mbongwe, B. (2009). Headspace solid phase microextraction in the determination of pesticides in water samples from the Okavango Delta with gas chromatography-electron capture detection and time-of-flight mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 91(2), 239–244.
- Munch, J. W., Grimmett, P. Munch, D., Wendelken, S., Domino, M. M., Zaffiro, A. D. y Zimmerman, M. L. (2012). EPA Method 525.3 - Determination of Semivolatile Organic Chemicals in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). *U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC*.
- NIST (2014) NIST Mass Spectrometry Data Center.
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996. (1997). Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996. (1997). Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los

sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.

- Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. (1998). Límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. (2000). Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- Núñez García, A. (2015). *Caracterización de la problemática de las aguas residuales en Ixmiquilpan Hidalgo*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- O'Neil, M.J. (2006). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc..
- Page, D., Dillon, P., Toze, S., Bixio, D., Genthe, B., Jimenez-Cisneros, B. E., Wintgens, T. (2010). Valuing the subsurface pathogen treatment barrier in water recycling via aquifers for drinking supplies: *Water Research*, 44(6), 1841-1852.
- Pappas, E. A., & Huang, C. (2008). Predicting Atrazine Levels in Water Utility Intake Water for MCL Compliance. *Environmental Science & Technology*, 42(19), 7064–7068.
- Paschke H., Popp, P. (2005). New passive samplers for chlorinated semivolatile organic pollutants in ambient air. *Chemosphere*.58(7), 855 – 863.
- Pawliszyn, J. (1997). Solid phase microextraction, theory and practice, *WileyVCH*, New York.
- Peñalver Hernando, A. (2002). Aplicación de la Microextracción en Fase Sólida al análisis medioambiental. (Tesis de doctorado). Universitat Rovira I Virgili, Tarragona.
- Petrovic, M., Gonzalez, S., Barceló, D. (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 685-696.
- Quattrocchi, O., Andrizzi, S., y Laba, R. (1992). Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Artes Gráficas Farro. Buenos Aires, Argentina.
- Raub, K. B., Vlahos, P., & Whitney, M. (2015). Comparison of marine sampling methods for organic contaminants: Passive samplers, water extractions, and live oyster deployment. *Marine Environmental Research*, 109 (2015) 148-158.
- Regueiro, J., Llompарт, M., Psillakis, E., Garcia-Monteaгudo, J., Garcia-Jares, C. (2009). Ultrasound-assisted emulsification–microextraction of phenolic preservatives in water, *Talanta*, (79), 1387-1397.
- Rimayi, C., Odusanya, D., Weiss, J. M., de Boer, J., & Chimuka, L. (2018). Seasonal variation of chloro-s-triazines in the Hartbeespoort Dam catchment, South Africa. *Science of The Total Environment, Elsevier*, 613-614, 472–482.
- Robles-Molina, J.; Gilbert-Lopez, B.; Garcia-Reyes, J. F.; (2013). Comparative evaluation of liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and solid-phase

- microextraction for the gas chromatography-mass spectrometry determination of multiclass priority organic contaminants in wastewater. *Talanta*, (117), 382-391.
- Rocha, A. A., Monteiro, S. H., Andrade, G. C. R. M., Vilca, F. Z., & Tornisielo, V. L. (2015). Monitoring of Pesticide Residues in Surface and Subsurface Waters, Sediments, and Fish in Center-Pivot Irrigation Areas. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 26 (11) 2269-2278
 - Rodriguez-Lafuente, A., Piri-Moghadam, H.; Lord, Heather L., Obal, T. y Pawliszyn, J. (2016). Inter-laboratory validation of automated SPME-GC/MS for determination of pesticides in surface and ground water samples: sensitive and green alternative to liquid-liquid extraction. *Water Quality Research Journal of Canada*. 51(4), 331-343.
 - SAGARPA. (2004). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Consultado en Octubre de 2019. Glosario de términos. Recuperado de <http://www.senasica.gob.mx>
 - Sakamoto, M., Tsutsumi, T. (2004). Applicability of headspace solid-phase microextraction to the determination of multi-class pesticides in waters, *Journal of Chromatography A*, (1028), 63–74.
 - Saraji, M., & Ghani, M. (2015). Hollow fiber liquid–liquid–liquid microextraction followed by solid-phase microextraction and in situ derivatization for the determination of chlorophenols by gas chromatography-electron capture detection. *Journal of Chromatography A*, 1418, 45–53.
 - Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. SADER. (2011). Programa Estatal de desarrollo agropecuario sustentable. Consultado en Octubre de 2019. Recuperado de http://intranet.e-hidalgo.gob.mx/NormatecaE/Archivos/Programa_DesarrolloAgropecuario.pdf
 - SEMARNAT, 2010. Consultado en Octubre de 2019. Recuperado de http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_R_INDUSTRIA01_01&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce
 - SEMARNAT. (30 Agosto, 2018). Producción de insecticidas y plaguicidas de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera. Consultado el 31 de Julio 2019. Recuperado de http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_AGRIGAN05_06&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREANIO=*
 - Smalling, K.L., Reeves, R., Muths, E., Vandever, M., Battaglin, W.A., Hladik, M.L., Pierce, C.L. (2014) Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture, *Sci. Total Environ*. 502 (2015) 80–90.
 - Sousa, A. S., Duavi, W.C., Cavalcante, R.M., Milhome, M.A.L., do Nascimento, R.F. Estimated levels of environmental contamination and health risk assessment for herbicides and insecticides in surface water of ceara Brazil, *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 96 (2016) 90–95.
 - SRI Consulting. (2011). *Directory of Chemical Producers United States*. SRI Consulting, Menlo Park, CA.
 - Starek-Świechowicz, B., Budziszewska, B., & Starek, A. (2017). Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: Toxicity and molecular mechanism of action. *Pharmacological Reports*, 69(6), 1232–1239.

- Torres, F. y Rojas, A. (2018). Suelo agrícola en México: Retrospección y prospectiva para la Seguridad Alimentaria. *Realidad, Datos y Espacio. Revista Internacional de Estadística y Geografía. INEGI.* 9(3) 137-155.
- U.S. Department of Health and Human Services. (HHS) (1993) Hazardous Substances Data Bank (HSDB, online database). *National Toxicology Information Program, National Library of Medicine, Bethesda, EEUU.*
- U.S. Environmental Protection Agency. (2000). Reregistration Eligibility Decision for Vinclozolin. EEUU. R.E.D. Facts for Vinclozolin. Prevention Pesticides And Toxic Substances (7508C).
- U.S. Environmental Protection Agency. (2006). Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential. *Office of Pesticide Programs, Health Effects Division, Science Information Management Branch. Environmental Protection Agency.*
- U.S. Environmental Protection Agency. (2018). Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential Annual Cancer: Report 2018. *U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs.* EEUU.
- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA). (1999). Integrated Risk Information System (IRIS) on Hexachlorobenzene. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC.
- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA). (2016). Integrated Risk Information System (IRIS) on Vinclozolin. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC.
- U.S. Environmental Protection Agency /Office of Pesticide Programs. (2012). *Risks of Metolachlor Use to Federally Threatened California Red-legged Frog (Rana aurora draytonii).* Identification Number: EPA-HQ-OPP-2009-0081-0068.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2000). Consultado en Noviembre de 2019. Health Effects Assessment for Pentachlorophenol. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/pentachlorophenol.pdf>
- U.S. Environmental Protection Agency. (2000). Health Effects Assessment for Hexachlorobenzene. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/hexachlorobenzene.pdf>
- U.S. Environmental Protection Agency. (2001). Stockholm Convention on Organic Pollutants. EEUU: *Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants.*
- U.S. Environmental Protection Agency. (2010). Types of Pesticides. United States Environmental Protection Agency. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>. 12/03/2010.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2016). *Refined Ecological Risk Assessment for Atrazine.* United States Environmental Protection Agency.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2017). Chemical Contaminants. Final CCL 4 Chemical Contaminants List.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2017). National Primary Drinking Water Regulations.

- U.S. Environmental Protection Agency. (2019). Chemistry Dashboard. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID4022361>
- U.S. Environmental Protection Agency. (2019). Pesticide Product and Label System Database. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=PPLS:1>
- U.S. Environmental Protection Agency; Reregistration Eligibility Decisions. (2013). *Database on Atrazine (1912-24-9). USEPA EPA-HQ-OPP-2013-0266*. Consultado en Octubre de 2019. Recuperado de <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:1>
- UE European Chemical Agency. (2019). Summary of Classification and Labelling. Consultado en Noviembre de 2019. Recuperado de <https://echa.europa.eu/es/information-on-chemicals/cl-inventory-database>.
- Valsamaki, V. I., Sakkas, V. A., & Albanis, T. A. (2007). Determination of the pesticides considered as endocrine-disrupting compounds (EDCs) by solid-phase extraction followed by gas chromatography with electron capture and mass spectrometric detection. *Journal of Separation Science*, 30(12), 1936–1946.
- Vervliet-Scheebaum, M.; Ritzenthaler, R.; Normann, J.; Wagner, E. (2008). Short-term effects of benzalkonium chloride and atrazine on *Elodea canadensis* using a miniaturised microbioreactor system for an online monitoring of physiologic parameters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69 (2) 254 – 262.
- Wauchope, R.D., Buttler, T. M., Hornsby, A. G., Augustijn-Beckers, P. W. M., Burt, J. P. (1992). The SCS/ARS/CES Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 123, 1-155.
- World Health Organization. (2011). Water sanitation Health. Guidelines for water quality of human consumption.
- Yalkowsky, S.H., He, Yan, Jain, P., (2010). *Handbook of Aqueous Solubility Data*. Second Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Yalkowsky, S.H., He, Yan. (2003). *Handbook of Aqueous Solubility Data: An Extensive Compilation of Aqueous Solubility Data for Organic Compounds Extracted from the Aquasol Database*. CRC Press LLC.