



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE LA ATRAZINA Y ALGUNOS DE
SUS PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN EN AGUA
SUPERFICIAL MEDIANTE CL-MS**

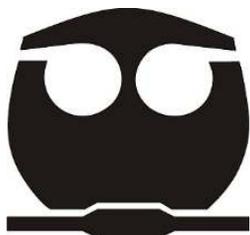
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO

P R E S E N T A

IVÁN AGUILAR AYALA

CIUDAD DE MÉXICO, MÉXICO. 2022





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en A.I. Landy Irene Ramírez Burgos

VOCAL: M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SECRETARIO: Dra. Marisela Bernal González

1ER. SUPLENTE: Dr. José Agustín García Reynoso

2Do. SUPLENTE: Profa. Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

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

ASESOR DEL TEMA:

Dra. en Ing. Marisela Bernal González

SUPERVISOR TÉCNICO:

Profa. Dr.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUSTENTANTE:

Iván Aguilar Ayala

DECLARATORIA

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

Sustentante
Iván Aguilar Ayala

Reconocimientos institucionales

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM: Los reactivos, consumibles y materiales empleados en esta investigación fueron adquiridos con el apoyo financiero parcial del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) “Innovación en docencia para la asignatura de estancia académica de Ingeniería Química ante la problemática del COVID-19: Creación de ejemplos para solucionar problemas reales mediante el empleo de paquetes de cómputo”, Clave PE-101822

También contribuyó con recursos financieros parciales el Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, PAIP, Clave 50009067

A los honorables miembros del jurado por sus valiosas contribuciones que ayudaron a enriquecer este documento

Agradecimientos

A mi madre Aurora y a mi padre Rafael por su amor incondicional para conmigo

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Dedicatorias

Dedico principalmente este trabajo al pueblo de México cuyo entramado social demanda a la ciencia ser motor de desarrollo para abatir los paradigmas de la desigualdad.

ÍNDICE

	Pág.
Jurado	ii
Declaratoria	iii
Reconocimientos institucionales	iv
Dedicatoria	vi
Índice de figuras	x
Índice de tablas	xii
Símbolos	xiii
Glosario y abreviaturas	xiv
Resumen	1
CAPÍTULO I. Problemática	2
1.1. Introducción	2
1.2. Hipótesis	3
1.3. Justificación	3
1.4. Objetivos	4
1.4.1. Objetivo general	4
1.4.2. Objetivos particulares	4
CAPÍTULO II. Marco teórico	5
2.1. Definición de plaguicida	5
2.2. Clasificación y modo de acción de los plaguicidas (Tadeo, 2008)	6
2.2.1. Herbicidas	6
2.2.2. Insecticidas	7
2.2.3. Fungicidas	7
2.3. Plaguicidas, proceso histórico: Origen y usos	8
2.4. Importancia económica	9
2.4.1. Atrazina en México	10
2.5. Regulación	12
2.5.1. Límite máximo de residuos	15
2.6. Propiedades fisicoquímicas	16
2.6.1. Polaridad de una sustancia y solubilidad en agua	16
2.6.2. Coeficiente de reparto octanol-agua	17
2.6.3. Presión de vapor y volatilidad	18
2.6.4. Ley de Henry	18
2.6.5. Carácter ácido base (pKa)	19

	Pág.
2.6.6. Capacidad de adsorción de un plaguicida en el ambiente	19
2.7. Estructura de las triazinas	20
2.7.1. Atrazina	21
2.8. Degradación	23
2.8.1. Degradación microbiológica	25
2.8.2. Degradación no microbiológica	26
2.8.3. Degradación por fotólisis	28
2.8.3.1. Fotólisis directa	28
2.8.3.2. Fotólisis indirecta	29
2.8.4. Ruta de degradación en aguas superficiales	29
2.8.5. Efecto del pH y temperatura	30
2.9. Impacto ambiental	31
2.9.1. Riesgos asociados por el uso de plaguicidas	32
2.9.2. Destino de los plaguicidas y procesos de transferencia	32
2.10. Determinación de plaguicidas	33
2.10.1. Extracción	34
2.10.2. Cromatografía de gases (GC)	35
2.10.3. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	35
2.10.3.1. Selección de la columna	37
2.10.3.2. Fase estacionaria, tamaño de partícula, empaque y dimensiones	37
2.10.3.3. Fase móvil	38
2.10.3.4. Parámetros cromatográficos	40
2.10.4. Espectrometría de masas, EM (<i>MS</i> , en inglés)	42
2.10.4.1. Arreglo del espectrómetro de masas	43
2.10.4.2. Calibración	44
2.10.4.3. Límite de detección	44
2.10.4.4. Límite de cuantificación	44
2.11. Cinética de reacción	45
CAPÍTULO III. Metodología	46
3.1. Limpieza de material	46
3.2. Calibración de micropipetas	46
3.3. Ficha técnica de reactivos	47
3.4. Preparación de soluciones madre y soluciones buffer	48
3.5. Curvas de calibración	49
3.6. Equipos	50
3.6.1. Módulo de separación Waters Alliance e2695	50
3.6.2. Espectrómetro de masas (Waters Quattro Micro Api)	51
3.7. Validación de la metodología	53
3.7.1. Linealidad (Tuzimski y Sherma, 2015)	53
3.8. Diseño experimental	53

	Pág.
3.9. Análisis estadístico de los datos	54
CAPÍTULO IV. Resultados y discusión	55
4.1. Curvas de calibración	55
4.2. Linealidad	57
4.3. Espectrogramas y cromatogramas de los analitos de interés	57
4.4. Diseño de experimentos	59
4.4.1. Efecto del pH	59
4.4.2. Efecto de la temperatura y condiciones de luz	67
4.5. Discusión final	68
CAPÍTULO V. Conclusiones y recomendaciones	70
5.1. Conclusiones	70
5.2. Recomendaciones	71
ANEXOS	73
Anexo 1. Estructura y propiedades de las especies en estudio	73
Anexo 2. Especificaciones de los equipos empleados	77
Anexo 3. Curvas de calibración	80
Anexo 4. Datos experimentales	87
Anexo 5. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	90
BIBLIOGRAFÍA	109

Índice de Figuras		Pág.
Figura 2.1.	Principales rechazos de importación por presencia de plaguicidas en frutas y hortalizas con destino a EE.UU., 2017 (FDA, 2018)	10
Figura 2.2.	Valor en el mercado mexicano por uso de plaguicidas (FAO, 2018)	11
Figura 2.3.	Consumo nacional en materia de plaguicidas y herbicidas (FAO, 2019)	12
Figura 2.4.	Estructura molecular de la atrazina	21
Figura 2.5.	Ruta de síntesis de las principales triazinas de uso extensivo (LeBaron et al., 2008)	22
Figura 2.6.	Representación teórica de la degradación de un plaguicida en el ambiente, elaboración propia	25
Figura 2.7.	Ruta de degradación de la atrazina en aguas superficiales (LeBaron et al., 2008)	30
Figura 2.8.	Ciclo de las condiciones ambientales (Tadeo, 2008)	31
Figura 3.1.	Escaneo en modo “ <i>Daughters</i> ” (Gross, 2005)	51
Figura 4.1.	ATZ a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (174, 71, 138, 146, 132, 79)	57
Figura 4.2.	DEAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (104, 110, 146, 152, 188)	58
Figura 4.3.	DIAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (96, 104, 110, 132, 138, 146, 174)	58
Figura 4.4.	HAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (86, 97, 114, 128, 156, 198)	59
Figura 4.5.	Degradación de ATZ a pH de 4, 4°C, oscuridad	60
Figura 4.6.	Degradación de ATZ a pH de 4, 4°C, luz ambiente	60
Figura 4.7.	Degradación de ATZ a pH de 4, 22°C, oscuridad	62
Figura 4.8.	Degradación de ATZ a pH de 4, 22°C, luz ambiente	62
Figura 4.9.	Degradación de ATZ a pH de 6.8, 4°C, oscuridad	63
Figura 4.10.	Degradación de ATZ a pH de 6.8, 4°C, luz ambiente	63
Figura 4.11.	Degradación de ATZ a pH de 6.8, 22°C, oscuridad	64
Figura 4.12.	Degradación de ATZ a pH de 6.8, 22°C, luz ambiente	64
Figura 4.13.	Degradación de ATZ a pH de 9, 4°C, oscuridad	65
Figura 4.14.	Degradación de ATZ a pH de 9, 4°C, luz ambiente	65
Figura 4.15.	Degradación de ATZ a pH de 9, 22°C, oscuridad	67
Figura 4.16.	Degradación de ATZ a pH de 9, 22°C, luz ambiente	67
Figura A3.1.	Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 4	81
Figura A3.2.	Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 4	81
Figura A3.3.	Curva de calibración para deisopropilatrazina (DIAT), a pH de 4	82
Figura A3.4.	Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de	82

Índice de Figuras		Pág.
	4	
Figura A3.5.	Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 6.8	83
Figura A3.6.	Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 6.8	83
Figura A3.7.	Curva de calibración para deisopropilatrazina (DIAT), a pH de 6.8	84
Figura A3.8.	Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de 6.8	84
Figura A3.9.	Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 9	85
Figura A3.10.	Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 9	85
Figura A3.11.	Curva de calibración para deisopropilatrazina (DIAT), a pH de 9	86
Figura A3.12.	Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de 9	86

Índice de Tablas	Pág.
Tabla 2.1. Límite máximo de residuos de ATZ para agua de consumo humano	15
Tabla 2.2. Bacterias participantes en el proceso de degradación microbiológica de triazinas (LeBaron et al., 2008)	25
Tabla 2.3. Características de columna e intervalo de flujo sugerido (Tuzimski y Sherma, 2015)	38
Tabla 3.1. Preparación de soluciones amortiguadoras (<i>buffer</i> , en inglés)	49
Tabla 3.2. Parámetros en la sonda ESI	52
Tabla 3.3. Parámetros en el analizador	52
Tabla 3.4. Funciones escaneadas	52
Tabla 3.5. Variables involucradas en la degradación de ATZ	53
Tabla 3.6. Diseño multifactorial de la experimentación a 23 días por cada especie (ATZ, DEAT, DIAT, HAT)	54
Tabla 4.1. Precisión de la calibración	56
Tabla 4.2. Resultados del diseño multifactorial (K y $t_{1/2}$)	61
Tabla A1.1. Propiedades fisicoquímicas de la atrazina	74
Tabla A1.2. Propiedades fisicoquímicas de la atrazina	75
Tabla A1.3. Propiedades fisicoquímicas de la deisopropilatrazina	76
Tabla A2.1. Especificaciones de los equipos empleados	78
Tabla A4.1. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la atrazina	88
Tabla A4.2. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la hidroxiatrazina	89
Tabla A4.3. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la deisopropilatrazina	90
Tabla A4.4. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la desetilatrazina	91

Símbolos y letras griegas

%	Porcentaje
+	Más
-	Menos
±	Más / Menos
=	Igual
>	Mayor que
<	Menor que
°C	Grados Celsius
α	Factor de separación grado de selectividad y retención de las especies analizadas entre dos picos adyacentes i y j [Ecuación 2.9]: $\alpha = \frac{k_j}{k_i}$
μ	Momento dipolar
μg	Microgramo
θ	Rendimiento cuántico
\bar{x}	Media
σ	Desviación estándar

Notas:

Esta tesis usa el punto decimal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana correspondiente (DOF, 2009). Las abreviaturas derivadas de las locuciones latinas *et cetera* y *et altere*, etc. y et al., van sin cursivas por su uso frecuente. Los grados Celsius y el signo de porcentaje van junto a los valores numéricos

Glosario de Abreviaturas

Abreviaturas	Significado
1-R	Fracción de moléculas en la fase estacionaria (ver definición de R abajo)
<i>Apci</i>	Siglas en inglés para ionización química por presión atmosférica
Atm	Presión en atmósferas
ATZ	Atrazina
ACN	Acetonitrilo
<i>Apci</i>	Ionización química por presión atmosférica
APVMA	Agencia Australiana de Plaguicidas y Medicamentos Veterinarios por sus siglas en inglés
BUMA	Acónimo para buen uso y manejo de agroquímicos (Coscollá y Coscollá, 2006)
C18	Sílice (sílice sustituida con grupos alquilo arilo) octadecil
C4	Butil
C8	Síliceoctil
C ₈ H ₅ KO ₄	Biftalato de potasio
C _A	concentración C _A empleada para calcular la velocidad de reacción con respecto al tiempo <i>t</i> y/o la constante de velocidad de reacción <i>k</i> ₁ : [Ecuación 2.10]: $-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A$
C _a	Fracción en equilibrio de la especie adsorbida en el suelo [Ecuación. 2.3]
C _d	Fracción en la solución [Ecuación. 2.3]
CG	Cromatografía de gases
(CH ₃) ₂ OH	Acetona
CH ₃ OH	Metanol
Cl	Cloro
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
CLAR-EM	Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas
cm ²	Centímetro cuadrado
CO ₂	Dióxido de carbono
CO ₃ ²⁻	Ion carbonato
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, México
CV	Coefficientes de variación
d ₁	Diámetro 1 de una columna cromatográfica [Ecuación 2.4]
d ₂	Diámetro 1 de una columna cromatográfica [Ecuación 2.4]
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DEAT	Desetilatrazina
DEFS	Discos de extracción en fase sólida

Abreviaturas Significado

DEI	Detección mediante inmunoensayos
DIAT	Deisopropilatrazina
DOM	Materia orgánica disuelta (por sus siglas en inglés)
EFS	Extracción en fase sólida
ELL	Extracción líquido-líquido
EM	Espectrometría de masas (<i>MS</i> en inglés)
ESI	Ionización por electro spray (por sus siglas en inglés)
F	Fluor
F ₁	Flujo 2 en una columna cromatográfica [Ecuación 2.4]
F ₂	Flujo 2 en una columna cromatográfica [Ecuación 2.4]
FAO	Organización para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés)
FDA	<i>United States Food and Drugs Administration</i> (por sus siglas en inglés)
Fe ²⁺	Ion ferroso
Fe ³⁺	Ion férrico
G	Gramos
GC	Cromatografía de gases (por sus siglas en inglés)
H	Constante de Henry [Ecuación 2.2]
H ₃ BO ₃	Ácido bórico
HACCP	Análisis de riesgos y puntos críticos de control (por sus siglas en inglés)
HAT	Hidroxiatrazina
HCO ³⁻	Ion bicarbonato
<i>i, j</i>	Picos adyacentes de un cromatograma
IDR	Ingesta diaria recomendada
INECC	Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México
J	Joule
<i>k</i>	Factor de retención que se define como la distribución del analito tanto en el volumen de la fase móvil como en la fase estacionaria [Ecuación 2.5]
KCl	Cloruro de potasio
<i>K_d</i>	Coefficiente de distribución o coeficiente de sorción [Ecuación 2.3]
kg	Kilogramo
kJ	Kilojoule
<i>K_{ow}</i>	Coefficiente de reparto octanol-agua (por sus siglas en inglés) [Ecuación 2.1]
L	Litro
LCI	Límite de control inferior
LCS	Límites de control superior
LD	Límite de detección
LMD	Límite máximo de detección
LMR	Límite máximo de residuos
LOD	Límite de detección (por sus siglas en inglés)

Abreviaturas Significado

LOQ	Límite de cuantificación (por sus siglas en inglés)
M	Molar
m ³	Metros cúbicos
MEFS	Microextracción en fase sólida
MELL	Microextracción líquido-líquido
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mm Hg	Milímetros de mercurio
mol	Cantidad de sustancia en el sistema internacional (SI)
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (espectrometría de masas en inglés)
m/z	masa/carga
N	Eficiencia dada en función del número de platos de la columna cromatográfica y de la capacidad para separar las distintas moléculas y en consecuencia la distinción clara de los picos graficados [Ecuación 2.7]:
	$N = 16 \frac{t_R^2}{W}$
N ₂	Nitrógeno
NaOH	Hidróxido de sodio escamas
NH ₃	Amoniaco
nm	Nanómetros
NOM	Normas Oficiales Mexicanas
O ₂	Oxígeno
O ₃	Ozono
OH-	Grupo hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Concentración en el aire de un plaguicida (atm) [Ecuación 2.2]
p	Fracción del soluto en la fase no polar (octanol) [Ecuación 2.1]
PMRA	<i>Pest Management Regulatory Agency</i> (por sus siglas en inglés, Agencia Regulatoria de Manejo de Plagas)
PEEK	Poli-éter-éter-cetona por sus siglas en inglés
pKa	Carácter ácido-base de una disolución (constante de disociación)
ppb	Partes por billón (estadounidenses: mil millones)
ppm	Partes por millón
PROCCYT	Siglas de la Asociación de Protección de Cultivos, Ciencia y Tecnología, A.C. México
q	Fracción del soluto en la fase polar (agua) [Ecuación 2.1]
R	Fracción de moléculas en la fase móvil donde R es la fracción de moléculas en la fase móvil y 1-R representa la fracción de moléculas en la fase estacionaria (k=Factor de retención) [Ec. 2.5]):

Abreviaturas Significado

$$k = \frac{1 - R}{R}$$

R_s Resolución, distinción y separación entre un pico (j) y otro pico cromatográficos (i) dada por el tiempo de retención [Ecuación 2.8]:

$$R_s = \frac{2 t_{Rj} - t_{Ri}}{W_j + W_i}$$

R-SH	Grupo sulfhídrico
S	Concentración en el agua de un plaguicida (mol/m^3) [Ecuación 2.2]
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, México (antes SAGARPA)
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, México
STPS	Secretaría del Trabajo y Previsión Social, México
t	Tiempo
t_0	Tiempo en donde el analito no ha sido retenido por la fase estacionaria [Ecuación 2.6]
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media que corresponde a [Ecuación 2.11]: $t_{1/2} = \frac{1}{k_1} \ln 2$
TMS	Trimetilmtoxosilano
t_R	Tiempo de retención, que es el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta la aparición del pico característico de la sustancia en el registrador [Ecuación 2.6]: $t_R = t_0(1 + k)$
UMFFAAC	Unión Mexicana de Fabricantes y Formuladores de Agroquímicos A. C., México
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
USEPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés)
UV	Ultravioleta
W	Ancho de los picos cromatográficos [Ecuación 2.7] o bien el intervalo de longitud de frecuencia

RESUMEN

El agua es un recurso natural indispensable para la vida. Sin embargo, el progreso y los avances logrados por el hombre han llevado a producir miles de compuestos químicos, que por un lado contribuyen a mejorar la calidad de vida, pero por otro causan serios problemas de contaminación al ser introducidos directa o indirectamente en el agua. La actividad de la agricultura alrededor de los ecosistemas acuáticos ha generado la presencia de una gran cantidad de contaminantes, entre los que se encuentran los plaguicidas, que usualmente están presentes en mezclas complejas con otros compuestos. Los plaguicidas, específicamente de la familia de las triazinas representan el mayor grupo de plaguicidas utilizados en la agricultura. Se distinguen por tener una actividad herbicida e insecticida bastante selectiva, una moderada solubilidad en agua (polaridad). Como son biodegradables tienden a ser de vida corta cuando están libres en el ambiente. Estas características hacen que sea difícil su seguimiento e identificación, así como poderlos asociar a daños ambientales. El comportamiento y la estabilidad de la atrazina (ATZ) y tres compuestos de degradación, desetilatrizona (DEAT), deisopropilatrizona (DIAT) e hidroxiatrizona (HAT), fueron evaluados bajo los factores de: Hidrólisis (A), pH (B) y temperatura (C). Se realizó un diseño experimental factorial, para conocer la degradación y/o transformación de los plaguicidas en estudio. La cuantificación de dichos compuestos se realizó por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-EM). El objetivo de esta investigación fue la implementación de la metodología para la determinación y la cuantificación de los analitos de interés (ATZ, DEAT, DIAT e HAT), para evaluar el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de los plaguicidas en estudio en función de los factores mencionados.

Palabras clave: Triazinas, atrazina (ATZ), desetilatrizona (DEAT), deisopropilatrizona (DIAT), hidroxiatrizona (HAT), cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-EM)

CAPÍTULO I. Problemática

1.1. Introducción

Es una paradoja que sustancias como los denominados plaguicidas sean utilizadas en un sentido benéfico para salvaguardar la seguridad alimentaria de una nación, cuando al mismo tiempo surge la problemática de la contaminación ambiental que provocan, ya sea por el uso incontrolado o indiscriminado de estos compuestos o por su dispersión en el ambiente.

No se pone en juicio el que sean realmente agentes químicos extraordinarios utilizados para obtener la producción sostenible de cultivos satisfaciendo la demanda mundial de alimentos sino, por el contrario, aunque existen diversos estándares de niveles máximos aceptables para el consumo humano muchos estudios se centran en la permanencia de la sustancia activa inicial aplicada a un cultivo y no en sus metabolitos de degradación que persisten en el ambiente y que llegan por diversas rutas de transporte a la atmósfera o atmósfera, a los suelos y a las aguas superficiales, lo cual en ocasiones puede llegar a una conclusión errónea respecto de la seguridad de un producto autorizado para ser usado. Esto es de suma importancia ya que los productos de degradación de estas sustancias pueden ser igual de nocivos y tóxicos para los seres vivos de los distintos ecosistemas (Tomlin, 2009).

Es por eso que la cinética de degradación y el empleo de técnicas analíticas como la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o cromatografía de gases (CG) acoplada a la espectrometría de masas (EM) deriva en análisis rigurosos de los residuos existentes en el campo de estudio y son cruciales para tener bases científicas sólidas que permitan generar las normativas en materia de plaguicidas y/o modificar las existentes de acuerdo con el impacto ambiental, social y

económico de la región en donde son utilizados (Borja-Urzola, 2017; González-García, 2018; Hernández-Arriaga, 2017).

El uso de plaguicidas en la agricultura moderna para el control de plagas ha sido acompañado de una coevolución de estas últimas que no han dejado de acompañar a la humanidad desde tiempos inmemoriales. Un amplio portafolio de plaguicidas está disponible actualmente y se diseñan tomando en cuenta los efectos toxicológicos que causaran en una plaga particular sin ocasionar daños o efectos colaterales a la flora y fauna existentes en el ambiente (Navarro et al., 2004).

Con el descubrimiento de las propiedades del dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) como agente químico por Paul Muller en 1939 (Tadeo, 2008), comenzó la era moderna del desarrollo de esta sustancia y su cada vez más extensiva aplicación. Posterior a la restricción y desplazamiento notorio de los plaguicidas organoclorados en países primermundistas se ha observado el aumento en el uso de la familia de los organofosforados, carbamatos y triazinas, como una mejor opción (Fong et al., 1999).

1.2. Hipótesis

Bajo condiciones ácidas la atrazina (ATZ) tenderá a degradarse por desalquilación en los metabolitos desetilatrazina (DEAT) y deisopropilatrazina (DIAT), en tanto que bajo condiciones básicas el metabolito final formado será hidroxiatrazina (HAT) vía hidrólisis.

1.3. Justificación

Uno de los plaguicidas de mayor uso en México para eliminar maleza (plantas que no son deseables) es la atrazina (ATZ) y, si bien, presenta una degradación promedio de 35 a 50 días, a menudo se realizan evaluaciones del ingrediente

activo ATZ y su comportamiento en aire, suelo y/o agua, ya que deben también considerarse sus metabolitos que persisten en el ambiente (Tadeo, 2008). Por lo anterior, el presente trabajo considera un estudio multifactorial de condiciones que emulan las ambientales, con la finalidad de evaluar el comportamiento de la ATZ en las aguas superficiales, que muchas veces son los depósitos finales de este plaguicida y sus metabolitos.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar el comportamiento del ingrediente activo atrazina (ATZ) y sus metabolitos hidroxiatrazina (HAT), desetilatrazina (DEAT) y deisopropilatrazina (DIAT) bajo diferentes condiciones de luz, temperatura y pH.

1.4.2. Objetivos particulares

- Identificar los productos de degradación a las concentraciones definidas en ppm y cuantificar la tasa de degradación del herbicida ATZ
- Cuantificar el tiempo de vida media con base en la cinética de degradación de la hidroxiatrazina (HAT), desetilatrazina (DEAT) y deisopropilatrazina (DIAT) metabolitos de la atrazina.

A continuación, en el siguiente capítulo se presenta el marco teórico de esta investigación.

CAPÍTULO II. Marco teórico

2.1. Definición de plaguicida

Las plagas agrícolas han afectado a la humanidad y se les ha mencionado desde tiempos inmemorables, aún en el antiguo testamento bíblico. En la modernidad, el desarrollo de sistemas de control de estas afectaciones a través del uso extendido de los plaguicidas es de vital importancia para asegurar una producción alimentaria inocua sostenible en el tiempo y que garantice el menor impacto al ambiente y la salud humana.

En este contexto, para controlar una plaga (organismos como: virus, hongos, bacterias, insectos, roedores o fauna nociva), que puede dañar a los cultivos y que llegue a convertirse en un vector potencial de enfermedades es necesario utilizar plaguicidas, agentes fitosanitarios, etc., que son denominaciones dadas a sustancias químicas orgánicas y/o inorgánicas destinadas a destruir, controlar o combatir de algún modo a las plagas. De manera general, las formulaciones de los plaguicidas son mezclas complejas de agentes químicos cuyo ingrediente activo es el responsable del efecto inhibitor de la plaga. El estado físico de estos ingredientes activos es desarrollado por las empresas manufactureras en sólidos (polvos, gránulos, pastillas) o líquidos (emulsiones, concentrados, etc.) de acuerdo con la efectividad que se desee, forma de aplicación y seguridad del manipulador final (FDA, 2018).

A menudo se utilizan destilados industriales orgánicos para disolver los ingredientes activos de las formulaciones y que desempeñan el papel de coadyuvantes para incrementar la retención y adsorción de la fórmula activa en los tallos y hojas de las plantas. Sin embargo, estos solventes por sí solos ya son altamente tóxicos, como por ejemplo, tolueno, xileno, cloruros de metileno,

keroseno, etc. Muchas veces el etiquetado no advierte sus propiedades físicas y químicas y las posibles afectaciones a la salud del(a) manipulador(a).

Además del disolvente, la toxicidad de un plaguicida está dada por el ingrediente activo ya que la estereo-isomerización (McMurry et al., 2008), en el proceso de manufactura del plaguicida es crucial pues algunas impurezas de tipo *cis* o *trans* son indeseables para una formulación en particular y que afectan la efectividad del plaguicida o, en caso contrario, aumentan el riesgo de intoxicación del(a) aplicador(a).

2.2. Clasificación y modo de acción de los plaguicidas (Tadeo, 2008)

2.2.1. Herbicidas

Inhibidores de la síntesis de aminoácidos. Los plaguicidas inhibidores de la síntesis de aminoácidos actúan sobre una enzima específica para evitar la producción de ciertos aminoácidos que son clave para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por ejemplo, para la correcta asimilación de nitrógeno que realizan las plantas se necesitan del neurotransmisor glutamato y amoniaco en la que también participa la enzima glutamina y que es inhibida por diversos plaguicidas.

Inhibidores de la división celular. La tubulina es una proteína esencial para la construcción del esqueleto intracelular en células eucariotas. Los plaguicidas, como los dinitroanilinas, ácidos benzoicos y piridinas, perturban las paredes de la tubulina y con ello la división celular.

Inhibidores de la fotosíntesis. El objetivo de muchos plaguicidas es interferir con la fotosíntesis y para ello existen diferentes mecanismos como la generación de radicales libres y bloqueo del transporte de electrones, aunque la mayoría interfiere con la plastoquinona que regula la transferencia de electrones. Los

plaguicidas en esta clasificación son las fenil ureas, triazinas, piridinas, carbamatos, nitrilos y amidas.

2.2.2. Insecticidas

Interferencia de las señales en el sistema nervioso. Estos plaguicidas (piretroides y organoclorados) se caracterizan por ser altamente venenosos ya que inhiben los canales que conducen los iones. Los piretroides alteran la permeabilidad de los nervios de la membrana celular bloqueando los iones sodio y potasio. Los compuestos organoclorados pueden inducir convulsiones en los insectos, interactuando con los poros de la estructura de la lipoproteína causando excitación de los nervios.

Inhibidores de la colinesterasa. La acetilcolinesterasa es una enzima que juega un papel fundamental en el sistema nervioso de los animales, ya que hidroliza la neurotransmisora acetilcolina inmiscuida en la sinapsis neuronal. Los organofosforados y carbamatos inhiben esta función dando como resultado una acumulación de acetilcolina perturbando el funcionamiento.

Inhibidores de la síntesis de la quitina. La quitina está presente en hongos y artrópodos, pero ausentes en plantas y mamíferos. Siendo un poliglúcido, los insecticidas del grupo bencil ureas provocan la ruptura de la conexión entre la N-acetilglucosamina y la quitina, inhibiendo la muda de piel de los insectos.

2.2.3. Fungicidas

Grupo sulfhídrico (tiol). Los grupos sulfhídrico (R-SH) se encuentran presentes en sitios activos de muchas enzimas y su inhibición puede ocurrir por la formación de un complejo que afecta la estructura y funciones de las membranas celulares causando tumores en la mitocondria. Los ditio-carbamatos son típicos de este grupo.

Inhibidores de la división celular. Los fungicidas pertenecientes al grupo químico benzimidazol reaccionan con la proteína tubulina que es el componente básico del esqueleto intracelular impidiendo la formación de microtubos incapacitando la división de la célula.

Inhibidores de la síntesis de ergosterol. Los azoles, morfolinas y piridinas actúan contra diversos tipos de hongos perturbando la síntesis de giberelinas que regulan el crecimiento vegetal, la síntesis de ergosterol es compleja ya que es un componente lipídico de la membrana celular sobre el cual actúan por diferentes mecanismos los plaguicidas.

2.3. Plaguicidas, proceso histórico: Origen y usos

Es de particular interés que los seres vivos producimos compuestos organohalogenados que actúan como “plaguicidas naturales”, en contra de infecciones causadas por hongos y bacterias (McMurry et al., 2008). En este contexto, la afectación que las plagas provocan a los cultivos no es reciente y el uso de cal, azufre, arsénico y compuestos de fósforo eran usados para el combate a insectos y roedores (Arata, 1983).

Como todo ámbito de la vida humana, con la revolución industrial en el siglo XIX los plaguicidas de la mano del desarrollo de la química tuvieron un auge notorio y de vital importancia para el abasto del sector alimentario por lo que los monocultivos entraron en un proceso acelerado. México no fue ajeno a estos cambios pues se utilizaban plaguicidas sobre todo de carácter inorgánico como arseniato de plomo, arseniato blanco, ácido cianhídrico, arsenito de cobre, ácido carbólico y ácido fénico, sulfato de cobre con cal viva (Arata, 1983).

Para limitar el uso de plaguicidas en el ambiente se pueden usar métodos como barreras físicas o biológicas a los cultivos, rotación de cultivos, control biológico,

etc. Y precisamente para disminuir los residuos de plaguicidas en los alimentos y asegurar la inocuidad por estos agentes en 1923 se emitió la primera legislación mexicana referente al tema (Arata, 1983).

El impacto económico y social causado por el descubrimiento y aplicación del DDT, insecticida organoclorado, en 1939 por Paul Müller, fue tal que en esa época era visto con buenos ojos a la poca opinión pública y que fue cambiando paulatinamente en la década de los sesentas por publicaciones científicas que alertaban sobre los daños a los organismos vivos por su uso indiscriminado. Sin embargo, se estima que un tercio de la producción mundial anual de alimentos, especialmente los monocultivos, se perdería sin un sistema de control de plagas (Tadeo, 2008).

2.4. Importancia económica

Derivado del incremento de la población mundial y con ello de la demanda de alimentos se requiere poner mayor énfasis por parte de las agencias sanitarias de los gobiernos para asegurar el consumo e inocuidad de los productos.

En esta línea, es de suma importancia económica que se apliquen sistemas de reducción de riesgos de contaminación ya sean químicos, biológico o físicos para prevenir grandes pérdidas monetarias de los productores en sus cosechas.

Tan solo los productos mexicanos del campo con destino al resto de Norteamérica, Canadá y los EE.UU., se ven en situaciones de rechazo de importaciones por la presencia de residuos de estos plaguicidas.

La *US Food and Drug Administration* (FDA) publicó 282 rechazos en 2017 por la presencia de plaguicidas por encima de los Límites Máximos de Residuos (LMR) (Figura 2.1).

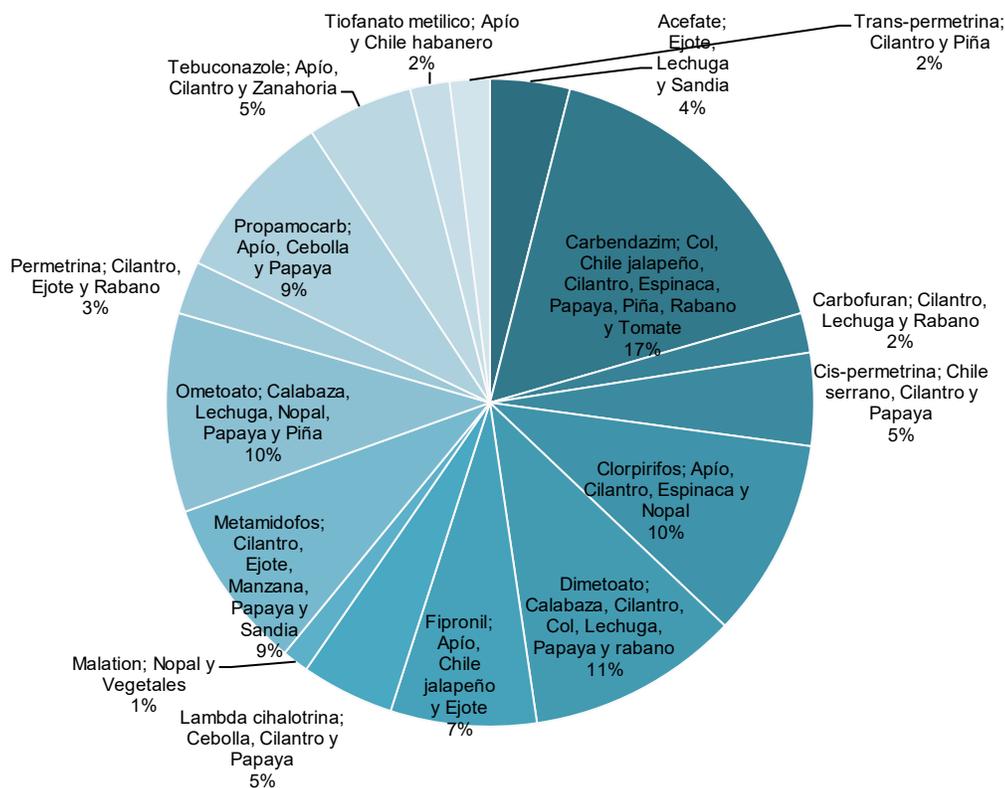


Figura 2.1. Principales rechazos de importación por presencia de plaguicidas en frutas y hortalizas con destino a EE.UU., 2017 (FDA, 2018)

Esta situación es comparable al año 2003 en donde de un total de 2494 muestras analizadas en los EE.UU., provenientes principalmente de México, China y Holanda en el 31% de los casos resultaron con residuos de plaguicidas por encima de los LMR para diferentes tipos de frutas y vegetales (FDA, 2018).

2.4.1. Atrazina en México

El gran impacto económico generado por el uso de la atrazina en especial para los cultivos de maíz, sorgo y caña de azúcar y la conocida dependencia de México por las importaciones de maíz americano radica en un ahorro de mitigación de pérdidas de hasta 2000 millones de dólares, cerca de 28 dólares por hectárea (Hansen et al., 2013).

Se refutan argumentos en contra de la prohibición del uso de la atrazina como herbicida citando que de no usarse se tendría que recurrir a plaguicidas de uso post emergencia lo que conllevaría un menor rendimiento de los cultivos por la competencia de crecimiento contra las malezas comunes. Lo que implicaría en grandes costos económicos (USEPA, 2006). Se calcula que anualmente la producción de este plaguicida asciende a las 70,000 a 90,000 toneladas anuales a nivel mundial (McDougall, 2010), lo cual es relevante si en el año 2001 México consumió cerca de 21,000 toneladas tan solo en herbicidas (Figura 2.2), en vez de comerse los quelites, que era la forma tradicional de contender con esta supuesta plaga de malezas en la milpa ayudando a la nutrición al ingerir verdura fresca diariamente (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2020).

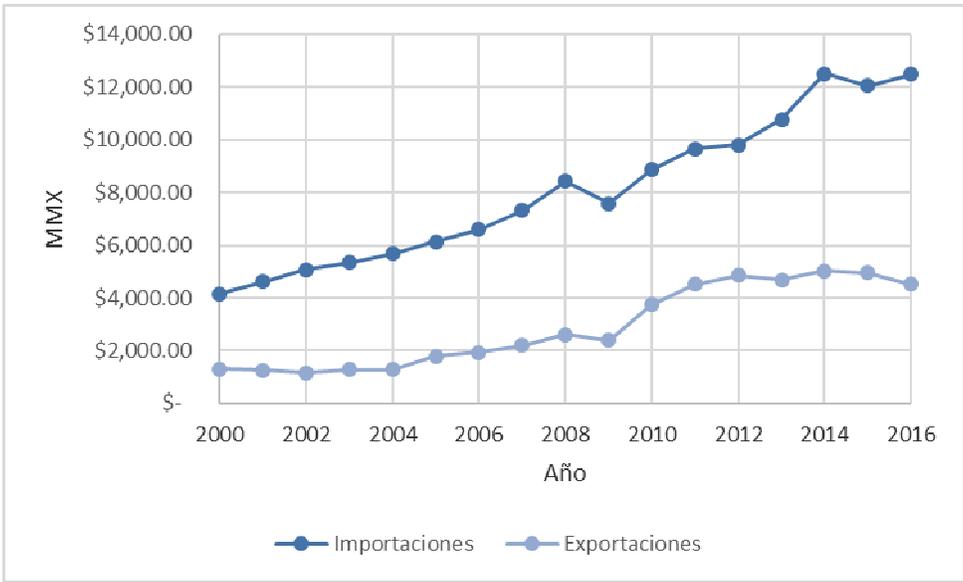


Figura 2.2. Valor en el mercado mexicano por uso de plaguicidas (FAO, 2018)

En el comercio nacional tanto las importaciones como exportaciones con el paso de los años han experimentado un notable auge derivado de que México se ha convertido en una potencia agroalimentaria y, por lo tanto, una producción sostenible en el tiempo no sería posible sin los insumos como los plaguicidas. En la Figura 2.2, se aprecia que para el año de 2016 en todo el territorio nacional los plaguicidas en materia de comercio neto (exportación e importación) representó

poco más de 17,000 millones de pesos que concuerda con lo reportado por la Unión Mexicana de Fabricantes y Formuladores de Agroquímicos, A. C. (UMFFAAC) (Bejarano-González, 2017).

Análogamente, la Figura 2.3 muestra una tendencia de que casi un tercio de los plaguicidas destinados a los cultivos son los herbicidas dentro de los cuales las triazinas son un elemento importante. Las cifras anteriores corresponden a 282 organismos como la asociación de Protección de Cultivos, Ciencia y Tecnología A.C. (PROCCYT), la UMFFAAC y empresas trasnacionales de agroquímicos que dominan el mercado nacional como son Syngenta, Bayer, Monsanto, Dow-Dupont y BASF. Estas últimas, marcan la tendencia comercial controlando el 33% del comercio nacional en materia de plaguicidas (Bejarano-González, 2017).

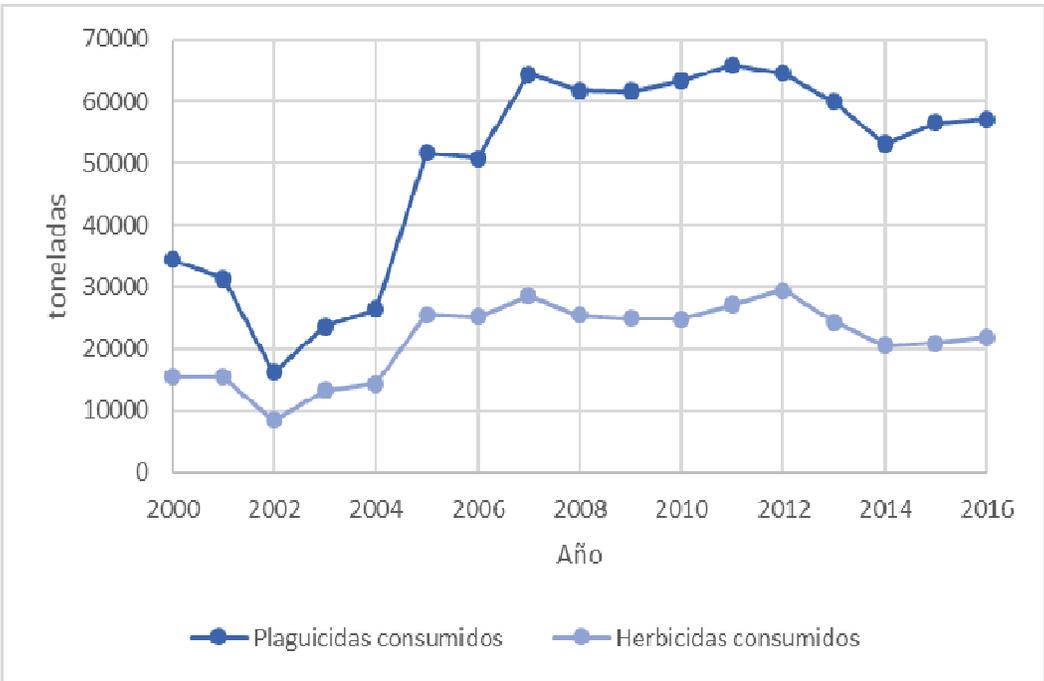


Figura 2.3. Consumo nacional en materia de plaguicidas y herbicidas (FAO, 2019)

2.5. Regulación

Las autoridades gubernamentales por medio de las instancias sanitarias de cada país gestionan las normas oficiales, límites máximos de residuos (LMR) así como

la Ingesta diaria recomendada (IDR) en los alimentos, guiados por las pautas que establecen organizaciones en esta materia como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), sobre residuos de plaguicidas.

Actualmente en México existen Normas Oficiales Mexicanas (NOM) referentes a cada aspecto de la cadena de suministro del uso de los plaguicidas vigente en todo el territorio nacional, las cuales son:

- NOM-232-SSA1-2009. Plaguicidas: Que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico (DOF, 2010)
- NOM-033-FITO-1995. Se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en comercializar plaguicidas agrícolas (DOF, 1996a)
- NOM-034-FITO-1995. Especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en la fabricación, formulación, formulación por maquila, formulación y/o maquila e importación de plaguicidas agrícolas (DOF, 1996b)
- NOM-052-FITO-1995. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para presentar el aviso de inicio de funcionamiento por las personas físicas o morales que se dediquen a la aplicación aérea de plaguicidas agrícolas (DOF, 1997)
- NOM-032-SAG/FITO-2014. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarios para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su Dictamen Técnico (DOF, 2015)
- NOM-003-STPS-2016. Actividades agrícolas-Condiciónes de seguridad y salud en el trabajo (DOF, 2017a)
- NOM-082-SAG-FITO/SSA1-2017. Límites máximos de residuos. Lineamientos técnicos y procedimiento de autorización y revisión (DOF, 2017b).

En 2012, los procedimientos para dictaminar la efectividad biológica de plaguicidas de uso agrícola que con fundamento en la Ley Federal de Sanidad Vegetal que le competía a la SAGARPA fueron actualizados referentes a la NOM-032-SAG/FITO-2014 (DOF, 2015), por lo que el SENASICA promueve también la determinación y autorización de LMR (parámetros fundamentales para el registro de plaguicidas en México), atribución compartida entre este Servicio Nacional en lo que corresponde a estudios de residuos en campo y la COFEPRIS (2019) sobre riesgos a la salud.

Además, para una adecuada implementación y coordinación de las estrategias de vigilancia y monitoreo de residuos en productos del campo mexicano, prácticas de buen uso y manejo de agroquímicos en todos los niveles productivos es imperativo incluir a las autoridades responsables y coadyuvantes como:

La COFEPRIS, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) y la Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS), así como Instituciones Académicas y de Investigación, tales como

La Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), representantes del sector privado, como los productores agrícolas, pecuarios y acuícolas; la industria farmacéutica y de los alimentos para animales, transformadores y comercializadores.

Actualmente, en México la COFEPRIS tiene el compromiso de actualizar el Catálogo Oficial de Plaguicidas por la razón de que existen 3140 registros sanitarios vigentes (COFEPRIS, 2019), algunos otorgados antes de 2005 y que concentran 183 ingredientes activos de los plaguicidas autorizados en México que son considerados altamente peligrosos para su uso extensivo con toxicidad aguda y que de ellos 140 están prohibidos en 37 países principalmente de la Unión Europea (Bejarano-González, 2017).

2.5.1. Límite máximo de residuos

Existe un límite máximo de residuos aceptable (*MRL*; por sus siglas en inglés) de plaguicidas en alimentos (FAO, 2019) para que pueda entrar en los distintos mercados nacionales e internacionales. Estos límites pueden afectarse por un uso indiscriminado en las aplicaciones de plaguicidas ya sea autorizados o no. Para evitar daños a la salud pública la NOM-082-SAG-FITO/SSA1-2017 (DOF, 2017b), establece los lineamientos para los LMR expresado en mg kg^{-1} y, en particular, para la atrazina en concordancia con la base de datos de la Comisión Europea establece un valor mínimo de referencia de 0.05 mg kg^{-1} , es decir, 5 ppm, aún cuando en ese continente está prohibido el uso de este plaguicida desde el 2005. La razón es porque causa daños a la piel y, en uso prolongado, afecta los órganos de la vías respiratorias y es tóxico para la vida acuática. En específico, para el agua la USEPA (2006) refiere que la vida media en aguas superficiales de la atrazina alcanza los 200 días y asegura que no tienen tendencia a bioacumularse. La ingesta oral establece un valor de $0.01 [\text{mg kg}^{-1}] \text{ d}^{-1}$ y para agua potable de consumo humano en 0.003 mg L^{-1} ($3 \mu\text{g L}^{-1}$). El Codex Alimentarius (FAO, 2019) no cuenta con LMR para este plaguicida debido a que no está aprobado para su uso en la Unión Europea, pero recomienda que en países en desarrollo se utilice la referencia de 1 ppm, algo vergonzoso ya que los producen empresas europeas para envenenar a los habitantes de los países de África, Asia y América Latina y el Caribe (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Límite máximo de residuos de ATZ para agua de consumo humano

Plaguicida	Unión Europea (FAO, 2019)	EE. UU. (USEPA, 2006)	Canadá (PMRA, 1993)	OMS (FAO, 2019)	México NOM-082-SAG-FITO/SSA1-2017 (DOF, 2017b)
Atrazina [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.10	3	5	2	2

Puesto que la atrazina es un herbicida polémico existen los LMR (Tabla 2.1) para agua de consumo humano. Debe mencionarse que para sus metabolitos, la regulación es estricta en agua potable. Por esa razón, en regiones sin normatividad la Unión Europea recomienda un límite de 0.1-0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para la suma del ingrediente activo y sus productos de degradación (Khan et al., 2017).

2.6. Propiedades fisicoquímicas

Previo al estudio de los plaguicidas comúnmente usados es necesario hacer las definiciones pertinentes de sus propiedades fisicoquímicas que determinarán su comportamiento en el ambiente (suelo, aire, agua, fruto, seres vivos), así como la selección del método más adecuado para hacer una serie de muestreos que permitan identificar y cuantificar la cantidad mínima de residuos en el tiempo.

2.6.1. Polaridad de una sustancia y solubilidad en agua

De manera general la polaridad de una sustancia y su comportamiento en un disolvente influye en la solubilidad, así como su volatilidad que se relaciona con la distribución de esa sustancia en un sistema de fases vapor-condensado.

La polaridad de una sustancia (medida por medio de su momento dipolar μ , en debyes), en este caso los plaguicidas, es una desigualdad de carga eléctrica presente en la estructura molecular dada la presencia y arreglo estereoquímico de átomos como O, N, Cl, F, etc. (con electronegatividad alta), que influyen en una densidad electrónica heterogénea de la molécula. Para las sustancias cuyo arreglo molecular en el espacio y la distribución de sus átomos mediante sus enlaces químicos no presentan una diferencia significativa de carga se dice que son no polares; sin embargo, no significa que no presenten interacciones mediante las llamadas fuerzas de van der Waals y que, por tanto, tengan cierta solubilidad en agua ($\mu = 1.85 \text{ D}$, $x = 80.0$). De lo anterior, solventes como nitrobenzeno ($\mu = 4.21 \text{ D}$, $x = 35.7$), clorobenzeno ($\mu = 1.7 \text{ D}$, $x = 5.7$), tolueno ($\mu = 0.37 \text{ D}$, $x = 2.4$), etc.,

pueden clasificarse dentro de sustancias polares y que pueden solubilizarse en agua.

La solubilidad de un soluto (plaguicida sólido) con su solvente (suelo, aire, agua, frutos, seres vivos) dependerá de interacciones electroestáticas. Por ejemplo, el DDT que es una sustancia caracterizada como no polar tiene más afinidad por los solventes hidrocarbonados no polares (grasas y tejidos de seres vivos) que, por el agua, sustancia polar por excelencia (Tadeo, 2008).

Adicionalmente, la solubilidad depende de factores extrínsecos tales como temperatura, presencia de metales y sales, pH, presencia de impurezas como materia orgánica y métodos para determinar la solubilidad.

2.6.2. Coeficiente de reparto octanol-agua

El coeficiente de reparto octanol-agua de una sustancia da la pauta para la toma de decisiones a la hora de seleccionar el solvente adecuado para realizar una extracción de un plaguicida presente en una matriz (alimento, agua, suelo, etc.). Este coeficiente indica la tendencia de un plaguicida o soluto para distribuirse en el equilibrio en dos fases de acuerdo con la ecuación 2.1:

$$K_{OW} = \frac{p}{q} \quad \text{Ec. 2.1}$$

donde K_{OW} es el coeficiente de reparto, p es la fracción del soluto en la fase no polar (octanol) y q es la fracción en la fase polar (agua).

Ejemplificando, una molécula no polar de un plaguicida como el DDT ($C_{14}H_9Cl_5$) tiene baja solubilidad en agua y altos valores de K_{OW} , lo que le confiere mayor tendencia para sedimentarse en los ambientes acuáticos. Para un mejor manejo y comparación de los datos es común utilizar $\log K_{OW}$ que, además, ayuda a visualizar el comportamiento de un plaguicida no polar en los seres vivos

(bioacumulación) dada su tendencia a acumularse en los tejidos grasos. Esto significa que si el coeficiente $\log K_{OW}$, es mayor a uno entonces el plaguicida es liposoluble con tendencia a acumularse en los seres vivos.

Para dar un panorama general del comportamiento de un plaguicida con base al parámetro K_{ow} , se tiene que (Singh, 2012):

- $K_{ow} > 1000$; indica la fuerte afinidad del plaguicida por adsorberse en el suelo por interacción electrostática
- $K_{ow} < 500$; indica que el plaguicida presenta tendencia a solubilizarse en agua por lo que se acumula en aguas superficiales.

2.6.3. Presión de vapor y volatilidad

De forma análoga al K_{OW} , la volatilidad de una sustancia es la tendencia de evaporarse entre dos fases cuando una de ellas es gaseosa, en este caso el aire del ambiente, debido a que algunas sustancias no son estables a presión y temperaturas normales (1 atm, 25°C). Por tanto, la presión de vapor de un plaguicida será alta cuando a una temperatura dada pase a la fase vapor fácilmente y, de esta manera, sea posible estimar el comportamiento del plaguicida en el ambiente (Singh, 2012).

- $P_{vapor} > 10^{-3}$ mm Hg; tienen tendencia a dispersarse hacia la atmósfera o atmósfera
- $P_{vapor} < 10^{-7}$ mm Hg; son muy poco volátiles por lo que tienden a estar presentes en suelos y aguas superficiales.

2.6.4. Ley de Henry

En una solución acuosa la presión de vapor induce a una sustancia a volatilizarse al igual que la polaridad de la sustancia disolvente, por lo que la tendencia de una

sustancia a pasar a la fase gaseosa es una función de la presión de vapor y la solubilidad. La Ley de Henry describe las concentraciones en el equilibrio de una sustancia entre una fase gaseosa (aire) y una líquida (agua) y viene dada por la ecuación 2.2

$$H = \frac{P}{S} \quad \text{Ec. 2.2}$$

donde H es la constante de Henry, P es la concentración en el aire (atm) y S concentración en el agua (mol/m^3), con lo que puede conocerse H a una temperatura dada, presión de vapor y solubilidad en agua.

2.6.5. Carácter ácido-base (pKa)

Indica el carácter ácido-base de una disolución que tiene efecto en el proceso de adsorción en suelos de los plaguicidas sean iónicos o no iónicos, así como, su fuerza ácida y/o básica. Este proceso estará condicionado por el pH, la carga eléctrica y la fuerza iónica. La constante de disociación iónica que depende de una disolución en particular está dada por la naturaleza del plaguicida.

2.6.6. Capacidad de adsorción de un plaguicida en el ambiente

Además de la definición del coeficiente de reparto octanol-agua que da la pauta de distribución en los seres vivos-agua de los plaguicidas es adecuado señalar la distribución de los plaguicidas de acuerdo con su afinidad por el tipo de suelo o si estará presente en disolución en los mantos acuíferos y/o aguas superficiales y de esta manera estimar su permanencia en el ambiente. Los plaguicidas con tendencia a realizar una fisiorción con el suelo resultan de las interacciones por fuerzas coulómbicas y que no tengan predisposición a reaccionar con el sustrato (quimisorción), en caso contrario los plaguicidas tenderán a contaminar las aguas (Sherma y Cairns, 1992).

La introducción anterior da la pauta para la definición del coeficiente de distribución K_d o coeficiente de sorción que es la fracción (C_a) en equilibrio de la especie adsorbida en el suelo con la fracción en la solución (C_d) (ecuación 2.3).

$$K_d = \frac{C_a}{C_d}$$

Ec. 2.3

2.7. Estructura de las triazinas

Son plaguicidas heterocíclicos del nitrógeno. Se usan como herbicidas en más de 50 tipos de cultivos (maíz, algodón, sorgo, soya, trigo, papa, jitomate¹, etc.) con bajas dosis de aplicación y con dosis altas pueden convertir los suelos fértiles a estériles. Es tal su uso que, en Brasil, con la caña de azúcar y, en los Estados Unidos, son indispensables en los cultivos de maíz para la producción de etanol como biocombustible. Las triazinas y sus subgrupos como las cloro triazinas, metoxitriazinas, metiltiotriazinas y triazinonas representan cerca del 30% del mercado mundial de insecticidas (LeBaron et al., 2008).

La actividad herbicida de las triazinas fue descubierta en 1954 y fue posteriormente en 1958 que derivó su producción a gran escala para uso agroquímico por la empresa Geigy, S. A., sintetizando simazina y atrazina (Draber y Fujita, 1992). En México, la producción de los plaguicidas triazinas se remonta a la década de los sesentas por parte de la filial *Geigy Schweizerhalle* (actualmente Novartis) en donde los lotes correspondían a atrazina y simazina principalmente con el objetivo de reducir la labranza, por supuesto en los grandes productores de

¹ Jitomate (*Solanum lycopersicum*) es una palabra que viene del náhuatl y significa tomate con ombligo, de *xictli*, ombligo y *tómatl*, fruto con más de veinte variedades originarios de México y usados para suavizar el sabor picante del chile (Cabrera, 2002). El jitomate se ha internacionalizado con el nombre de tomate pero los tomates son todos los frutos originarios de Mesoamérica. Los más conocidos son justamente el jitomate, el tomate (*Physalis angulata* L.), fruto verde-amarillento que tiene una cubierta tipo pergamino y que, para diferenciarlo en donde no conocen la palabra jitomate, le denominan "tomatillo". Los costomates (tomates amarillos, de *cóztic*, amarillo) los xaltomates o jaltomates (de *xalli*, partículas pequeñísimas o arenas muy finas, por ser frutos muy pequeños y con semillas pequeñísimas), los miltomates (tomates de milpa, muy dulces), etc., que ahora se les llama "dorado (pomma d'oro)", "cherry", "saladet" o "guaje", etc., por el desconocimiento de su origen pre-colombino y sus nombres originales particulares para cada uno [Nota de la supervisora técnica tomada de García-Montiel et al., 2016]

granos y hortalizas del país (noroeste de México). Un cultivo objetivo en México es en la producción de maíz que en el año 2004 ascendió a 42,000 toneladas solamente por debajo de EE.UU., China y Brasil y por supuesto el uso de la atrazina está ampliamente arraigado no solamente en este cultivo sino en una vasta diversidad de hortalizas y granos (LeBaron et al., 2008) porque los quelites, fuera de las verdolagas, no se comen en el noroeste de México. En 2005, tan solo en los EE.UU., la atrazina representó el 65% en uso por herbicidas mientras que el porcentaje restante corresponde al glifosato, metolaclor, acetoclor, etc. Las razones del uso extensivo de las triazinas es que aumentan la concentración de materia orgánica en los suelos pues se disminuye el uso de labranza convencional dando paso a una agricultura de conservación manteniendo la humedad y reduciendo la evaporación del agua, así como la erosión de suelos. Por tanto, las triazinas selectivas se usan en preemergencia a la invasión de pastos y malezas en los cultivos. De los datos anteriores, México se coloca dentro de los 5 principales consumidores de triazinas junto con Estados Unidos, Brasil, Argentina y China (LeBaron et al., 2008).

2.7.1. Atrazina

La atrazina (Figura 2.4) es un sólido cristalino blanco y como metabolitos presenta cuatro compuestos hidroxilados y tres compuestos clorados.

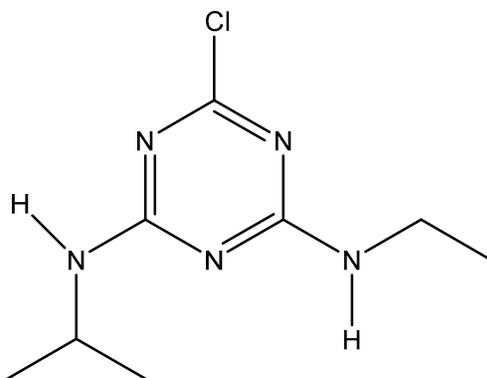


Figura 2.4. Estructura molecular de la atrazina

Es un herbicida sistémico inhibidor de la fotosíntesis y su uso extendido radica en su efectiva acción contra las malezas y follaje de hoja ancha en preemergencia. Se estima que en 2003, tan solo en los Estados Unidos, el 75% de los campos de maíz, 58.5% de los campos de sorgo y 76% de los campos de caña de azúcar fueron tratados con atrazina como principal ingrediente activo (USEPA, 2006).

Una de las rutas de producción de la atrazina de más uso extendido se representa en el siguiente mecanismo (Figura 2.5), en donde como precursores está el amoníaco con metano y el ácido cianhídrico con gas cloro usando carbón como catalizador de la reacción.

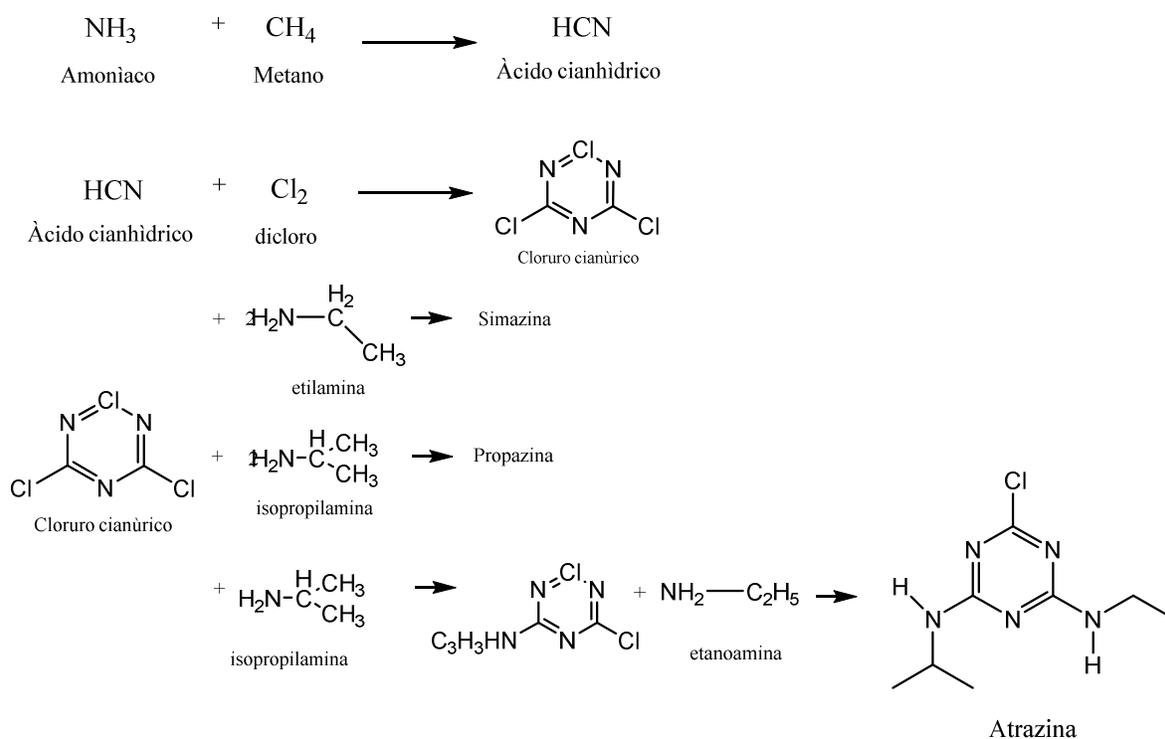


Figura 2.5. Ruta de síntesis de las principales triazinas de uso extensivo (LeBaron et al., 2008)

Posterior a la formación del intermediario cianuro-cloro, la isopropilamina y la etilamina se desempeñan como reactivos para la formación de simazina y propazina, respectivamente. Finalmente, la obtención de atrazina, estos

compuestos de triazina se obtienen en distintas fracciones para su posterior separación (LeBaron et al., 2008).

En términos de salud humana, en 2006, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (*USEPA*, por sus siglas en inglés) determinó que, en el consumo de granos y hortalizas con tratamiento de los herbicidas atrazina, simazina y propazina no representaba daño al organismo humano. En los aspectos regulatorios por parte de la Agencia Australiana de Plaguicidas y Medicamentos Veterinarios (*APVMA*, por sus siglas en inglés) se estableció un Límite Máximo de Residuo para evitar daños toxicológicos en anfibios de aguas superficiales de 40 ppb para la atrazina y sus metabolitos (APVMA, 2008).

La Unión Europea fijó en 1996 un LMR de 15 ppb y, además, estableció que los daños causados principalmente en ratas por cáncer mamario no son relevantes para los humanos (LeBaron et al., 2008). Finalmente, en 2001, la Organización Mundial de la Salud (LeBaron et al., 2008) y la Comisión Francesa de Investigación de Toxicidad sobre Productos de Plaguicidas validaron las investigaciones de la Unión Europea, la agencia australiana (APVMA, 2008) y la estadounidense (FDA, 2018).

Su impacto ambiental radica en que persisten en las aguas superficiales y subterráneas dada su tendencia a lixiviarse, se adsorben por los tallos y hojas de las plantas interviniendo el transporte de electrones durante la fotosíntesis a la plastoquinona (Tadeo, 2008).

2.8. Degradación

La degradación de un plaguicida es el proceso por el cual esta sustancia se descompone en sus subproductos, los cuales como resultado de la vía cinética son más estables energéticamente y pierden su efecto de ingrediente activo, pero persisten en el ambiente. Dependiendo de la velocidad de reacción este proceso

puede realizarse desde horas, días o años (Sherma y Cairns, 1992). Existe una relación costo beneficio ambiente-cultivo pues los plaguicidas que se degradan con rapidez generalmente no son tan eficaces pues pierden su acción química frente a las plagas dejando vulnerable al cultivo y persiste la necesidad de más aplicaciones (Sherma y Cairns, 1992):

- **Degradación microbiológica.** Ocurre por microorganismos como hongos y bacterias y tiende a incrementar con la temperatura; además, con un pH favorable, humedad y fertilidad del suelo se acelera su descomposición
- **Degradación química.** Dependiendo de la naturaleza del suelo, pH, temperatura y tipo de interacción entre el plaguicida y el fruto, hojas, tallos o suelos las reacciones químicas varían en orden de reacción y velocidad de descomposición del plaguicida; por ejemplo, los plaguicidas organofosforados se degradan más rápidamente en suelos alcalinos
- **Fotodegradación.** Consiste en el rompimiento de los enlaces químicos de los plaguicidas por acción de la luz solar y su magnitud dependerá de la longitud de onda y propiedades fisicoquímicas del plaguicida; además al aplicarse al follaje del cultivo presentan mayor tendencia a fotodegradarse que si se incorporan al suelo.

El perfil de descomposición (Figura 2.6) ya sea en la atmosfera o atmósfera, frutos, hojas, tallos, suelo o agua sigue una tendencia en la cual se parte de los agentes químicos denominados sustancias activas que se degradan a metabolitos (Kamrin, 1997), además de que existen especies que fungen como intermediarios. La degradación puede realizarse por las vías mencionadas y dependerá de tantos factores como los revisados en este trabajo, como de las propiedades fisicoquímicas del ingrediente activo, condiciones ambientales y matriz en la que se encuentre.

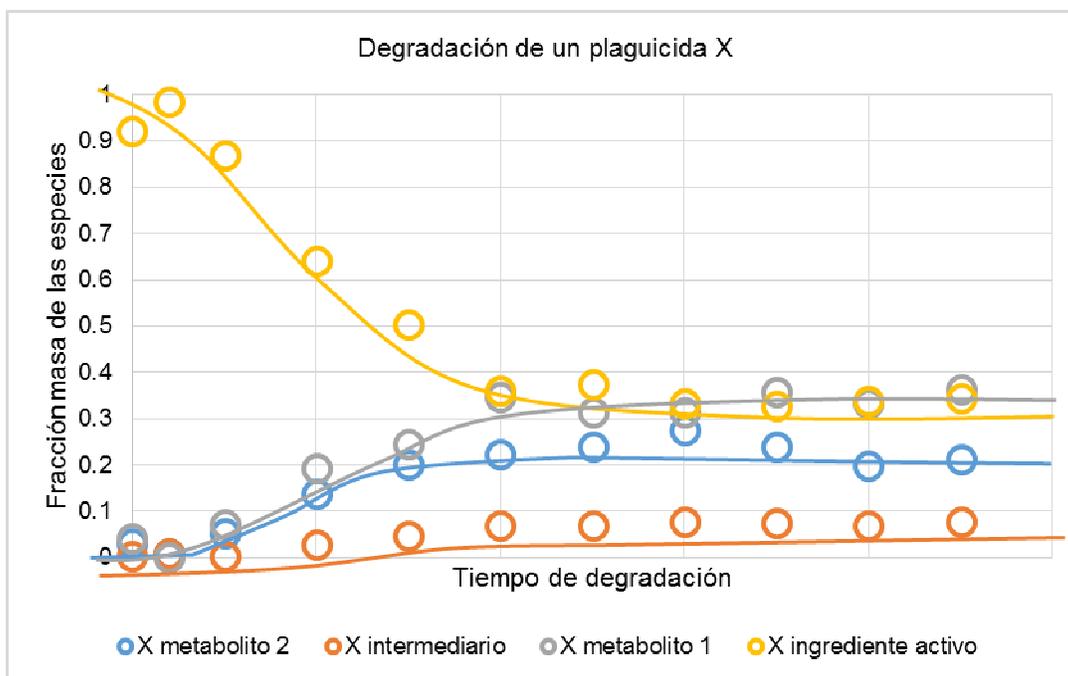


Figura 2.6. Representación teórica de la degradación de un plaguicida en el ambiente, elaboración propia

2.8.1. Degradación microbiológica

La degradación microbiológica de las triazinas (Tabla 2.2) es probablemente la ruta con mayor tasa de descomposición a metabolitos de este tipo de plaguicidas. En este sentido, la atrazina y sus mecanismos de degradación celulares y moleculares son tan complejos como variados con las especies participantes (enzimas, bacterias, hongos), en degradarse a compuestos relativamente inofensivos como el dióxido de carbono (CO_2) y el amoníaco (NH_3) mediante la descloración (proceso químico) o desalquilación (proceso biológico) (LeBaron et al., 2008).

Tabla 2.2. Bacterias participes en el proceso de degradación microbiológica de triazinas (LeBaron et al., 2008)

Bacterias	Triazina	Parte removida	Referencia
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Atrazina	Anillo y cadena lateral	Moscinski et al. (1996)
<i>Acinetobacter junii</i>	Simazina	Cadena lateral	Feakin et al. (1995)
<i>Rhodococcus corallinus</i>	Atrazina	Cloro y grupos aminos	Cook et al. (1985)

A pesar de la gran cantidad de triazinas utilizadas como plaguicidas, las agencias gubernamentales aseguran que su bioacumulación no es significativa dado que son susceptibles a la degradación tanto biótica como abiótica teniendo en cuenta los factores ambientales como tipo de suelo, temperatura, pH, humedad, composición microbiana del suelo, etc. Estas condiciones ambientales son diversas en suelos y aguas superficiales y pueden agruparse como bióticos y abióticos; contenido de materia orgánica, concentraciones de algún soluto, porosidad del suelo, tiempo de residencia en el sistema.

2.8.2. Degradación no microbiológica

Análogamente a la degradación microbiológica, que es la vía más común, también se presentan las degradaciones de tipo abiótico como son: Hidrólisis, fotólisis, oxidación, conjugación, reducción o reordenamiento. Los aspectos inherentes tanto a la fotólisis como a la hidrólisis son tan variados y complejos como los mecanismos participantes y cambian ampliamente de un sistema a otro. De forma general, las triazinas se degradan por la adsorción de longitudes de onda mayores a los 290 nm (Konstantinou et al., 2001) teniendo lugar una fotólisis indirecta en el agua superficial. De manera paralela, la hidrólisis de las triazinas se realiza en menor grado pero promovidas por sensibilizadores como acetona, surfactantes y catalizadas por la presencia de carbono orgánico disuelto (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácidos carboxílicos o fenoles), nitratos y/u otros compuestos. Tal es el caso del dióxido de titanio acoplado a membranas fotocatalíticas que se han usado en estudios de degradación de triazinas en aguas superficiales para su completa mineralización (Moreira et al., 2017).

A diferencia de la degradación microbiológica en donde las reacciones de desalquilación y desaminación dan lugar al fotoproducto de degradación amoniaco (NH_3) y CO_2 como los componentes finales en mayor proporción, la degradación por fotólisis incluye una descloración de la triazina y su hidroxilación dando lugar a la formación de (Navarro et al., 2004):

- Atrazina (ATZ) (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) (221 nm) (216.37 m/z)
- Hidroxiatrazina (HAT) (4-Ethylamino-2-hydroxy-6-isopropylamino-1,3,5-triazine) (240 nm) (198.39 m/z)
- Desetilatrazina (DEAT) (4-Amino-2-chloro-6-isopropylamino-1,3,5-triazina) (212 nm) (188.34 m/z)
- Deisopropilatrazina (DIAT) (6-Amino-2-chloro-4-ethylamino-1,3,5-triazina) (213 nm) (174.33 m/z)

y algunos productos intermedios menos frecuentes:

- Deisopropilhidroxiatrazina (DIHAT) (6-Amino-4-ethylamino-2-hydroxy-1,3,5-triazine) (234 nm) (156.11 m/z)
- Desetilhidroxiatrazina (DEHAT) (4-Amino-2-hydroxy-6-isopropylamino-1,3,5-triazine) (234 nm) (170.37 m/z)
- Deisopropildesetilhidroxiatrazina (Amelina); 2-Hidroxi-4,6-diamino-1,3,5-triazina)

para la formación final de:

- Ácido cianúrico (2,4,6-Trihidroxi-1,3,5-triazina)
- Cloroamelina (CAAT) (2-cloro-4,6-diamino-1,3,5-triazina)

Todos los compuestos anteriores son resultado de la fotodegradación, son moderadamente polares y fungen como intermediarios en la degradación microbiológica (Navarro et al., 2004).

Tanto el pH como la temperatura influyen en cierta medida sobre las reacciones de hidrólisis de las triazinas teniendo en cuenta que los valores de este indicador se encuentran entre 5 y 9 para aguas superficiales presentes en la naturaleza y raramente sobrepasan los 30°C; asimismo, aniones y cationes de sales están

solubilizados, así como materia orgánica de carácter cromóforo también disuelta (Borja-Urzola, 2017; Navarro et al., 2004).

Algunas triazinas como la 2-cloro, 2-metil tio y 2-metoxi triazinas, así como el metribuzin y la hexazinona son estables a estas condiciones y, por tanto, no se hidrolizan o sus niveles de hidrolización son muy bajos con respecto de la fotodegradación (Tomlin et al., 2009). Sin embargo, la hidrólisis puede tomar forma bajo condiciones más severas como el carácter ácido a valores de 13 ó 1 por la presencia de ácidos fuertes como el sulfúrico. Tal es el caso del plaguicida cianazina que se hidroliza dando lugar a un grupo amida (I), un grupo ácido carboxílico (II), así como una posterior hidrolización del heteroátomo cloro (III y IV).

2.8.3. Degradación por fotólisis

Se considera que la capa de ozono O_3 absorbe las longitudes de onda del espectro solar por debajo de los 290 nm dejando las ondas por arriba de esta magnitud atravesar la capa e incidir directamente en el ambiente. A estas condiciones de luz los compuestos cromóforos, entre ellos las triazinas, reaccionan por fotólisis ya que la energía necesaria (399 kJ/mol; por arriba de los 300 nm) para romper los enlaces covalentes de estas especies es suficiente vía la radiación UV (LeBaron et al, 2008). Tomando en cuenta lo anterior es relevante hacer una diferenciación en los procesos de degradación por fotólisis catalogándola como directa o indirecta de acuerdo con la ruta que tomen las especies para su descomposición en el ambiente.

2.8.3.1. Fotólisis directa

Están catalogadas aquí las especies cromóforas que absorben los fotones provenientes de la luz UV y como consecuencia llegan a un estado de excitación electrónica la cual es disipada por una reacción química o fotoquímica. Tal

reacción involucra la formación de radicales libres, isomerización o formación de enlaces dobles y, debido al grado de excitación de las moléculas de estas especies, la energía absorbida puede transferirse a otras especies reaccionantes. La manera de cuantificar el grado de reacción, por parte ya sea de herbicidas u otros compuestos a la luz solar, es mediante el rendimiento cuántico (Φ) que mide la eficiencia de una reacción fotoquímica en donde si toma el valor de 0 significa que la reacción no ocurre y, por el contrario, al tomar el valor de 1 significa que la especie tenderá a transformarse en sus metabolitos (Tadeo, 2008).

2.8.3.2. Fotólisis indirecta

Se mencionó que las especies reaccionantes por fotólisis directa tienen a formar radicales libres o pueden transferir la energía absorbida vía electrones a otras especies que no reaccionan al incidir luz UV por encima de los 290 nm. Esto último se refiere a la fotólisis indirecta que ocurre principalmente en aguas superficiales dada la exposición y transparencia de la capa exterior de agua en donde especies cromóforos fotosensibilizan a otras especies haciéndolas reaccionar. Algunas especies pueden ser nitratos, óxidos de metales y/o ácidos húmicos. Se toma en cuenta que este proceso presenta una duración de nano o microsegundos (LeBaron et al, 2008).

2.8.4. Ruta de degradación en aguas superficiales

Las especies intermediarias mencionadas en la degradación no microbiológica son producto de una fotólisis directa que sucede con la atrazina en aguas superficiales (Figura 2.7) y su reacción con OH^\bullet , que es la especie más reactiva, generado vía fotólisis de materia orgánica disuelta (*DOM*; por sus siglas en inglés), nitratos, nitritos, metales disueltos como Fe^{3+} y Fe^{2+} , entre otros. Sin embargo, dada la naturaleza reactiva del OH^\bullet con especies como HCO_3^- , CO_3^{2-} y *DOM*, se restringe y se compite con la degradación de la atrazina en sus metabolitos (Zhang et al., 2018).

La atrazina en el proceso de mineralización genera intermediarios por dos vías (Hansen et al., 2013); hidrolítica, en donde es reemplazado el átomo de cloro con el grupo OH[•] (descloración) y oxidativa-hidrolítica, que también puede darse por el ataque nucleofílico de los radicales OH[•] a las cadenas laterales alquiladas dando lugar a diversos intermediarios oxidados. En aguas superficiales, la formación y presencia del radical OH[•] está dada por diversas fuentes como las mencionadas; sin embargo, estos últimos limitan la degradación por hidrólisis de la atrazina pues reaccionan con otras especies. Por ello, en aguas superficiales su concentración apenas alcanza $10^{-16} M$ (Tuzimski y Sherma, 2015).

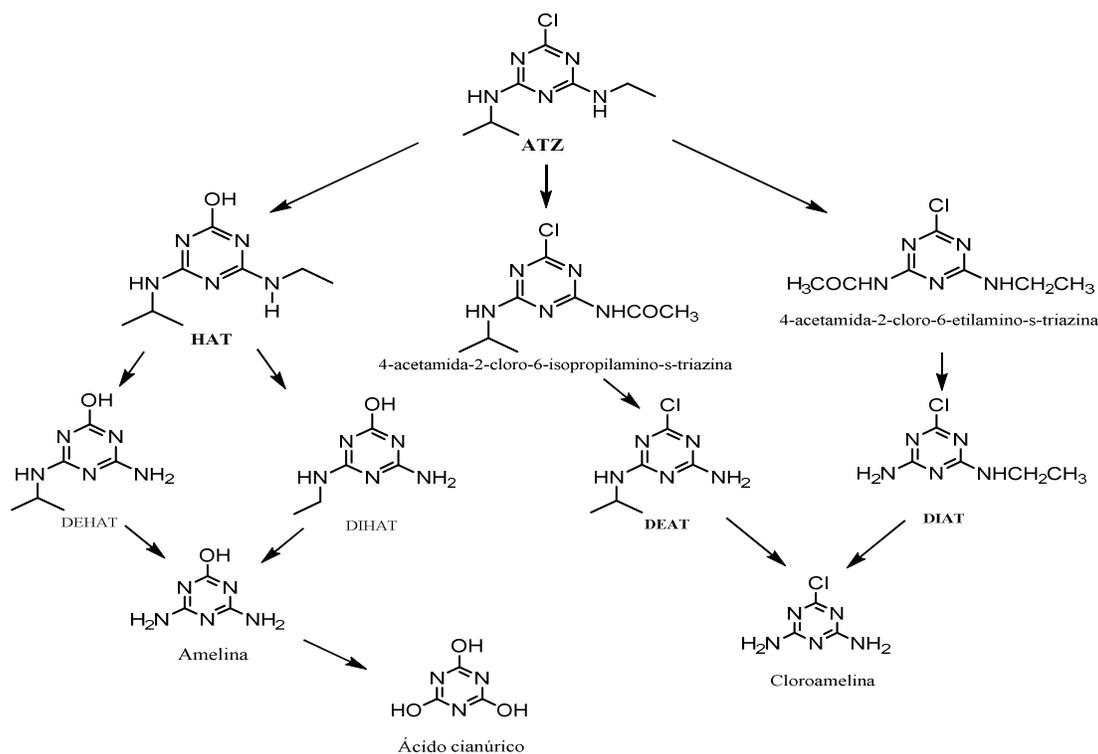


Figura 2.7. Ruta de degradación de la atrazina en aguas superficiales (LeBaron et al., 2008)

2.8.5. Efecto del pH y temperatura

Como punto de partida al establecer una experimentación sobre degradación de plaguicidas los parámetros de potencial de hidrógeno, así como el gradiente de

temperatura local, son vitales en el campo de análisis y pueden adecuarse a distintos valores para interpretar el comportamiento de la especie a esas condiciones. La formación del principal metabolito de la ATZ; la hidroxiatrazina HAT, incrementa al aumentar el parámetro de temperatura, pero decrece al acercarse a valores extremos de pH cerca de 1 ó 13, en tanto que a 20°C y pH de 7 se inhibe la degradación (excepto a 70°C, donde se hidroliza) (Tomlin, 2009). Generalmente se considera que, a condiciones naturales estables, esto es, entre pH 5 y 9, la hidrólisis no se lleva a cabo (LeBaron et al., 2008).

2.9. Impacto ambiental

Los plaguicidas utilizados, como se vio en la sección de clasificación de plaguicidas, están organizados por su ingrediente activo proveniente de grupos funcionales químicos y su estado físico puede ser sólido, en solución acuosa, suspensión o emulsión. Así mismo, se vio cómo la Ley de Henry describe el comportamiento y destino de los plaguicidas en las fases aire-agua. Existe tal controversia sobre el uso de plaguicidas y los muchos riesgos asociados con su mal manejo que, para ejemplificar las consecuencias ambientales, la Figura 2.8 es útil para visualizarlos.



Figura 2.8. Ciclo de las condiciones ambientales (Tadeo, 2008)

2.9.1. Riesgos asociados por el uso de plaguicidas

El uso de plaguicidas incide en una potencial exposición de los individuos partícipes en el ambiente como son humanos, flora y fauna y la posibilidad de afectaciones en distintos grados. La evaluación de esta combinación de factores implica la identificación del riesgo en la aplicación de la sustancia en todos los niveles participantes desde el fabricante, el agricultor y el consumidor, por lo que se han desarrollado distintas estrategias para reducir los riesgos de contaminación por plaguicidas que incluyen (Coscollá y Coscollá, 2006):

- Regulación y control en la producción y uso de plaguicidas
- Promoción de la seguridad en el buen uso y manejo de agroquímicos (BUMA)
- Aplicación de buenas prácticas como son:
 - Manejo y capacitación en la acción frente a plagas comunes
 - Inducción en la agricultura orgánica como método cultural contra la agricultura convencional
 - Establecimiento de centros de recolección de envases vacíos de agroquímicos

Uno de los sistemas más populares y difundidos en la actualidad es la aplicación del sistema *HACCP* (Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control, por sus siglas en inglés).

2.9.2. Destino de los plaguicidas y procesos de transferencia

El objetivo de los plaguicidas es asegurar una rentable producción agrícola eliminando agentes que pudieran perjudicar la calidad visual y sensorial del fruto/cultivo. Sin embargo, el plaguicida en el ambiente puede comportarse de distintas formas mediante procesos de volatilización, arrastre, expansión, lixiviación, y/o adsorción (Hodgson, 2012):

- Adsorción. Es la adhesión superficial de las partículas del plaguicida con el suelo y la cantidad adsorbida dependerá del tipo de plaguicida, tipo de suelo, contenido de humedad, pH del suelo, y textura del suelo. En suelos arcillosos o con barro los plaguicidas se adsorben con más facilidad que en suelos arenosos, además de que es menos probable que se vaporicen o se filtren a través del subsuelo
- Volatilización. Es el proceso mediante el cual los sólidos y líquidos pasan al estado gaseoso, los plaguicidas son volatilizados fácilmente de suelos arenosos y mojados, se recomienda aplicar los plaguicidas en el suelo para evitar volatilización
- Aspersión. Durante la aplicación vía aérea de los plaguicidas las gotitas resultantes son arrastradas por el viento lejos del lugar original de aplicación provocando con esto el recorrido de grandes distancias de estas partículas afectando al entorno ambiental
- Arrastre. Dependiendo de la naturaleza fisicoquímica del plaguicida, y con ello su solubilidad en agua pueden ser arrastrados por el riego de aguas agrícolas en los cultivos cuando son aplicados directamente a los suelos con lo que este proceso y su magnitud depende de la naturaleza del suelo, humedad, tipo de plaguicida y sistema de riego
- Lixiviación. Contrario al arrastre, los plaguicidas solubilizados en agua pueden filtrarse a través de los suelos y pueden llegar a los mantos acuíferos; la distribución de la concentración del plaguicida no es uniforme, sino que es heterogénea dependiendo del tipo de suelo, plaguicida utilizado, solubilidad e interacciones con el suelo.

2.10. Determinación de plaguicidas

Las trazas de plaguicidas presentes en los alimentos provenientes de producción primaria o bien alimentos procesados pueden ser nocivas para el organismo y considerarse como contaminantes comprometiendo la inocuidad en los distintos mercados destino. Es por ello, que el avance en las técnicas de determinación y

monitoreo de agentes químicos es de vital trascendencia para el aseguramiento de la calidad. Los LMR pueden ser demasiado, o no, exigentes dependiendo de la región económica y pueden oscilar desde 1 parte por millón (ppm) a un intervalo menor, es decir, por cada kilogramo de alimento si se encuentra que está presente 1 miligramo de plaguicida, entonces equivaldría a 1 ppm.

2.10.1. Extracción

Es de importancia señalar que los sistemas de espectrometría de masas se han desarrollado al grado que su sensibilidad ($0.1 \mu\text{g/L}$) no requiera de una limpieza o enriquecimiento del analito. Sin embargo, la extracción en fase sólida (EFS) sigue siendo una útil herramienta recomendada para el análisis de plaguicidas hidrofóbicos e hidrofílicos en aguas superficiales (Tuzimski y Sherma, 2015).

Extracción en fase sólida

Consiste en transferir el analito de la fase acuosa hacia la fase sólida del sorbente como grafito de carbón negro, sílice (sílice sustituida con grupos alquilo arilo) octadecil (C18) y siliceoctil (C8), resinas poliméricas (divinil benceno-N-vinil pirrolidona). La funcionalidad y eficiencia de estos sorbentes depende de su tamaño de partícula, porosidad e interacciones con los componentes a estudiar.

La extracción de plaguicidas en fase sólida resulta ser un método útil, sobre todo cuando las muestras necesitan ser transportadas y almacenadas dada la retención de los sorbentes, además de una reducción en costos y tiempos de operación comparado con la extracción líquido-líquido convencional. Sin embargo, dependiendo de la configuración de la matriz a analizar ya sea por la presencia de sólidos suspendidos o sales disueltas y también por la diversidad de sorbentes, así como por las condiciones de operación, se afectan los porcentajes de recuperación final de los compuestos plaguicidas de interés a analizar. Se tiene que considerar que, para compuestos hidrológicos, no es conveniente realizar el

paso de prefiltración debido a que una fracción importante de plaguicidas se encuentran ligados a ellos (Nollet y Toldra, 2015).

Adicionalmente, otros tipos de extracción están disponibles para distintos objetivos de análisis (atmosféricos, agua, fruta y vegetales, etc.) (Nollet y Toldra, 2015):

- Extracción Líquido-Líquido (ELL)
- Micro Extracción Líquido-Líquido (MELL)
- Discos de Extracción en Fase Sólida (DEFS)
- Micro Extracción en Fase Sólida (MEFS)
- Detección mediante Inmuno-Ensayos (DEI)

2.10.2. Cromatografía de gases (GC)

Básicamente se compone de una columna empacada o bien una columna de capilares complementada con un sensor magnético de espectrometría de masas en donde son separados un número limitado de componentes que han sido vaporizados como mezcla al inyectarse en el puerto inicial.

Esta mezcla vaporizada viaja a través de la columna donde es separada y entra al ionizador del espectrómetro de masas para su posterior análisis. Esta técnica es típicamente usada para compuestos estables a temperaturas elevadas y con puntos de ebullición menores a 300°C a 1 atm (Fong et al., 1999).

2.10.3. Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

A diferencia del CG, en esta técnica de separación se tiene la ventaja de que no existe degradación térmica provocada por el elevado incremento de la temperatura en la columna empacada. La muestra es introducida disuelta en un solvente que no afecte las propiedades del analito. Se debe poner especial atención en la limpieza inicial de las muestras debido a que por más selectiva que sea la

cromatografía líquida o CLAR (*HPLC*; por sus siglas en inglés), su sensibilidad puede verse afectada por la presencia de impurezas o baja concentración del plaguicida a analizar. Su selectividad tiene que ver en la etapa de separación de los componentes por su comportamiento hidrofóbico (que repelen al agua) y el coeficiente de reparto K_{ow} y su interacción con una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar. Es crucial la determinación inicial de la relación solvente/agua, pH, temperatura, volumen de inyección. Una vez definido lo anterior puede decirse que la separación mediante CLAR es factible cuando los componentes de la muestra se distribuyen selectivamente entre la fase estacionaria y la fase móvil (Paranjape et al., 2014). Para tener una visualización de los resultados esperados es conveniente consultar la literatura y extraer parámetros que sirvan como punto de partida y realizar una comparación objetiva. Dichos parámetros consisten en el método de análisis, condiciones experimentales, límite de detección (*LOD* en inglés, cantidad mínima de analito que puede detectarse mediante un valor exacto pero no cuantificado), límite de cuantificación (*LOQ* en inglés, cantidad mínima de analito que puede determinarse cuantitativamente con precisión) cantidad y tratamiento de la muestra.

El volumen de inyección es un elemento por considerar, pues de esto dependerá la separación en la columna cromatográfica y, por ende, la sensibilidad del análisis que es el objetivo para lograr determinar las trazas de los residuos vigentes en la normativa oficial.

Los detectores convencionales usados en CLAR como UV, arreglo de diodos, fluorescencia, entre otros, presentan alto grado de sensibilidad y selectividad, aunque en ocasiones si una especie de plaguicida no presenta fuerte carácter cromóforo se recomienda que para su monitoreo se aplique la espectroscopía de masas que, junto con una adecuada polaridad y arreglo de las columnas de separación, provee una herramienta robusta de confirmación de especies por masas.

2.10.3.1. Selección de la columna

Los tipos de separación en la CLAR (*HPLC*) incluyen, además del modo de fase reversa (caracterizado por la interacción de una fase de sorbente no polar y un efluente acuoso polar), el modo de fase normal que se presenta cuando un adsorbente polar interactúa con un efluente no polar, la adsorción, la partición y el intercambio de iones. De todos ellos, los parámetros como su geometría, dimensiones y tamaño de partícula, selectividad y eficiencia aseguran una exitosa separación. De conformidad con las propiedades fisicoquímicas presentadas en el Anexo 1 y, en especial, la polaridad y solubilidad de la ATZ y sus metabolitos es viable el uso del modo de fase reversa (Tadeo, 2008).

2.10.3.2. Fase estacionaria, tamaño de partícula, empaque y dimensiones

Comúnmente en CLAR (*HPLC*, en inglés) se utilizan fases estacionarias con carácter hidrófobo a base de gel de sílice que son cadenas hidrocarbonadas con grupos silanol como el octadecil (C18), octil (C8), butil (C4), grupos fenil, grupos aminos, etc., los cuales están recubiertos con trimetilmetoxi silano TMS (Tuzimski y Sherma, 2015). Puesto que el rango de operación de pH en este tipo de fases oscila entre 2 a 9.5 y que en ocasiones es necesario además trabajar con sustancias que amortigüen el pH (*buffers*, en inglés) o mezclas de fase móvil como etanol-agua o acetonitrilo-agua, es importante dar respuesta a este tipo de problemas con las fases estacionarias hidrófilicas (alquilando las cadenas de C18 o C8 con grupos polares) para evitar la disminución de la selectividad y retención por parte de la fase estacionaria. Sin embargo, la adición de grupos polares o poliméricos a la fase estacionaria traen consigo una disminución de la transferencia de masa solvente-SP y, por ende, baja eficiencia en la separación (Tuzimski y Sherma, 2015).

El empaque y accesorios que conforman la geometría de la columna es materializada con acero inoxidable o polímeros como el poliéterétercetona (*PEEK*,

en inglés) diseñados para presiones de hasta 250 bar. Aunado al tamaño de partícula, la eficiencia de la columna también depende de su longitud y, por consecuencia, del límite de detección. Las dimensiones de la columna (Tabla 2.3) se clasifican de acuerdo con la aplicación destino.

Tabla 2.3. Características de columna e intervalo de flujo sugerido (Tuzimski y Sherma, 2015)

Calibre de columna	Diámetro interno [mm]	Rango de flujo [mL/min]
Normal	3-4.6	0.5-3
Estrecho	1-2	0.02-0.3
Micro	0.15-0.8	0.002-0.02
Nano	0.02-0.1	0.0001-0.001

mm: Milímetros; mL: Mililitros; min: Minutos

Se debe de asegurar la eficiencia entre columnas, es decir, al hacer un cambio de columna con diámetro 1 y flujo 1 a otra con diámetro 2 y flujo 2 (Ecuación 2.4) por donde fluya el solvente con el analito y que proporcione una relación lineal de la velocidad del flujo contra el diámetro de la columna.

$$F_2 = \frac{d_1}{d_2} F_1 \quad \text{Ec. 2.4.}$$

2.10.3.3. Fase móvil

La composición de la fase móvil (solventes orgánicos, agua, soluciones amortiguadoras (*buffer*) grado CLAR (*HPLC*) con transparencia en la región UV, sin gases disueltos ni impurezas orgánicas) es un parámetro especial dado que cerca del 80% de los análisis cromatográficos son realizados en fase reversa con composiciones de hasta 80% agua grado *HPLC*. Un valor de pH estable proporciona una mejor separación y elución de los picos cromatográficos para aquellas especies con tendencia a ionizarse y que, por lo tanto, no interactúen (sin tiempo de retención) con la fase reversa en *HPLC*. Además, es útil para prevenir la disolución a un pH mayor a 11 de silicatos provenientes de la fase estacionaria (Tuzimski y Sherma, 2015).

En este contexto, y dado que el amplio catálogo de los plaguicidas que incluye diversas familias y subcomponentes con distintos grupos funcionales que presentan en su estructura grupos ácidos o básicos y resulta difícil establecer una sola ruta de análisis inclusive para una misma especie de plaguicidas pertenecientes a la misma familia (triazinas), un diseño multifactorial combinando los valores de pH, con la composición de las fases móvil y estacionaria resulta útil para la identificación a nivel de laboratorio de estas especies de plaguicidas.

Por esta razón la capacidad de una especie a ionizarse dependerá de su pH y fracciones de la fase móvil e influirá en la elución de los picos cromatógrafos ocasionando distorsiones por la posible interacción de las especies iónicas con grupos silanos (en columnas de C18) arraigados en la fase estacionaria (Tuzimski y Sherma, 2015).

Adicionalmente, es indispensable considerar que a cambios de pH el tiempo de retención dentro la columna cromatográfica oscila entre valores no lineales de acuerdo con los parámetros de la constante de disociación pK_a del compuesto. Para finalizar el punto y como regla general, en especial para la fase móvil, se establece que para los analitos con carácter ácido-base, los valores de pK_a para las especies neutras se incrementan por la mezcla con solvente orgánico, en tanto que en presencia de especies protonadas del analito disminuyen el valor de su pK_a al mezclarse (Tuzimski y Sherma, 2015).

Los solventes comúnmente usados en *HPLC* fase reversa para la determinación de triazinas son el acetonitrilo (ACN) y el metanol (MeOH). El primero de ellos exhibe propiedades de transparencia a bajas longitudes en el espectro UV, así como baja viscosidad, en tanto que el segundo otorga una adecuada solubilidad de agentes amortiguadores (*buffers*) de fosfatos.

Para fines de espectroscopía de masas, tanto el metanol como el acetonitrilo son solventes que presentan baja tensión superficial y baja constante dieléctrica por lo que promueven la evaporación de iones, además tienen afinidad básica (afinidad a protones) y ácida (afinidad a electrones) en fase gaseosa (Gross, 2005).

2.10.3.4. Parámetros cromatográficos

Las interacciones hidrofóbicas que ocurren entre el analito-solvente-fase estacionaria son las principales que se presentan en el uso de la fase reversa por lo que la retención y su consecuente separación del analito está condicionada por la naturaleza de las moléculas del solvente, estructura molecular del analito y arreglo químico de la fase estacionaria dando como resultado una interacción hidrófoba principalmente.

Fundamentalmente, los parámetros característicos que se establecen en la separación de los distintos tipos de moléculas en *HPCL* son (Tuzimski y Sherma, 2015):

- Factor de retención k , que se define como la distribución del analito tanto en el volumen de la fase móvil como en la fase estacionaria (Ecuación 2.5).

$$k = \frac{1 - R}{R} \quad \text{Ec. 2.5.}$$

donde R es la fracción de moléculas en la fase móvil y $1-R$ representa la fracción de moléculas en la fase estacionaria.

- Tiempo de retención t_R , que es el tiempo que transcurre desde la inyección de la muestra hasta la aparición del pico característico de la sustancia en el registrador (Ecuación 2.6).

$$t_R = t_0(1 + k) \quad \text{Ec. 2.6.}$$

donde t_0 es el tiempo en donde el analito no ha sido retenido por la fase estacionaria.

- Eficiencia N , está dada en función del número de platos de la columna cromatográfica y la capacidad para separar las distintas moléculas y en consecuencia la distinción clara de los picos graficados (Ecuación 2.7).

$$N = 16 \frac{t_R^2}{W} \quad \text{Ec. 2.7.}$$

asignando a W como el ancho de los picos, o bien intervalo de longitud de frecuencia.

- Resolución R_s , distinción y separación entre un pico (j) y otro pico cromatográfico (i) dada por el tiempo de retención (Ecuación 2.8):

$$R_s = \frac{2 t_{Rj} - t_{Ri}}{W_j + W_i} \quad \text{Ec. 2.8}$$

- Factor de separación α , es el grado de selectividad y retención de las especies analizadas entre dos picos adyacentes (Ecuación 2.9):

$$\alpha = \frac{k_j}{k_i} \quad \text{Ec. 2.9}$$

Una adecuada separación y por ende una exitosa caracterización dependen en gran medida de la comprensión de estos indicadores y manipulación de las variables cromatográficas de operación. Los parámetros anteriores son sensibles por lo que afectan en el resultado final y pueden manipularse a conveniencia del analito de interés.

2.10.4. Espectrometría de masas (EM)

La espectrometría de masas (*MS*, por sus siglas en inglés) está enfocada a la separación y caracterización de especies moleculares y atómicas de acuerdo con su masa molecular y está especificada para determinar los plaguicidas y sus metabolitos polares, estables térmicamente y ligeramente no volátiles.

De manera general se compone de un sistema de inyección, fuente de iones (generando campos magnéticos y eléctricos que rompen la molécula), analizador y detector. La relación masa/carga (m/z), indican la separación entre especies de iones cargados positivamente o, en un sentido estricto, se entiende como la relación entre el valor numérico de la carga iónica en la escala de la masa molecular de esa especie y el número de cargas elementales del ion respectivo (Gross, 2005).

A partir del efluente líquido de la matriz a analizar y sus propiedades fisicoquímicas particulares existe el reto de vaporizarlo y generar una fase gaseosa de iones al tiempo que se remueve el solvente y se mantiene una adecuada presión de vacío en el espectrómetro mediante un haz de iones.

- Ionización. Las fuentes de ionización son parte fundamental de los espectrómetros para la generación de una fase gaseosa de iones que son manipulados en campos magnéticos y eléctricos de acuerdo con la relación m/z
- Ionización por Electro Asperjado o Nebulización o *Spray* (*ESI*, por sus siglas en inglés). La ionización toma forma vía una aplicación de una fuerte carga eléctrica sobre el eluyente que emerge del nebulizador produciendo un aerosol con minúsculas gotas cargadas eléctricamente. Al evaporarse el solvente, el tamaño de las gotas disminuye hasta el punto de que se presente el fenómeno

de la evaporación de iones de la superficie de la gota con lo que el analizador de masas clasifica la relación masa/carga. Es común que se clasifiquen como iones con carga múltiples a las especies con alta masa² molecular.

- Ionización química por presión atmosférica (*ApCI*, en inglés). Esta puede darse por la vía de una desprotonación de las especies moleculares del analito en donde son vaporizadas con un nebulizador y fluyen en conjunto con un solvente ionizado atmosféricamente en donde sucede la transferencia de protones solvente-muestra. El flujo recomendado puede ser de hasta 2 mL/min (Hou et al., 2017).

2.10.4.1. Arreglo del espectrómetro de masas

El modo de operación para *MS* varía de acuerdo con las características de la muestra para un análisis efectivo de muestras conocidas tales como:

- Metabolitos de medicamentos y estudios farmacocinético
- Muestras ambientales y degradación de plaguicidas
- Análisis forense y toxicológico o antidopaje.

Los iones generados pueden disociarse, reorganizarse, reaccionar o isomerizarse, y al ser detectados la cuantificación de las señales se representa bidimensionalmente en el eje x con m/z y su intensidad en el eje y. Entonces la altura de un pico relaciona la cantidad encontrada de un ion a partir de la especie de analito en la fase de iones generados.

Es común que el pico máximo, llamado pico base, sea la especie molecular sin fragmentar y esté acompañado de varios picos de menor proporción que corresponden a los iones que se han fragmentado de la molécula original, que se

² La masa y el peso no son sinónimos. La masa es una propiedad de los cuerpos (kg) y el peso es una fuerza ejercida sobre un cuerpo (N)
[Nota de la supervisora técnica]

denominan picos de iones de fragmento (Gross, 2005). De forma análoga, el pico base se normaliza al 100% de intensidad.

2.10.4.2. Calibración

Para conocer la concentración de la especie de interés que se analiza mediante *HPLC* la comparación de los resultados entre el compuesto analizado en la muestra y el compuesto en una calibración estándar genera una curva de calibración basada en las áreas correspondientes a los picos elucidados en los cromatogramas de distintas especies en distintas concentraciones (se recomiendan al menos 5 concentraciones). Es decir, las alturas o áreas de los picos generadas en las muestras son comparadas con disoluciones estándar y graficadas proporcionan una ecuación lineal, cuadrática o polinómica de acuerdo con el ajuste matemático adecuado que será el intervalo de trabajo que permita calcular la concentración para distintos valores (Gross, 2005).

2.10.4.3. Límite de detección

Un factor importante que determina hasta qué punto límite una especie determinada de plaguicida puede ser identificada por el equipo cromatográfico es el Límite de Detección (*LOD*; por sus siglas en inglés) que es el nivel de concentración más bajo a que un plaguicida puede ser detectado (mas no cuantificado). Adicionalmente, se considera que este parámetro es aplicable cuando la altura del pico del analito es detectada en al menos tres veces el valor del nivel base de la señal de perturbación (*S/N*, por sus siglas en inglés) (Tuzimski y Sherma, 2015).

2.10.4.4. Límite de cuantificación

Análogamente y en concordancia con lo anterior el Limite de Cuantificación (*LOQ*, por sus siglas en inglés) es el nivel más bajo de concentración a la cual los datos

de muestreo pueden considerarse aceptables y/o confiables para hacer un razonamiento analítico y que proporcione repetitividad en mínimo 10 veces del nivel base de señal de perturbación (S/N) (Tuzimski y Sherma, 2015).

2.11. Cinética de reacción

Se plantea que la degradación de la atrazina sigue una cinética de primer orden (Hou et al., 2017). Para una reacción irreversible en estudios de concentración-tiempo, la Ecuación 2.10 representa la velocidad de reacción con concentración C_A y constante de velocidad k_1 :

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A \quad \text{Ec. 2.10}$$

y el tiempo de vida media $t_{1/2}$ (Ec. 2.11) corresponde a:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_1} \ln 2 \quad \text{Ec. 2.11.}$$

Después de este marco teórico, a continuación se presenta la metodología seguida en esta investigación.

CAPÍTULO III. Metodología

3.1. Limpieza de material

El material de vidrio empleado en este trabajo se sometió a una limpieza exhaustiva para asegurar la confiabilidad de los resultados, que consistió en:

- Lavar con detergente Neutrox biodegradable libre de fosfatos y posterior enjuague con agua destilada
- Remojar del material en un recipiente sellado durante 24 horas en una solución de ácido nítrico HNO_3 al 15%
- Pasadas las 24 horas se procedió a enjuagar el material con agua desionizada para eliminar los restos de la solución ácida. El agua desionizada fue obtenida en un sistema de purificación de agua Millipore Q3
- Finalmente, el material se colocó dentro de un horno marca Felisa Modelo F 293D durante 1 hora a 120°C con las boquillas de los recipientes cubiertas con papel aluminio para evitar posibles contaminaciones de polvo.

3.2. Calibración de micropipetas

Con la finalidad de realizar la toma de alícuotas y preparación de las soluciones se realizó la limpieza de las micropipetas desmontando los émbolos y el mecanismo de inyección. Posteriormente fue necesaria su calibración con agua destilada. El intervalo de inyección en volumen de las Micropipetas Transferpette utilizadas fueron las siguientes:

- 2-20 μL
- 100-1000 μL
- 0.5- 5.0 mL
- 0-10.0 mL

Las puntas de las micropipetas marca Brand fueron esterilizadas por aplicación de calor húmedo en una autoclave AESA Modelo CV 250 a 1.4 kg_f/cm² de presión y 120°C de temperatura durante 20 minutos.

3.3. Ficha técnica de reactivos

Los estándares de las especies de interés de la presente investigación contaron con las siguientes especificaciones:

- Atrazina de ChemService con 98.6% de pureza, expiración en 2024
- Hidroxiatrazina de ChemService con 97.9% de pureza, expiración en 2020
- Desetilatrazina de ChemService con 98.9% de pureza, expiración en 2021
- Deisopropilatrazina de ChemService con 99.2% de pureza, expiración en 2022.

Para un mayor detalle sobre sus propiedades fisicoquímicas se debe consultar el **Anexo 1**. Estructura y propiedades de las especies en estudio.

Así mismo, se utilizaron los siguientes reactivos:

- Ácido bórico (H_3BO_3) anhidro de Golden Bell Reactivos con 100% de pureza
- Biftalato de potasio ($C_8H_5KO_4$) cristal de JT Baker con 100% de pureza
- Cloruro de potasio (KCl) cristal de JT Baker con 100% de pureza
- Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) cristal de JT Baker con 99.3% de pureza
- Hidróxido de sodio escamas (NaOH) con 98.50% de pureza
- Metanol (CH_3OH) grado HPLC JT Baker con 99.9% de pureza. Fungió como solvente de la fase móvil en la CLAR
- Acetona [$(CH_3)_2OH$] de JT Baker con 99.5% de pureza.

3.4. Preparación de soluciones madre y soluciones buffer

- **Soluciones madre.** Todas las soluciones se prepararon en metanol, el cual para asegurar un óptimo desempeño de la cromatografía de líquidos se filtró en un equipo Perkin Elmer Sartorius con acción de vacío para lo cual se usaron membranas SUN SRI de disco de 'nylon' con 47 mm de diámetro y 0.20 μm de espesor, dichas membranas se activaron colocándolas sobre una caja Petri durante 10 minutos con agua destilada y 10 minutos con el solvente (metanol). Después del filtrado, el solvente se sometió a una desgasificación en un baño ultrasónico Cole Parmer durante 25 minutos y sin calentamiento. Antes de pesar los reactivos (estándar), la superficie de una balanza analítica Mettler Toledo se sometió a una limpieza con acetona. La tolerancia de la balanza es de 0.1 μg hasta 20 g. Se pesaron 2.5 mg de cada estándar utilizando cápsulas de estaño de Costech Analytical Technologies para muestras sólidas.
- Para las soluciones madre de ATZ, HAT, DEAT y DIAT el propósito fue obtener 50 mL con una concentración de 50 ppm. Se utilizó una micropipeta Transferpette para este fin. La preparación se hizo en una zona esterilizada previamente por 12 horas continuas mediante luz UV-Vis en una campana de flujo laminar modelo CFL102 sin recirculación, la cual se desinfectó preliminarmente con solución de hipoclorito de sodio. Es importante mencionar que se tuvo un tiempo de espera de 2 horas antes de comenzar el trabajo para disipar la radiación del espectro UV-Vis en el área destinada. Una vez preparadas las soluciones en MeOH se almacenaron en viales color ámbar en un cuarto frío a 4°C, para evitar su degradación por acción de la luz y calor, respectivamente.
- Soluciones amortiguadoras (*buffer*). Se siguieron las recomendaciones emitidas por la OCDE en su guía para la hidrólisis abiótica como función del pH (OECD, 2004). En la Tabla 3.1 se presentan las tres soluciones. Análogamente a las disoluciones madre, las soluciones amortiguadoras se prepararon en la campana de flujo laminar, pesando la cantidad calculada y

aforando a 100 mL. Se verificó la estabilización del pH con un potenciómetro Thermo Electron Corporation Advanced. Cabe mencionar que el pH de trabajo considerado como blanco (agua destilada) se tomó directamente del sistema de purificación de agua Millipore Q3, con un valor de 6.8.

Tabla 3.1. Preparación de soluciones amortiguadoras (*buffer*, en inglés)

a)	100 mL de <i>buffer</i> pH 4.0 a 20 °C 50 mL de biftalato de potasio 0.1 M + 0.40 mL de NaOH 0.1 N aforar a 100 mL
b)	100 mL de <i>buffer</i> pH 6.8 a 20 °C 50 mL de monofosfato de potasio 0.1 M + 29.63 mL de NaOH 0.1 N aforar a 100 mL
c)	100 mL de <i>buffer</i> pH 9.0 a 20 °C 50 mL de ácido bórico 0.1 M (en KCl 0.1M) + 21.30 mL de NaOH 0.1 N aforar a 100 mL

3.5. Curvas de calibración

Con el objetivo de comparar la respuesta de las muestras de las especies con sus respectivos estándares de ATZ, HAT, DEAT y DIAT se realizaron cinco concentraciones desde 0.2 a 1 ppm para tener un intervalo de trabajo estadísticamente confiable. Estas concentraciones se graficaron contra la respuesta (unidades de área) de la CL-EM para cada compuesto a los tres valores de pH seleccionados.

La preparación de las disoluciones en viales de 2 mL consistió en tomar una alícuota de la solución madre más concentrada, es decir, de 50 ppm, colocando este volumen en un vial y aforando con agua destilada para obtener 1 ppm. Consecuentemente se realizaron las disoluciones restantes, dando un seguimiento del pH con el potenciómetro Thermo Electron proporcionado por las soluciones amortiguadoras adicionadas mediante una bureta. Finalmente, para asegurar la correcta homogeneización se empleó un agitador Vortex Science.

Inmediatamente después de preparar las diluciones, se planteó hacer inyecciones de 1 µL por triplicado de cada una de las cinco concentraciones combinando los tres valores de pH 4, 6.8 y 9.

3.6. Equipos

Las características principales de los equipos utilizados en la presente investigación se presentan en el **Anexo 2**. Aunado a lo anterior, los parámetros de operación de los métodos usados, tanto del CLAR como del EM, se especifican a continuación.

3.6.1. Módulo de separación Waters Alliance e2695

El módulo de Separación Waters integra los componentes de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (*HPLC*; por sus siglas en inglés) tanto el sistema de manejo de solventes como el sistema de manejo de muestras. Estos sistemas controlan la mezcla isocrática y gradiente de los solventes, el flujo de la fase móvil, limpieza de la jeringa, inyección de muestra, desgasificación al vacío en modo “in line”, es decir, durante la operación del sistema, operación de la interfaz con el detector acoplado y, si es el caso, calentamiento o enfriamiento de la columna instalada. Es recomendable desgasificar los solventes antes de usar la cromatografía en fase reversa o fase normal con filtración al vacío seguida de una zonificación para eliminar las burbujas presentes de los gases disueltos dependiendo de la afinidad gas líquido, temperatura y presión. Almacenarlos en recipientes adecuados de 1 L.

Se utilizó una columna analítica Phenomenex C18 de 3.9 mm x 100 mm x 3.5 μ m. La fase móvil fue metanol con 0.1% de ácido fórmico en modo isocrático de elución, con un flujo de 0.30 mL/min y un volumen de inyección de 1 μ L. La columna se equilibró aplicando el flujo durante 15 minutos.

La columna se mantuvo en 25°C con una presión de 17,240 kPa (2500 psi).

3.6.2. Espectrómetro de masas (Waters Quattro Micro Api)

El espectrómetro de Masas Quattro Micro API está dotado de un doble cuadrupolo de alto desempeño que puede acoplarse a la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para cuantificar y analizar información molecular de las corridas cromatográficas. La muestra es ionizada a presión atmosférica y pasa a través del primer cuadrupolo MS1 donde es “filtrada” de acuerdo con su relación masa carga (m/z). Al separarse las masas pasan a una celda de colisión con hexapolos y se someten a una fragmentación inducida por colisión (CID). Posteriormente son enviadas al segundo cuadrupolo MS2 en donde son nuevamente filtrados y analizados los iones generados. Finalmente, los iones son detectados selectivamente y cuantificados mediante una señal amplificada y digitalizada (Figura 3.1).

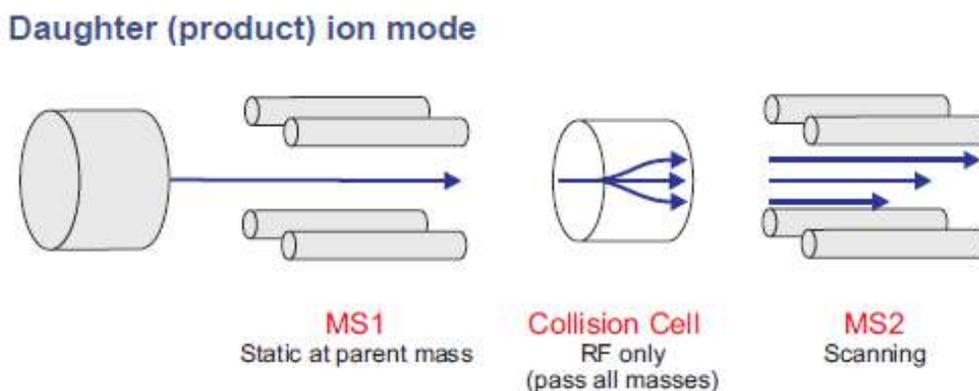


Figura 3.1. Escaneo en modo “Daughters” (Gross, 2005)

Durante el análisis, para evitar ignición de los vapores del solvente de la fase móvil se recomienda un flujo continuo de nitrógeno (N_2), además de considerar que la presión del suministro del Nitrógeno (N_2) no esté por debajo de 690 kPa o 6.9 bar (100 psi).

Para ello se utilizaron los parámetros presentados en las Tablas 3.2 y 3.3.

Tabla 3.2. Parámetros en la sonda ESI

Parámetro	Intervalo	Especificación
Capilar (kV)	0.0-5.0	3.50
Cono (V)	0.0-350.0	40.0
Extractor (V)	0.0-400.0	2.0
RF Lente (V)	0.0-5.0	0.20
Temperatura (°C)	-	100
Temperatura de desolvatación (°C)	-	350
Gas de desolvatación (L/h)	-	480
Gas de cono (L/h)	-	480

Tabla 3.3. Parámetros en el analizador

Parámetro	Intervalo	Especificación
LM Resolution 1	0.0-25.0	15
HM Resolution 1	0.0-25.0	10.7
Energía del ion 1	-24.4-24.4	0.3
Entrada	-20.0-200.0	50
Colisión V	0.0-200.0	20
Salida	0.0-200.0	50
LM Resolution 2	0.0-25.0	13.3
HM Resolution 2	0.0-25.0	10.0
Energía del ion 2	-24.7-24.7	5.0
Multiplicador	0.0-1000.0	750
Pump Flow syringe, mL/min	-	0.30
Vacuum Gas Cell Pirani, mbar	-	<5x10 ⁻⁴

El seguimiento en el intervalo de masas se realizó por (*Scan Daughters*) donde MS1 (Espectroscopía de Masas de partida o parental; *Parent*) es estático y MS2 (Espectroscopía de Masas de salida; *Daughter*) digitaliza ('escanea') los iones fragmentados permitiendo un mayor tiempo de residencia y otorgando sensibilidad al análisis. Finalmente, se añadieron 4 funciones (Tabla 3.4), una para cada especie en estudio (Wu et al., 2018).

Tabla 3.4. Funciones digitalizadas ('escaneadas')

Especie	Masa molecular g/mol	Daughter m/z	Parent m/z	Tiempo de retención min	m/z
ATZ	215.685	216	146	5.32	174, 71, 138, 146, 132, 79 (NIST, 2018)
HAT	197.242	198	86	3.40	86, 97, 114, 128, 156, 198 (NIST, 2018)
DEAT	187.631	188	146	5.07	104, 110, 146, 152, 188 (Kind et al., 2018)
DIAT	173.604	174	96	5.02	96, 104, 110, 132, 138, 146, 174 (Kind et al., 2018)

3.7. Validación de la metodología

3.7.1. Linealidad (Tuzimski y Sherma, 2015)

Para asegurar la reproducibilidad del análisis se inyectaron muestras por triplicado de cada especie (ATZ, DEAT, DIAT, HAT), para construir sus curvas de calibración mediante las gráficas de respuesta (unidades de área) contra concentración, de las cuales se obtuvieron sus respectivos coeficientes de correlación. Además, para evaluar la precisión de las áreas como respuesta de las inyecciones por triplicado se obtuvo su media (\bar{x}), desviación estándar (σ), así como se propusieron límites de control superior (LCS) e inferior (LCI) (Heizer y Render, 2009).

3.8. Diseño experimental

De acuerdo con la literatura consultada se planteó la necesidad de una experimentación multifactorial (Tabla 3.5) que reprodujera ampliamente la degradación en aguas superficiales, considerando el pH, temperatura y luz para cada componente (ATZ, DEAT, DIAT, HAT), teniendo como respuesta la hidrólisis de la ATZ.

Tabla 3.5. Variables involucradas en la degradación de ATZ

Factores		Dominio experimental		
		-	0	+
x1	A: pH	4	6.8	9
x2	B: Temperatura °C	4	-	22.5
x3	C: condición	oscuridad		Luz ambiente
Respuesta	Hidrólisis de la ATZ			

De acuerdo con lo anterior, se tuvieron 12 combinaciones, que se muestran en la Tabla 3.6. Se inyectaron por triplicado, es decir, se tuvieron 36 inyecciones a analizar diarias durante 23 días.

Tabla 3.6. Diseño multifactorial de la experimentación a 23 días por cada especie (ATZ, DEAT, DIAT, HAT)

Evento	Factores			Descripción
	x1	x2	x3	
1	-	-	-	pH 4, 4°C, oscuridad
2	-	-	+	pH 4, 4°C, luz ambiente
3	-	+	-	pH 4, 22 °C, oscuridad
4	-	+	+	pH 4, 22 °C, luz ambiente
5	0	-	-	pH 6.8, 4°C, oscuridad
6	0	-	+	pH 6.8, 4°C, luz ambiente
7	0	+	-	pH 6.8, 22 °C, oscuridad
8	0	+	+	pH 6.8, 22 °C, luz ambiente
9	+	-	-	pH 9, 4°C, oscuridad
10	+	-	+	pH 9, 4°C, luz ambiente
11	+	+	-	pH 9, 22 °C, oscuridad
12	+	+	+	pH 9, 22 °C, luz ambiente

Se consideró un volumen para cada vial de 2 mL con el objetivo de asegurar la cantidad necesaria inyectada durante los 23 días de análisis. Cabe mencionar que la concentración de estudio que se escogió fue de 1 ppm a partir de la cual se dio un seguimiento a la degradación. Este valor se encuentra en el intervalo seleccionado previamente para elaborar las curvas de calibración.

3.9. Análisis estadísticos

Se empleó la paquetería estándar Microsoft Office Excel 2013 y Minitab 19 para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos.

En el siguiente capítulo se presentan y discuten los resultados de esta investigación experimental.

CAPÍTULO IV. Resultados y discusión

4.1. Curvas de calibración

Inmediatamente después de preparar las diluciones según el punto 3.4, se realizaron las inyecciones de 1 µL por triplicado de cada una de las diez concentraciones combinando los tres valores de pH: 4, 6.8 y 9 y obteniendo un total de 12 curvas de calibración, mismas que se encuentran en el **Anexo 3**.

En la Tabla 4.1 se hace un compendio de los datos obtenidos.

Tabla 4.1. Precisión de la calibración

ATZ, a pH de 4									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	151123	13621	7864	174716	127530	9.0	y=124813x+16468	0.9908
0.8	3	124208	8088	4670	138217	110199	6.5		
0.6	3	80026	5963	3443	90354	69698	7.5		
0.4	3	58338	5632	3252	68094	48583	9.7		
0.2	3	40702	4245	2451	48054	33350	10.4		
DEAT, a pH de 4									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	54572	3836	2215	78165	30980	7.0	y=44110x+14293	0.9913
0.8	3	48335	1794	1036	71928	24743	3.7		
0.6	3	42838	870	502	66431	19246	2.0		
0.4	3	34066	1512	873	57658	10473	4.4		
0.2	3	24935	2527	1459	48528	1342	10.1		
DIAT, a pH de 4									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	218941	4023	2322	242534	195349	1.8	y=222341x+1434.7	0.9908
0.8	3	181361	3360	1940	204954	157768	1.9		
0.6	3	152276	9150	5283	175869	128684	6.0		
0.4	3	94705	2424	1399	118298	71113	2.6		
0.2	3	37022	3134	1809	60615	13430	8.5		
HAT, a pH de 4									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	98210	2293	1324	121803	74618	2.3	y=95196x+5389.4	0.9996
0.8	3	81846	1007	581	105439	58253	1.2		
0.6	3	62603	1394	805	86195	39010	2.2		
0.4	3	43496	1871	1080	67089	19904	4.3		
0.2	3	25879	1662	960	49472	2286	6.4		

mg: Miligramos; **L:** Litros; **n:** Número de inyecciones; **x:** Media; **σ :** Desviación estándar; **σ_{media} :** Desviación estándar media; **m:** Pendiente; **b:** Ordenada al origen; **r²:** Coeficiente de correlación

Tabla 4.1. Precisión de la calibración (continuación...)

ATZ, a pH de 6.8									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	193952	13289	7672	217545	170360	6.9	y=168903x+26450	0.9961
0.8	3	164490	11628	6713	184630	144350	7.1		
0.6	3	128777	11007	6355	147841	109713	8.5		
0.4	3	88884	8275	4777	103216	74552	9.3		
0.2	3	62853	2715	1567	67555	58151	4.3		
DEAT, a pH de 6.8									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	55099	1714	989	78691	31506	3.1	y=32654x+22091	0.9911
0.8	3	47141	1193	689	49207	45075	2.5		
0.6	3	41917	235	135	42324	41511	0.6		
0.4	3	36486	765	442	37811	35161	2.1		
0.2	3	27772	1166	673	29792	25752	4.2		
DIAT, a pH de 6.8									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	213239	5348	3087	236832	189646	2.5	y=222669x+1358.8	0.9812
0.8	3	185202	6966	4022	197269	173136	3.8		
0.6	3	146376	1528	882	149024	143729	1.0		
0.4	3	93626	2323	1341	97649	89603	2.5		
0.2	3	36358	3343	1930	42148	30568	9.2		
HAT, a pH de 6.8									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	96116	114	66	119709	72523	0.1	y=89100x+8470.1	0.998
0.8	3	81776	1420	820	84235	79317	1.7		
0.6	3	61831	2031	1173	65349	58313	3.3		
0.4	3	44045	3131	1808	49468	38622	7.1		
0.2	3	25882	1205	696	27969	23795	4.7		
ATZ, a pH de 9									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	193928	33239	19191	217521	170336	17.1	y=165581x+28682	0.9992
0.8	3	163017	786	454	164378	161656	0.5		
0.6	3	125773	17883	10325	156746	94799	14.2		
0.4	3	95162	4324	2496	102651	87674	4.5		
0.2	3	62275	8276	4778	76609	47940	13.3		
DEAT, a pH de 9									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	55386	1072	619	78979	31793	1.9	y=32514x+22243	0.9567
0.8	3	46077	26	15	46121	46032	0.1		
0.6	3	42199	881	509	43725	40673	2.1		
0.4	3	38365	1409	814	40806	35924	3.7		
0.2	3	26728	2946	1701	31831	21625	11.0		
DIAT, a pH de 9									
mg/L	N	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	211493	7004	4044	235086	187901	3.3	y=217191x+3925.1	0.9827
0.8	3	181910	8762	5059	197086	166734	4.8		
0.6	3	145406	7166	4138	157819	132993	4.9		
0.4	3	94265	2900	1674	99288	89242	3.1		
0.2	3	38125	1059	612	39960	36290	2.8		
HAT, a pH de 9									
mg/L	n	x	σ	σ_{media}	LCS	LCI	CV	y=mx+b	r ²
1	3	96688	1451	838	120280	73095	1.5	y=89822x+8673.1	0.997
0.8	3	81672	1453	839	84190	79155	1.8		
0.6	3	64405	3831	2212	71042	57768	5.9		
0.4	3	44727	3708	2141	51151	38304	8.3		
0.2	3	25338	570	329	26326	24351	2.3		

mg: Miligramos; L: Litros; n: Número de inyecciones; x: Media; σ : Desviación estándar; σ_{media} : Desviación estándar media; m: Pendiente; b: Ordenada al origen; r²: Coeficiente de correlación

4.2. Linealidad

En la Tabla 4.1 se presentaron las medias (\bar{x}), desviaciones estándar (σ) y se propusieron límites de control superior (LCS) e inferior (LCI), presentando también ecuaciones de líneas rectas y sus coeficientes de correlación r^2 .

4.3. Espectrogramas y cromatogramas de los analitos de interés

La confirmación de cada especie se hizo mediante el espectrómetro de masas Waters Quattro Micro Api, generando un espectro único para cada compuesto (ATZ, DEAT, DIAT, HAT), el cual se presenta a continuación junto con sus respectivos cromatogramas generados por el cromatógrafo de líquidos Waters Alliance e2695, en las Figuras 4.1 a 4.4. Las condiciones de los equipos analíticos ya se mencionaron en las Tablas 3.2 a 3.4 del capítulo anterior.

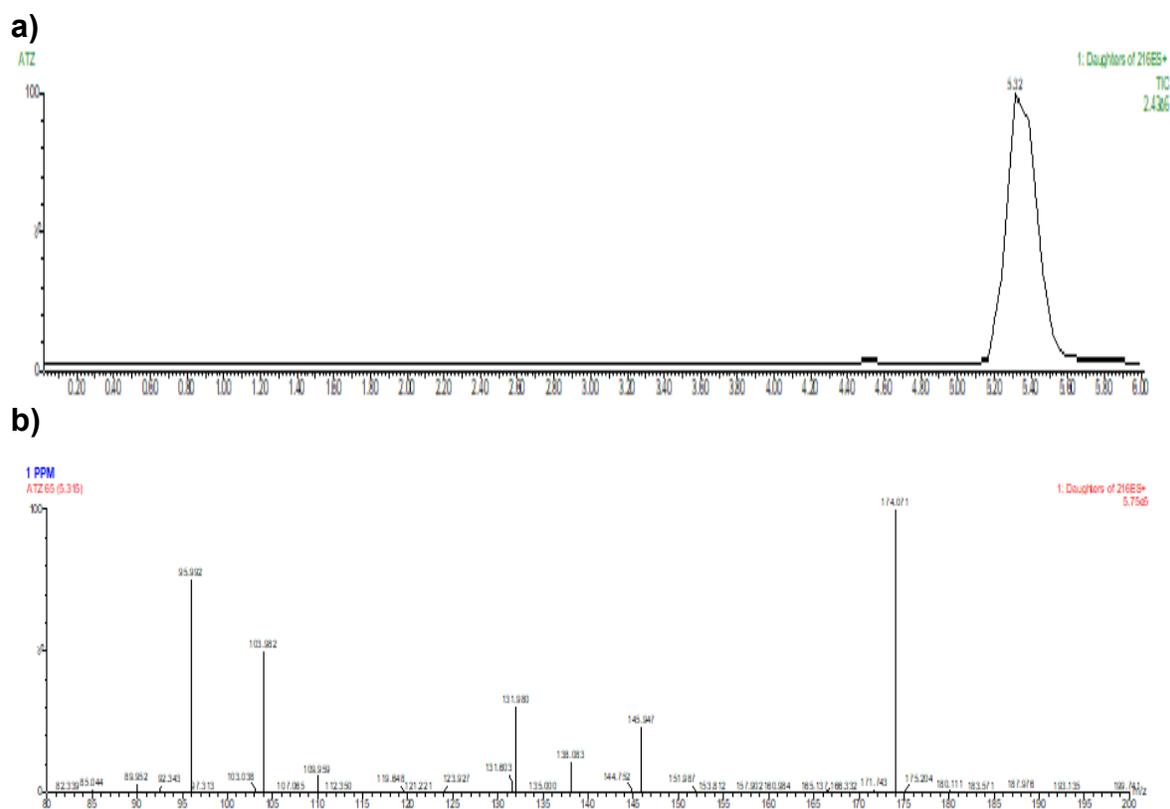


Figura 4.1. ATZ a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (174, 71, 138, 146, 132, 79)

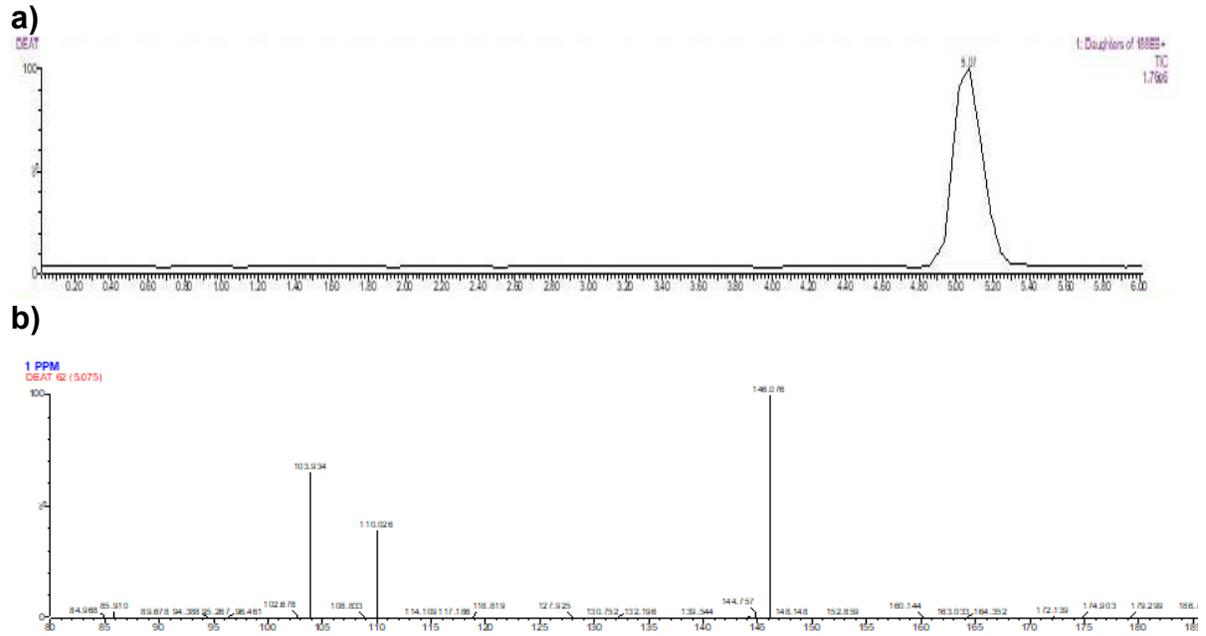


Figura 4.2. DEAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (104, 110, 146, 152, 188)

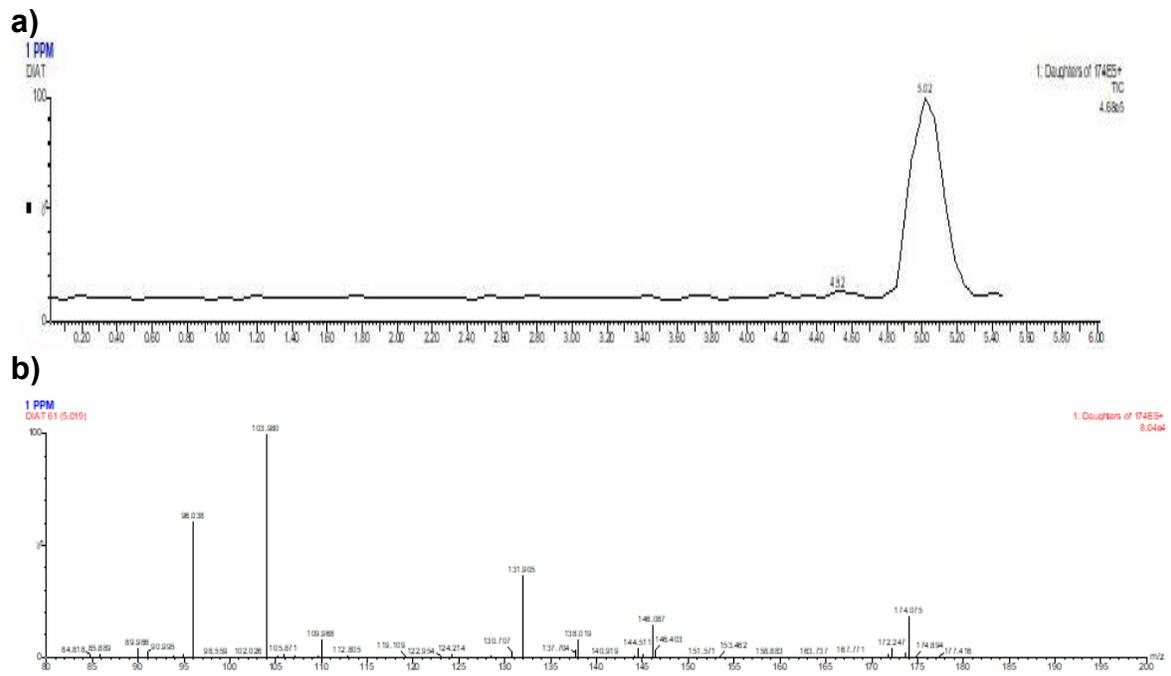


Figura 4.3. DIAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (96, 104, 110, 132, 138, 146, 174)

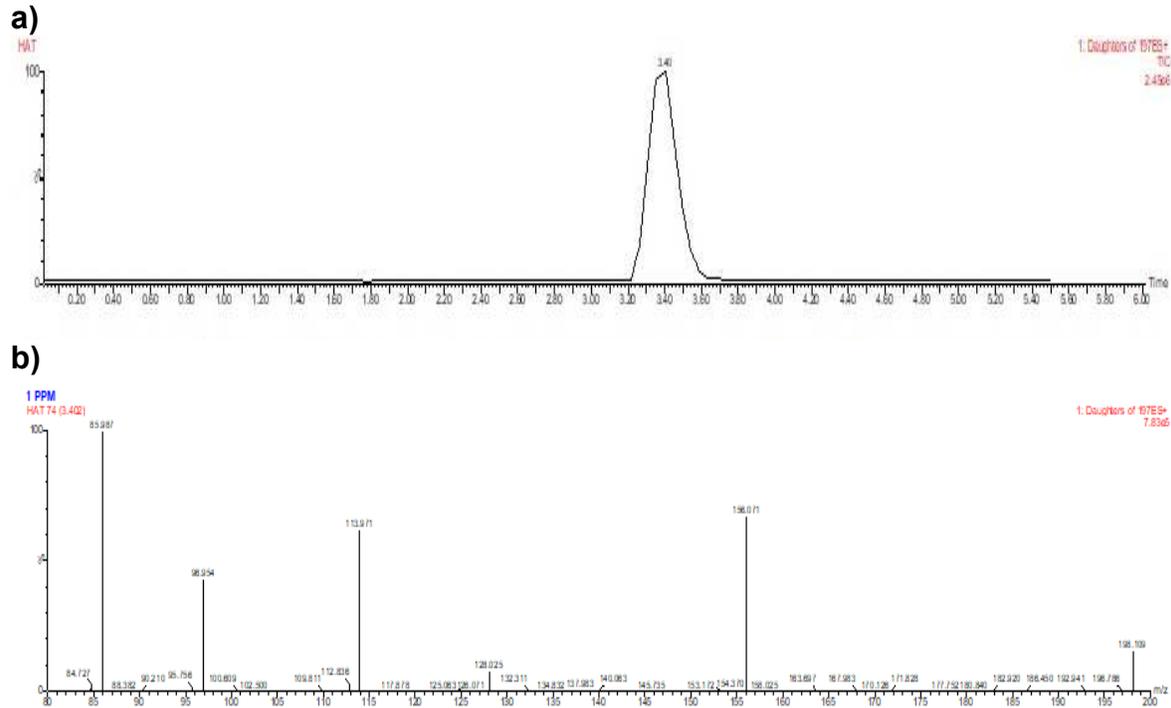


Figura 4.4. HAT a) Cromatograma; b) Espectro m/z: (86, 97, 114 128, 156, 198)

4.4. Diseño de experimentos

4.4.1. Efecto del pH

El efecto del pH y su influencia en la degradación de ATZ, se presenta en la Tabla 4.2 para cada uno de los tres valores de pH (4, 6.8 y 9), bajo la influencia de la luz y la oscuridad.

El primer par de combinaciones, 1 y 2, con valores de pH = 4 y T = 4°C, que se mantuvieron constantes se observó que no hubo diferencia significativa en el valor de la $K_1 = 0.0893$ y $K_2 = 0.0856 \text{ d}^{-1}$ (Figuras 4.5 y 4.6, respectivamente). El valor de la vida media y la tasa de degradación de la ATZ al término de los 23 días fueron muy similares (Tabla 4.2).

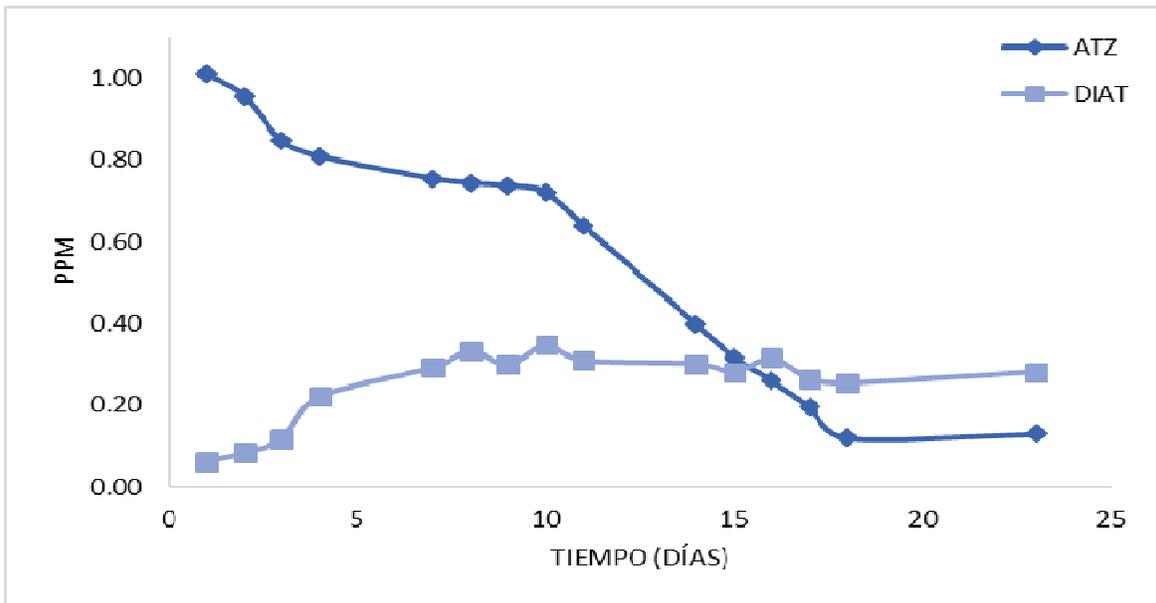


Figura 4.5. Degradación de ATZ a pH de 4, 4°C, oscuridad

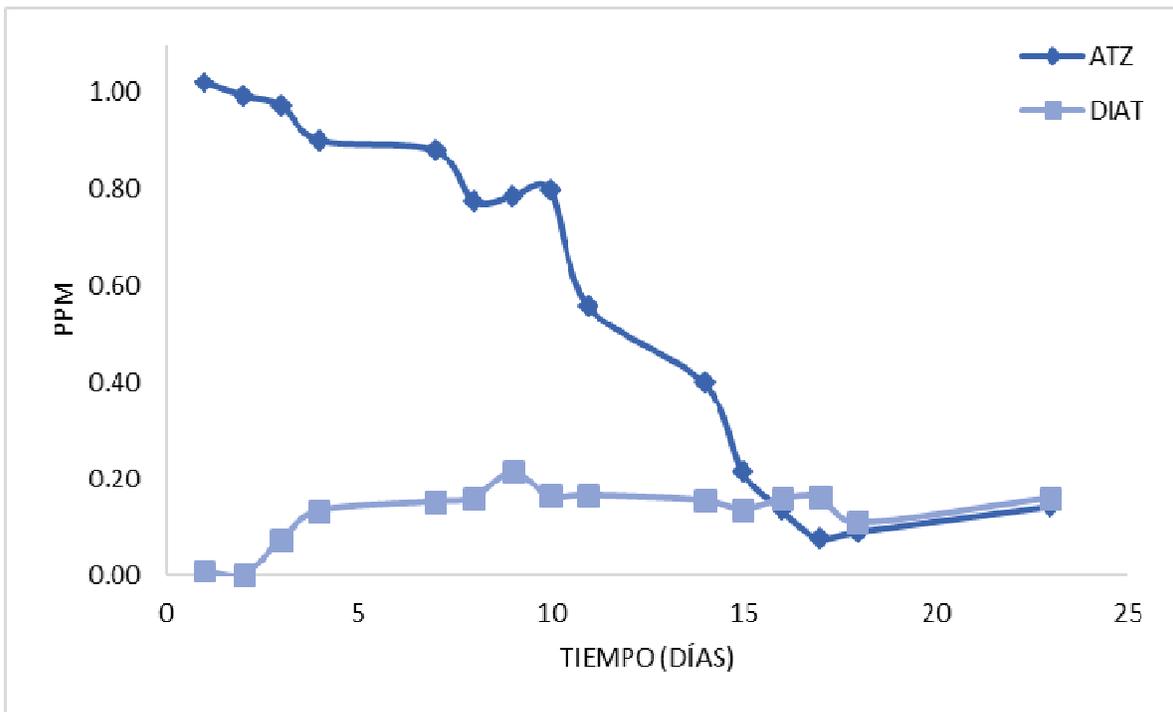


Figura 4.6. Degradación de ATZ a pH de 4, 4°C, luz ambiente

Tabla 4.2. Resultados del diseño multifactorial (K y $t_{1/2}$)

Combinación	Descripción	Constante de degradación K (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	% degradación ATZ
1	pH de 4, 4°C, oscuridad	0.0893	7.8	87.2
2	pH de 4, 4°C, luz ambiente	0.0856	8.1	86.0
3	pH de 4, 22°C, oscuridad	0.0636	10.9	76.9
4	pH de 4, 22°C, luz ambiente	0.1457	4.8	96.5
5	pH de 6.8, 4°C, oscuridad	0.0510	13.6	69.1
6	pH de 6.8, 4°C, luz ambiente	0.0611	11.3	75.5
7	pH de 6.8, 22°C, oscuridad	0.0232	29.9	41.3
8	pH de 6.8, 22°C, luz ambiente	0.0334	20.7	53.6
9	pH 9, 4°C, oscuridad	0.0416	16.6	61.6
10	pH 9, 4°C, luz ambiente	0.0524	13.2	70.1
11	pH 9, 22°C, oscuridad	0.0524	13.2	70.0
12	pH 9, 22°C, luz ambiente	0.0665	10.4	78.4

Un efecto notorio y relevante fue el encontrado con las combinaciones 3 y 4, en las cuales se mantuvieron constantes el valor de pH = 4 y la T = 22°C y solamente se estableció la variación de las condiciones de oscuridad y luz. Se obtuvo un valor de $K_3 = 0.0636 \text{ d}^{-1}$ (Figura 4.7), mientras que para $K_4 = 0.1457 \text{ d}^{-1}$ (Figura 4.8, el valor más alto del estudio). La combinación de pH = 4, T = 22°C y luz ambiente, tuvo gran relevancia ya que se obtuvo un 96.5% de degradación de la ATZ, lo que concuerda con la literatura donde se señala (Tomlin, 2009) que al incrementarse el valor de la temperatura se lleva a cabo la degradación no microbiológica en aguas superficiales de la ATZ.

En la combinación 5 y 6, en la cual el pH se mantuvo constante con un valor de 6.8, al igual que la temperatura con un valor de 4°C, se observó que la degradación fue inhibida en ambas condiciones de luz y oscuridad (Figuras 4.9 y 4.10). En tanto que las combinaciones 7 y 8 al mantener fijo el pH = 6.8 y aumentar la temperatura a 22°C se pudo observa una ligera disminución en el % de degradación atribuible a la temperatura. Estos bajos valores tanto de la K_7 y K_8 , de la degradación coinciden con lo investigado en la literatura en donde a pH de 7 se inhibe la degradación (LeBaron et al., 2008).

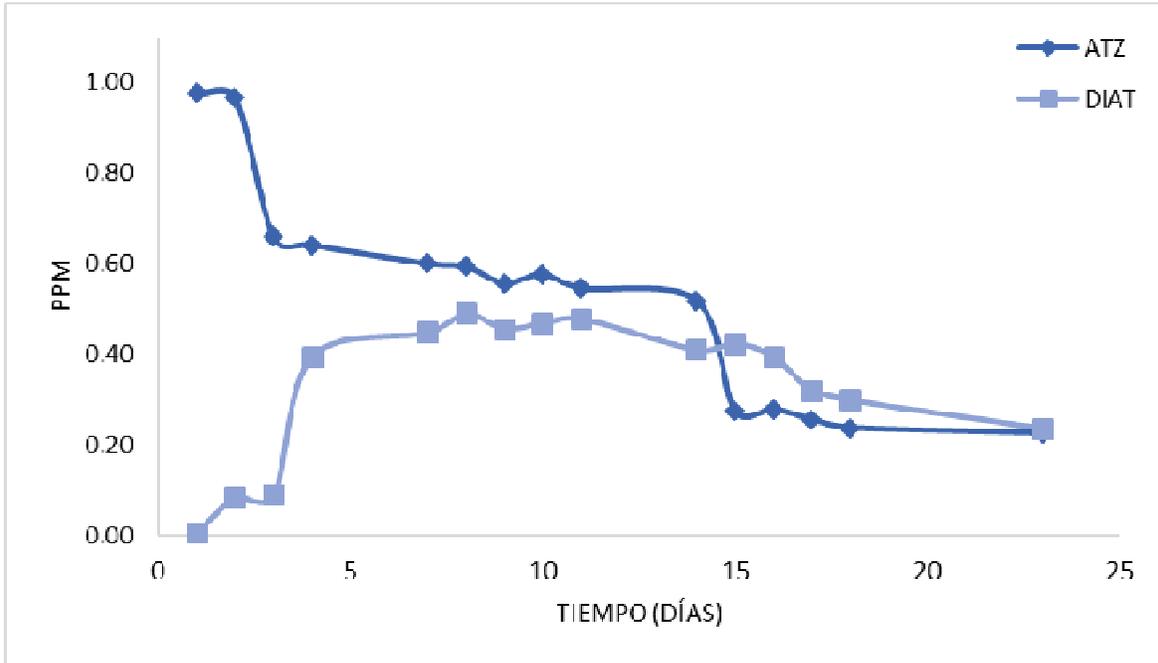


Figura 4.7. Degradación de ATZ a pH de 4, 22°C, oscuridad

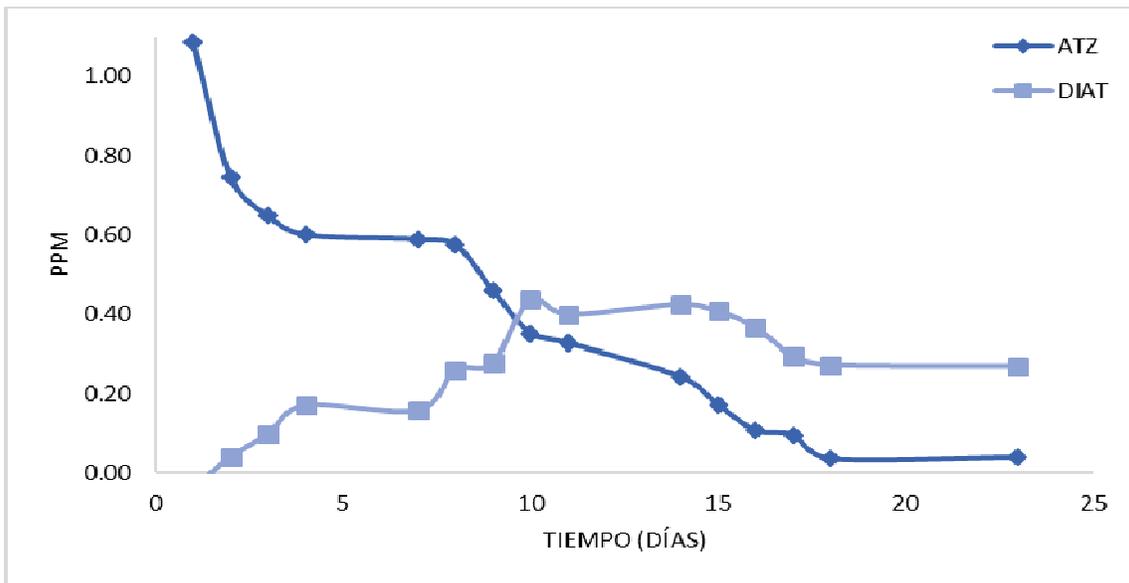


Figura 4.8. Degradación de ATZ a pH de 4, 22°C, luz ambiente

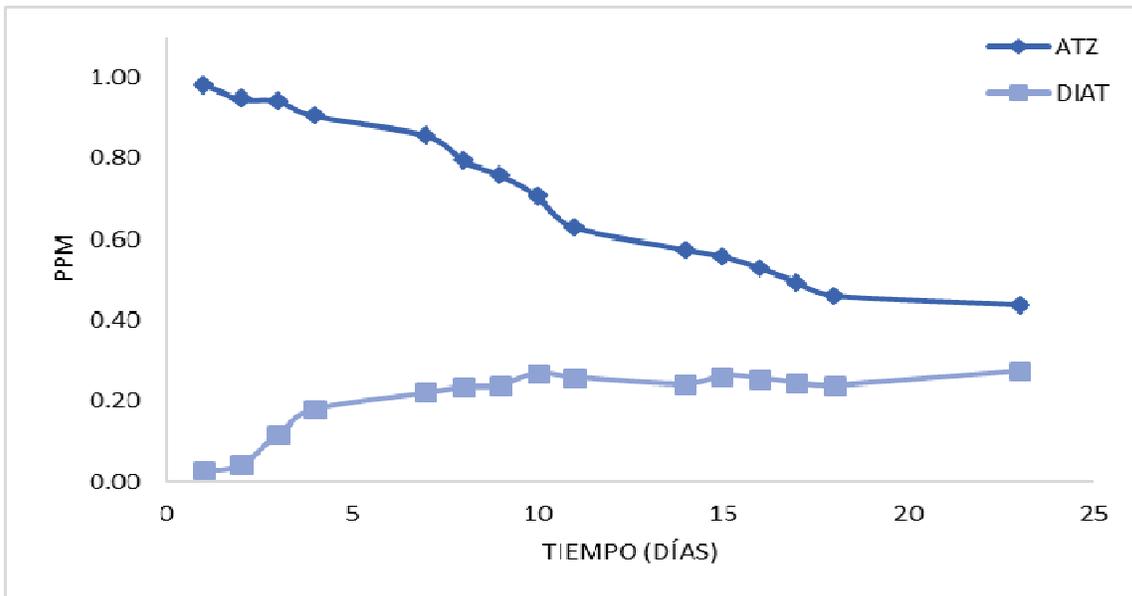


Figura 4.9. Degradación de ATZ a pH de 6.8, 4°C, oscuridad

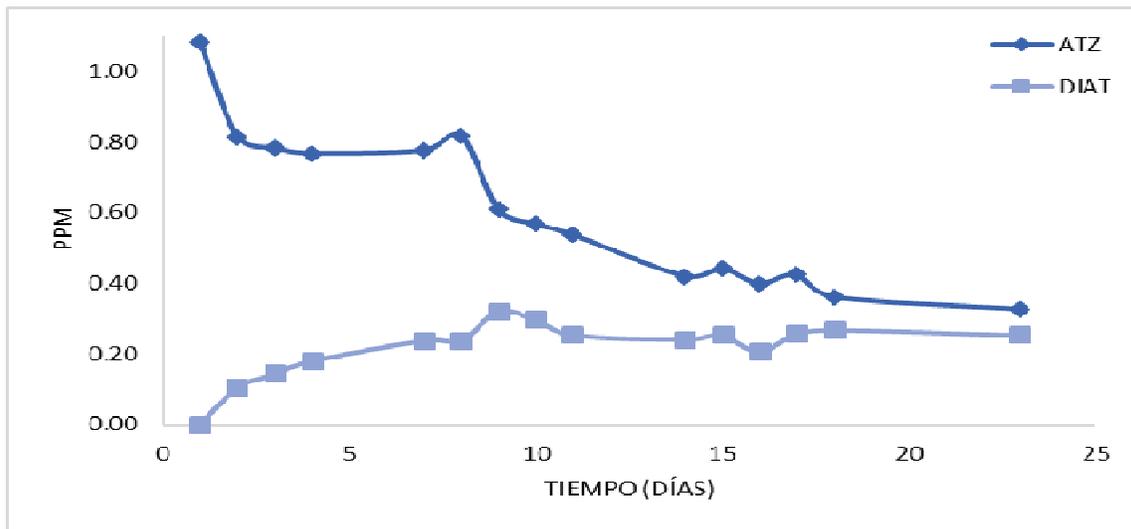


Figura 4.10. Degradación de ATZ a pH de 6.8, 4°C, luz ambiente

En las combinaciones 9 y 10 a condiciones constantes de pH = 9 y T = 4°C variando la luz y oscuridad existe una degradación mayor de la ATZ en presencia de luz, donde $K_{10} = 0.0524 > K_9 = 0.0416 \text{ d}^{-1}$ (Figuras 4.11 y 4.12, respectivamente), lo que podría sugerir la ruta de degradación por fotólisis.

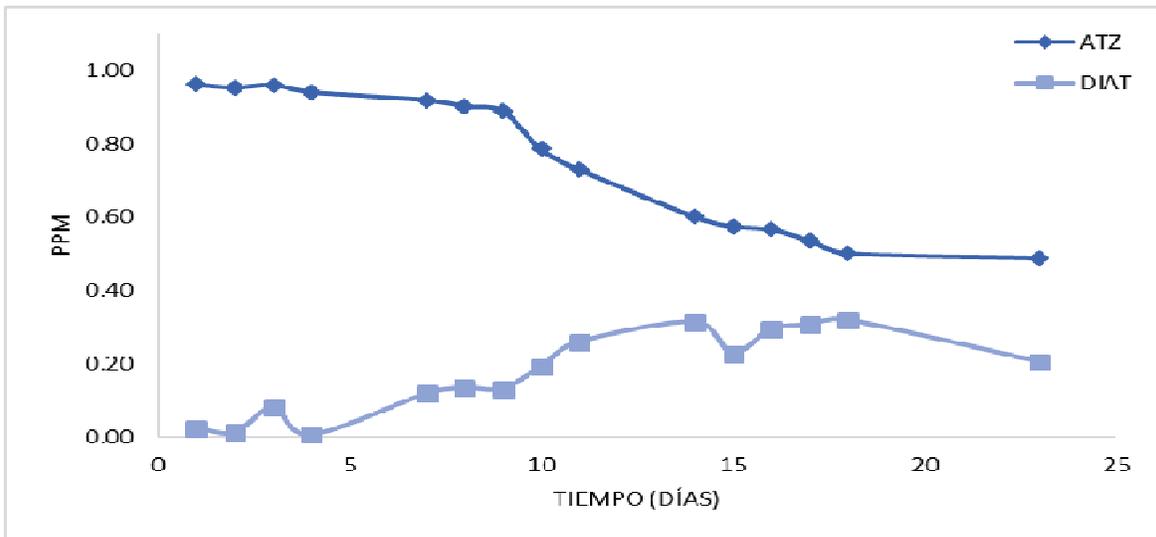


Figura 4.11. Degradación de ATZ a pH de 6.8, 22°C, oscuridad

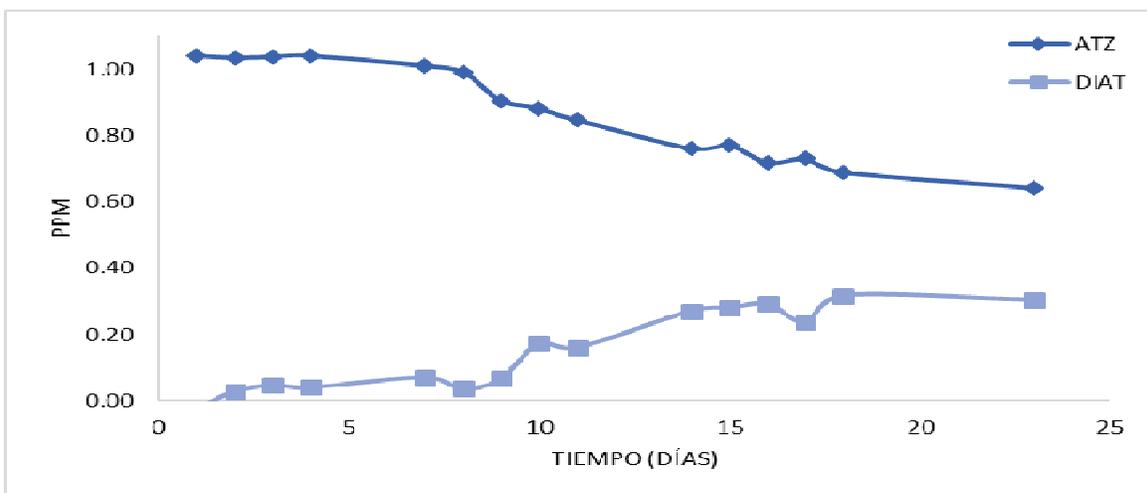


Figura 4.12. Degradación de ATZ a pH de 6.8, 22°C, luz ambiente

Finalmente, a las condiciones presentadas en las combinaciones 11 y 12 a una $T = 22^{\circ}\text{C}$, se obtiene una notoria degradación de la ATZ de 78.4%, para la combinación 12, con un valor de $K_{12} = 0.0665 \text{ d}^{-1}$ muy similar a las condiciones ácidas (Figuras 4.13 y 4.14). Cabría esperar una mayor degradación vía hidrólisis de la ATZ; no obstante, en condiciones ácidas se tuvo una tasa mayor de degradación para la especie objetivo ATZ, seguida por las condiciones alcalinas y finalmente en condiciones de pH cercano a 7.

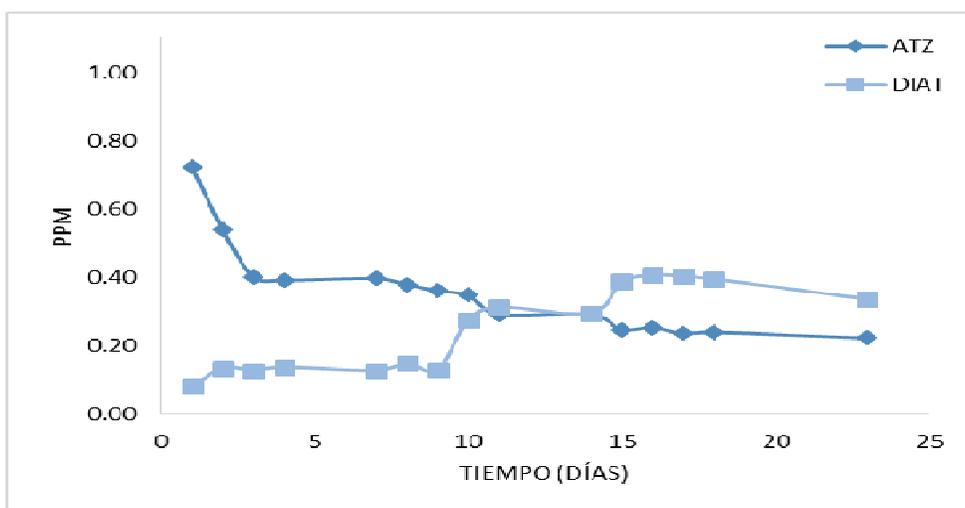


Figura 4.13. Degradación de ATZ a pH de 9, 4°C, oscuridad

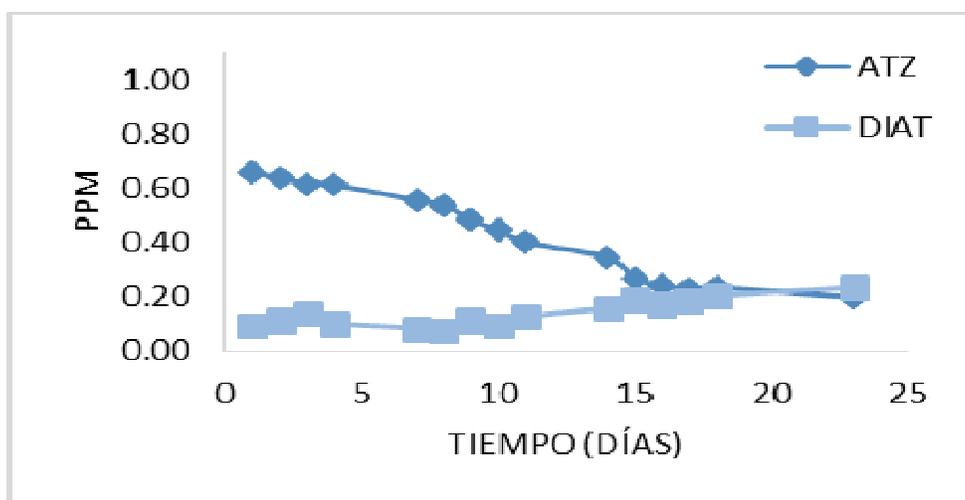


Figura 4.14. Degradación de ATZ a pH de 9, 4°C, luz ambiente

Al valor de pH = 4, la presencia de deisopropilatrazina (DIAT) se hace notoria en la Figura 4.7 con un valor de 0.10 ppm a partir del 3^{er} día y continúa con su incremento hasta alcanzar un valor máximo de 0.48 ppm en el día 11 para terminar con una concentración de 0.25 ppm en el día 23. También se esperaba la formación de DEAT a este valor de pH con base en que la ruta de degradación se da mediante la desalquilación de la ATZ (LeBaron et al., 2008).

A un valor de pH de 6.8 como se observa en las Figuras 4.9 a 4.12 se presentaron tasas de degradación menores con respecto de los otros dos valores de pH que iban desde 41.3 a 71.5%. Como a estas condiciones se tiene una menor concentración de iones H^+ probablemente se realizó la degradación vía desalquilación de la ATZ (LeBaron et al., 2008). La concentración de DIAT a partir del día 15 se mantuvo estable en aproximadamente 0.30 ppm y se plantea que no prosiguió con su descloración a otros subproductos debido a que, como se señala en la literatura (LeBaron et al., 2008), la descloración se lleva a cabo por fotólisis directa dando lugar a la hidroxilación para la formación de hidroxiatrazina (HAT).

Al valor de pH de 9 se esperaba la formación de hidroxiatrazina (HAT) dada la presencia de iones OH^- (Moreira et al., 2017), la cual seguramente se formó en la combinación 12 a una $T = 22^\circ C$ y bajo condiciones de luz (Figura 4.14), pero el método planteado en el software MassLynx quizá no fue tan robusto para la identificación por debajo del intervalo de 0.2 a 1.0 ppm como se planteó en la curva de calibración para la HAT. Es probable que no se diera lugar a la descloración para la formación de HAT ya que para que esta condición suceda debió de ejecutarse la metodología a exposición solar directa (LeBaron et al., 2008), no obstante, se realizó a luz ambiente en condiciones de laboratorio.

La concentración de DIAT tuvo un máximo de 0.60 ppm en la combinación 12 (Figura 4.13), teniendo 0.30 ppm de ATZ para estas mismas condiciones.

A diferencia de las combinaciones con pH de 4 (Figuras 4.12 y 4.13), a pH de 9 (Figuras 4.14 y 4.15), se observó que la concentración de DIAT mantuvo una tendencia en ascenso considerando que, como sugiere la literatura (Hou et al., 2017), la especie HAT se formaría a un valor de pH cercano a 12 y no a 9 como se propuso en la hipótesis, para formar la HAT vía deshidroxilación y descloración de la ATZ. No obstante, se observó un descenso notable en la concentración de la ATZ prácticamente desde el día 1.

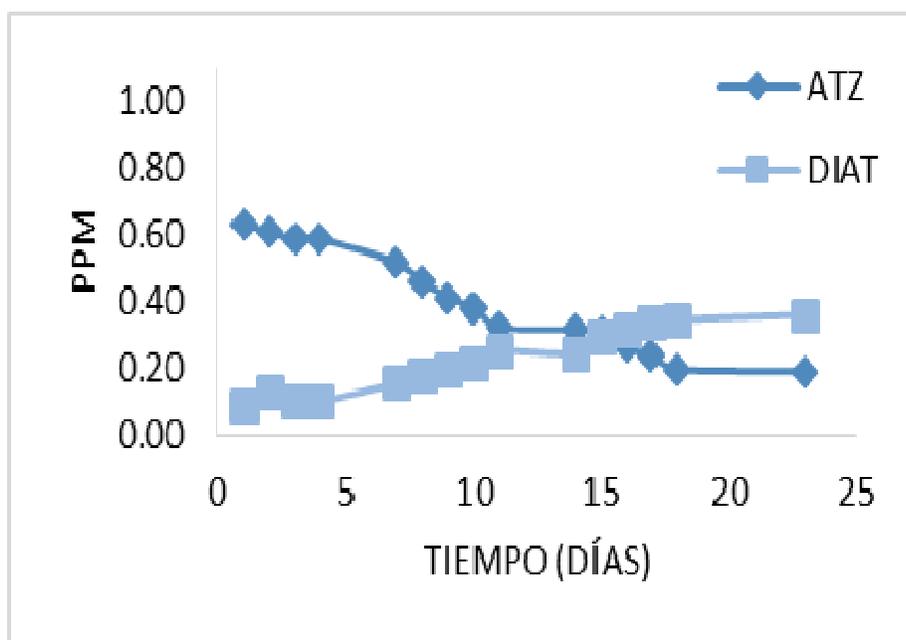


Figura 4.15. Degradación de ATZ a pH de 9, 22°C, oscuridad

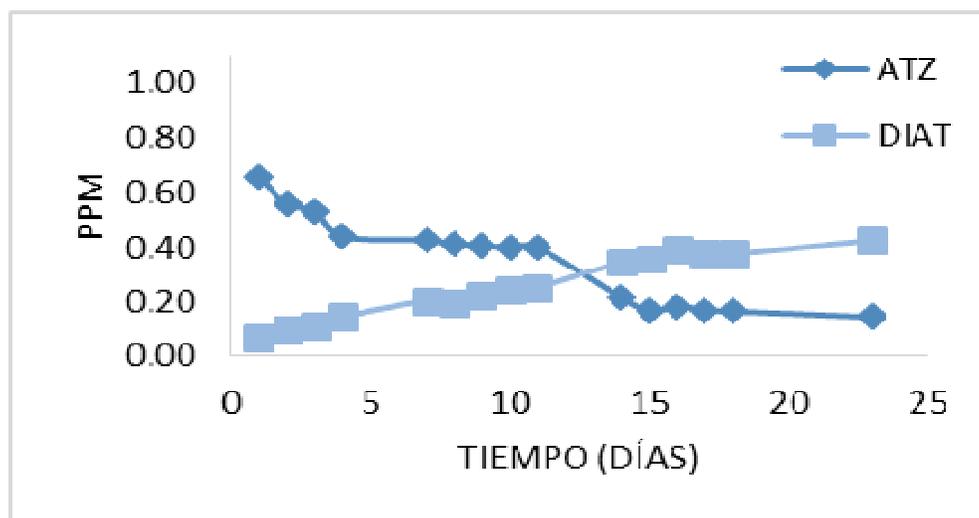


Figura 4.16. Degradación de ATZ a pH de 9, 22°C, luz ambiente

4.4.2. Efecto de la temperatura y condiciones de luz

El proceso de degradación de la ATZ mostró un comportamiento similar en algunos aspectos notorios, así como otros tantos variados. Los primeros fue que en prácticamente las 12 combinaciones hubo una cinética de degradación, esto es

que al menos se presentó una degradación de 41.3% de ATZ en los 23 días de duración del experimento. La Figura 4.11 muestra que a pH = 6.8, T = 22°C y condición de oscuridad se presentó este evento, así como un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 29.9 d y una constante de K = 0.0232 d⁻¹.

4.5. Discusión final

En la Figura 4.7 se sugiere que a pH 4, 22°C y condiciones de luz se presentaría una degradación de hasta el 96.5% de ATZ.

Estos resultados, considerando que está ausente cualquier catalizador (adicional a la solución amortiguadora o *buffer*) que sea fuente de iones H⁺ y que promueva casi la totalidad de degradación en apenas 23 días, son interesantes. En el estudio de Hou et al. (2017) alcanzan esa degradación en un número de días equivalentes, pero empleando un agente catalítico (dióxido de titanio).

Por otro lado, se esperaría que, en condiciones de luz con valor de pH 9 y temperatura 22°C, la Figura 4.16 mostraría un comportamiento similar (a la Figura 4.7) de degradación por exposición a la luz ambiente, es decir, que mediante la exposición a la luz solar directa o luz solar simulada (>290nm), la fotólisis procede por descloración e hidroxilación para formar la hidroxitriazina (HAT) correspondiente (Konstantinou et al., 2001).

La necesidad de monitorear la degradación de la ATZ en sus metabolitos DEAT, DIAT y HAT durante los 23 días del estudio requirió del uso de las curvas de calibración presentadas en el **ANEXO 2**. Las curvas de calibración cuyos coeficientes de correlación r^2 fueron ligeramente mayores a 0.98, asegurando la linealidad del método y, por ende, la confiabilidad de obtener la concentración a partir de la respuesta del cromatograma, en la sección 4.3 se muestra el espectro y cromatograma característicos (con su área y tiempo de retención) que confirman la presencia e identificación de las especies químicas estudiadas.

Con base en estos resultados, a continuación, se presentan las conclusiones derivadas de ellos, así como algunas recomendaciones para continuar con esta investigación.

CAPÍTULO IV. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

En concordancia con los objetivos y el alcance de la presente investigación se precisa lo siguiente:

- La identificación y cuantificación de los compuestos ATZ, DEAT, DIAT y HAT se realizó mediante las curvas de calibración, poniendo de manifiesto la capacidad del sistema *HPLC-MS* (CLAR-EM) para identificar dichas especies por medio de una columna C18 en fase reversa la cual es útil para la separación y selectividad de la atrazina y sus metabolitos.
- De acuerdo con las 12 combinaciones propuestas del diseño de experimentos multifactorial de pH, temperatura y condición de luz u oscuridad, se obtuvo que la mayor tasa de degradación de ATZ fue en condiciones ácidas. A saber, la combinación 4 presentó una degradación de 96.5% para un pH de 4 y una temperatura de 22°C; la combinación 6 con 75.5% para un pH de 6.8 y una temperatura de 4°C robustece la hipótesis que a condiciones de pH estables la degradación de la atrazina se realiza de forma lenta. Por otro lado, la combinación 12 con un valor de pH de 9 y una temperatura de 22°C presentó una degradación de 78.4%, lo que confirma la hipótesis de que la temperatura influye en la hidrólisis.
- Los productos de degradación DEAT y HAT no pudieron ser cuantificados por el método propuesto; sin embargo, no se descarta que se hayan formado en cantidades inferiores y sí detectables. De las 12 combinaciones, las condiciones de la degradación indican que pudo haber sido por medio de la desalquilación hacia la formación de DIAT principalmente. Si bien la hidrólisis no se llegó a cuantificar no se descarta la formación de

hidroxiatrazina (HAT) en tasas no cuantificables o, por el contrario, la hidrólisis se llevó a cabo de forma lenta.

- El tiempo de vida media no necesariamente fue menor para aquellas combinaciones con mayor tasa de degradación, es decir, la combinación 4 (pH 4, 22°C, luz) experimentó una vida media de 4.8 días, además de que presentó la mayor tasa de degradación de 96.5% de las 12 combinaciones. El tiempo de vida media que se tuvo con la combinación 7 (pH 6.8, 4°C, oscuridad), como se esperaba una degradación lenta en condiciones ácidas, fue de 29.9 días. Esto quiere decir que, en condiciones de ausencia de luz, temperatura baja y prácticamente pH neutro, la degradación de la ATZ es inhibida.
- Por último, se debe considerar que en aguas superficiales y en condiciones naturales estables de pH entre 5 y 9, la hidrólisis, esto es, la descloración e hidroxilación se mantienen inhibidas (LeBaron et al., 2008). La tasa de degradación hacia la formación de hidroxiatrazina (HAT) podría verse favorecida en aguas superficiales en presencia de carbón orgánico disuelto y mediante la exposición indirecta a la luz solar a longitudes de onda mayores a 290 nm. Con estas dos condiciones la descloración es particularmente viable.

5.2. Recomendaciones

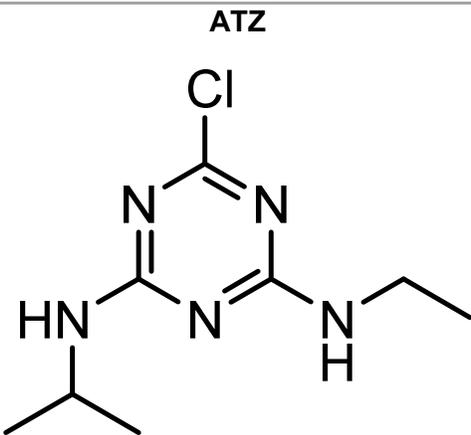
- Se recomienda que para la identificación y adecuado seguimiento de la especie HAT a lo largo de los días de experimentación propuestos, el método podría ajustarse robustamente para detectar en cantidades de ppb (partes por billón) o trabajar con un pH cercano a 12, dado que en las curvas de calibración se logró cuantificar de manera adecuada tanto la especie DEAT como la HAT mediante la presente técnica analítica

- Se debe ir considerando que la ATZ presentó un coeficiente de reparto K_{ow} de 2.5 por lo que tiende a ser soluble en agua con 33 ppm a 25°C. Por ello, en futuros trabajos experimentales, se puede utilizar como referencia para evaluar la presencia de ATZ hasta en 1 ppm en caso de que el analito de interés esté presente en agua superficial.

Anexo 1

Estructura y propiedades de las especies en estudio

Tabla A1.1. Propiedades fisicoquímicas de la atrazina

 <p>ATZ</p>	
Nombre común	Atrazina
Nombre IUPAC	2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina)
Fórmula molecular	C ₈ H ₁₄ ClN ₅
Masa molar [g/mol]	215.685
Valor de pKa	1.68
Solubilidad en agua [mg/L] (20-25°C)	33 ppm (LeBaron et al., 2008)
Solubilidad en metanol ([g/L] (25°C)	15 (Paranjape et al., 2014)
Presión de vapor [mPa] (25°C)	0.038 (Tadeo, 2008) [2.89x10 ⁻⁷ mmHg]
Coeficiente de reparto octanol-agua <i>K_{ow}</i> (25°C)	2.5 (Tadeo, 2008)
Tiempo de vida media en suelo-agua <i>t</i> _½ (<i>half-life time DT</i> ₅₀) [días]	35-50 (Tadeo, 2008)
Densidad [g/cm ³] (22°C)	1.23
(m/z) ESI	200.00 (NIST, 2018)
λ UV [nm]	221
MRL, límite máximo de residuos aceptable	1-5 ppm
Toxicología (World Health Organization)	III
DL ₅₀ oral ratas [mg/kg]	1869-3080

Los metabolitos desalquilados e hidroxilados de la atrazina presentan toxicidad y propiedades físico-químicas similares al compuesto de partida (Tomlin, 2009).

Tabla A1.2. Propiedades fisicoquímicas de la hidroxiatrazina

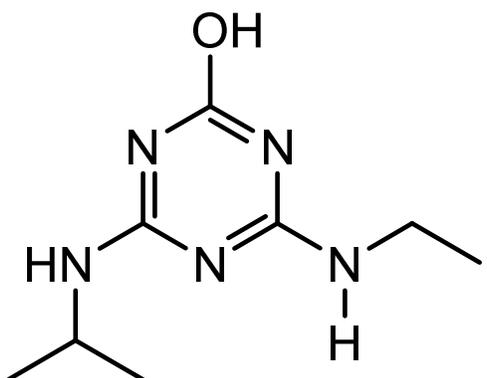
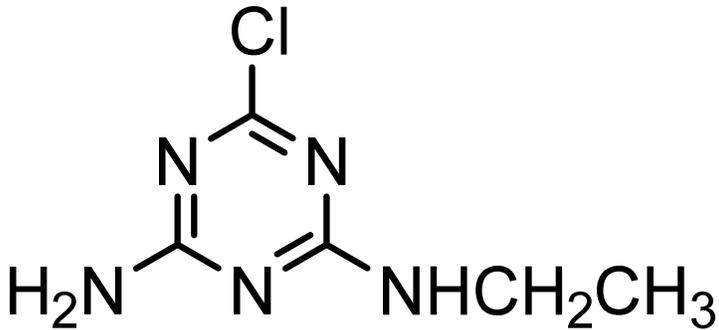
<p>HAT</p> 	
Nombre común	Hidroxiatrazina
Nombre IUPAC	4-ethylamino-2-hydroxy-6-isopropylamino-s-triazine
Fórmula molecular	C ₈ H ₁₅ N ₅ O
Masa molar [g/mol]	197.242
Solubilidad en agua [mg/L] (20-25°C)	0.298 g/L (LeBaron et al., 2008)
(m/z) ESI	196.1204 (NIST, 2018)
λ UV [nm]	240
MRL, límite máximo de residuos aceptable	1-5 ppm

Tabla A1.3. Propiedades fisicoquímicas de la deisopropilatrazina

DIAT	
	
Nombre común	Deisopropilatrazina
Nombre IUPAC	6-Amino-2-chloro-4-ethylamino-1,3,5-triazine
Fórmula molecular	C ₅ H ₈ ClN ₅
Masa molar [g/mol]	173.604
Solubilidad en agua [mg/L] (20-25°C)	670 (Javed Ali Khan, 2017)
Densidad [g/cm ³] (22°C)	
(m/z) ESI	174.05 (NIST, 2018)
λ UV [nm]	213
MRL, límite máximo de residuos aceptable	1-5 ppm

Anexo 2

Especificaciones de los equipos empleados

Tabla A2.1. Especificaciones de los equipos empleados

Equipo/Material	Especificaciones	Función
Micropipetas	Transferpette 1-10 mL	Toma de alícuotas para disoluciones
Equipo de filtrado	Perkin Elmer Sartorius D-3400 Gottingen 1000 mL	Eliminación por vacío de sólidos para el mejor desempeño de los solventes
Membranas	SUN SRI, membranas de disco de 'nylon' con 47 mm y 0.20 μm	Fungen como barrera que detienen las impurezas de los solventes
Baño ultrasónico	Cole Parmer 120 V, 50-60 Hz, Modelo 08895-39	Eliminación de gases disueltos en los solventes por zonificación
Autoclave	AESA Modelo CV 250, 127 V, 15.7 A, 2000 W.	Esterilización de puntas vía aplicación de calor húmedo, 1.4 kg/cm^2 , 120°C, 20 minutos
Cápsulas de estaño	Costech Analytical Technologies, para muestras sólidas	Fungen como receptáculo para contener los reactivos a pesar
Balanza analítica	Mettler Toledo, Modelo AG 245. Alcance de medición 210 g, tolerancia 0.1 mg	Pesaje de ATZ, DEAT, DIAT y HAT para preparación de soluciones en ppm
Sistema de purificación de agua	Millipore Q3 UV kit Mx 110 V Agua tipo 1: 18.2 $\text{M}\Omega$ cm concentración iónica <1 $\mu\text{g}/\text{L}$ Agua tipo 3: 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ concentración iónica 2.5 mg/L	Dispensador de agua destilada (tipo 3) y agua des-ionizada (tipo 1)
Horno	Felisa, Modelo F 293D, 0 a 250°C	Secado de material de

Equipo/Material	Especificaciones	Función
		vidrio durante 1 hora a 120°C
Campana de flujo Laminar	CFL102 sin recirculación, motor de 1/6 HP y 127 V	Zona estéril (con lámpara de luz UV) para la elaboración de soluciones madre
Potenciómetro	Thermo Electron Corporation Advanced, modelo Orion 720 A+	Medidor de pH digital para estabilización de soluciones amortiguadoras (<i>buffers</i>)
Módulo de Separación Waters Alliance e2695	Sistema de manejo de solventes y sistema de manejo de muestras	Integra los componentes de la cromatografía líquida de alta resolución, CLAR (<i>HPLC</i>)
Espectrómetro de Masas Waters Quattro Micro API	Dotado de un doble cuadrupolo de alto desempeño que puede acoplarse a la Cromatografía Líquida de Alta Resolución	Analizar información molecular de las corridas cromatográficas
Columna	Kinetex C18 2.6 µm 150x4.6 mm	Separación en fase reversa
Bomba de vacío	Edwards Leroy modelo 1LS90PR	Acondicionar la cámara del nebulizador del cono del espectrómetro de masas
Generador de nitrógeno	Peak Scientific Instruments modelo NM30LA-MS	Fuente de nitrógeno gaseoso para evitar la ignición en la sonda ESI
Software	MassLynx 4.1	Creación del método cromatográfico y análisis de datos

Anexo 3

Curvas de calibración

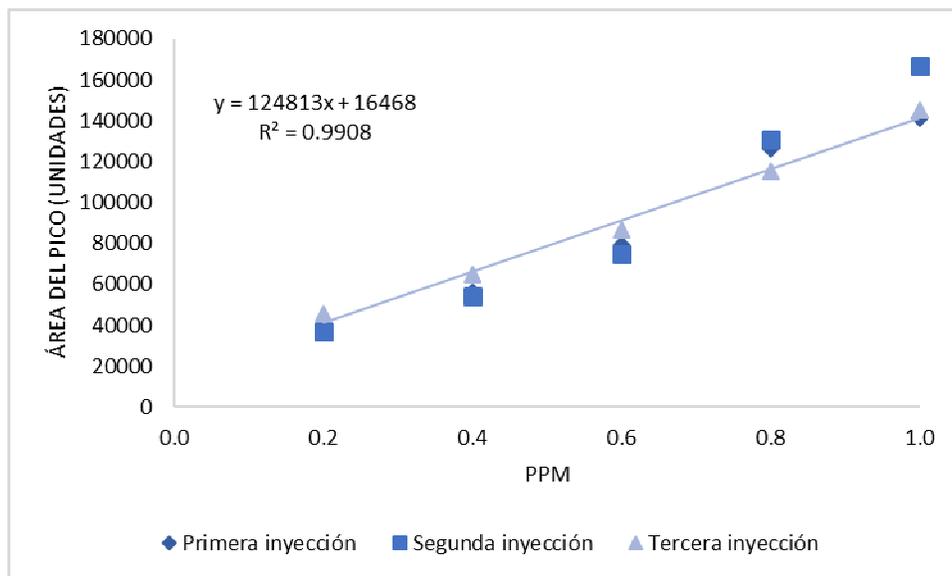


Figura A3.1. Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 4

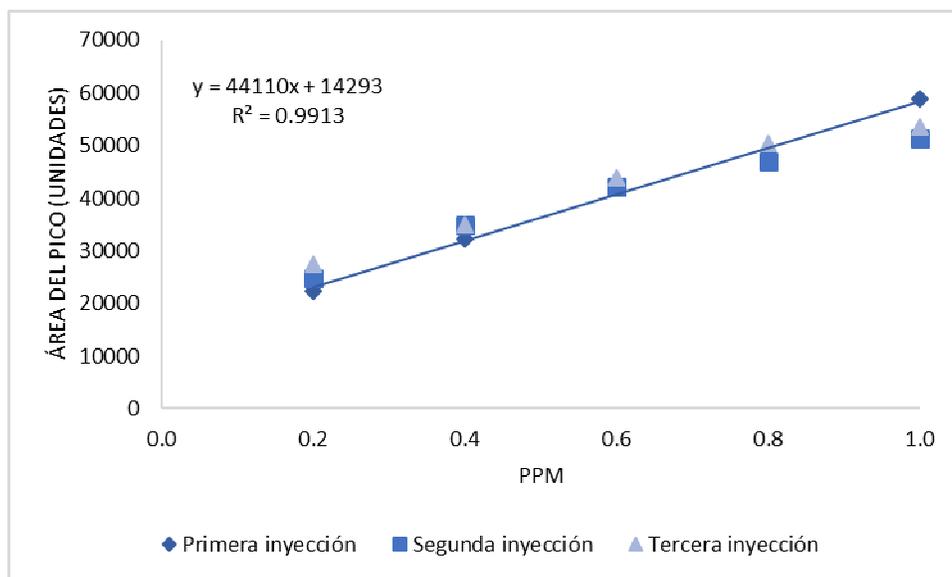


Figura A3.2. Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 4

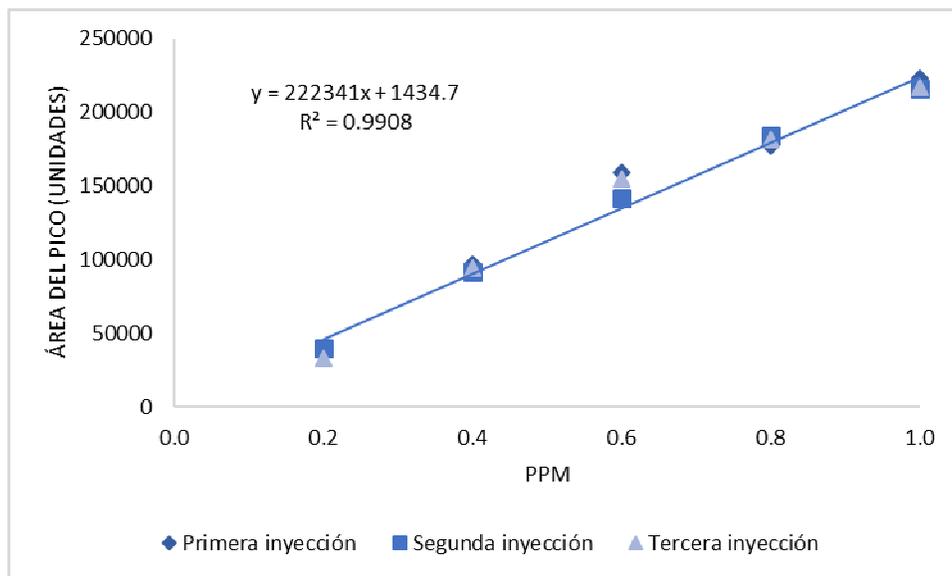


Figura A3.3. Curva de calibración para deisopropilatrazina (DIAT), a pH de 4

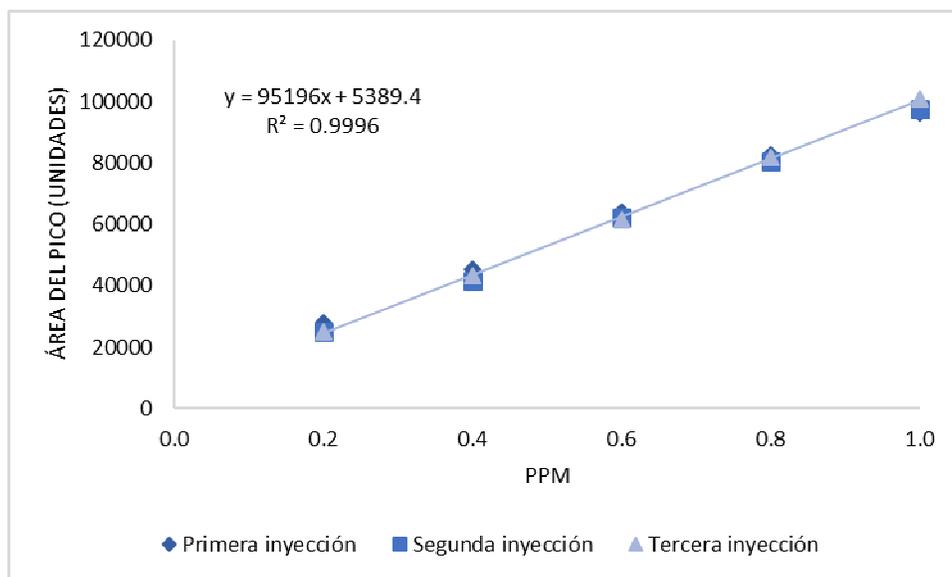


Figura A3.4. Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de 4

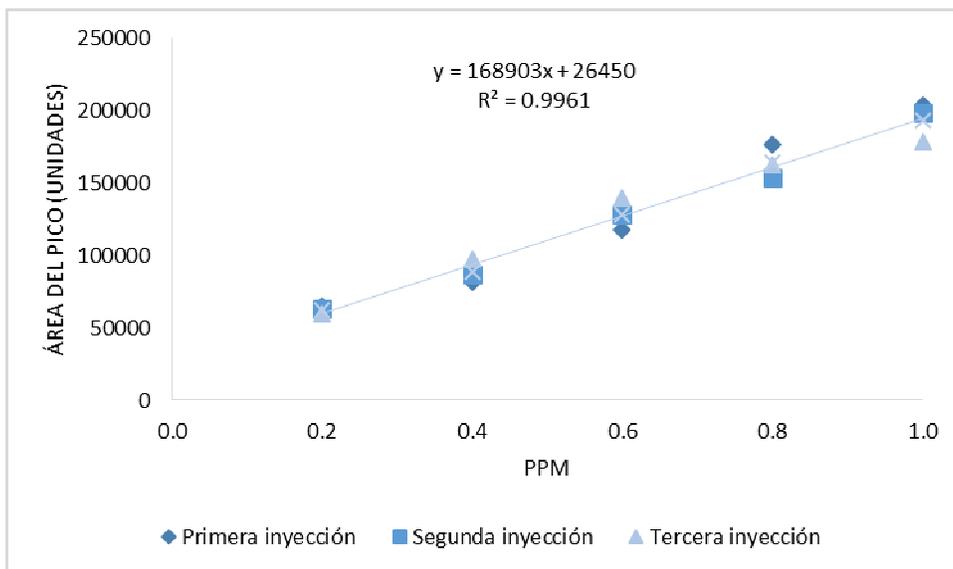


Figura A3.5. Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 6.8

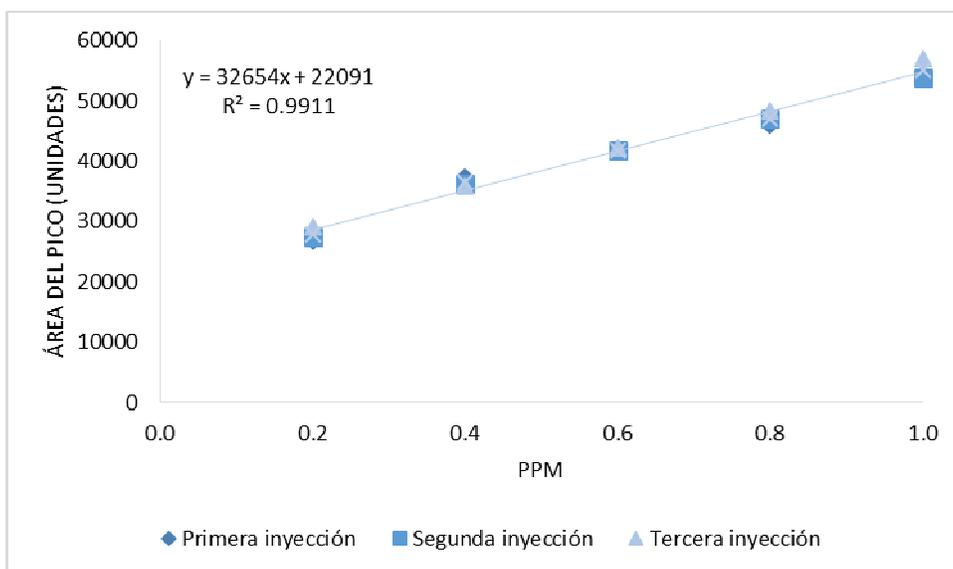


Figura A3.6. Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 6.8

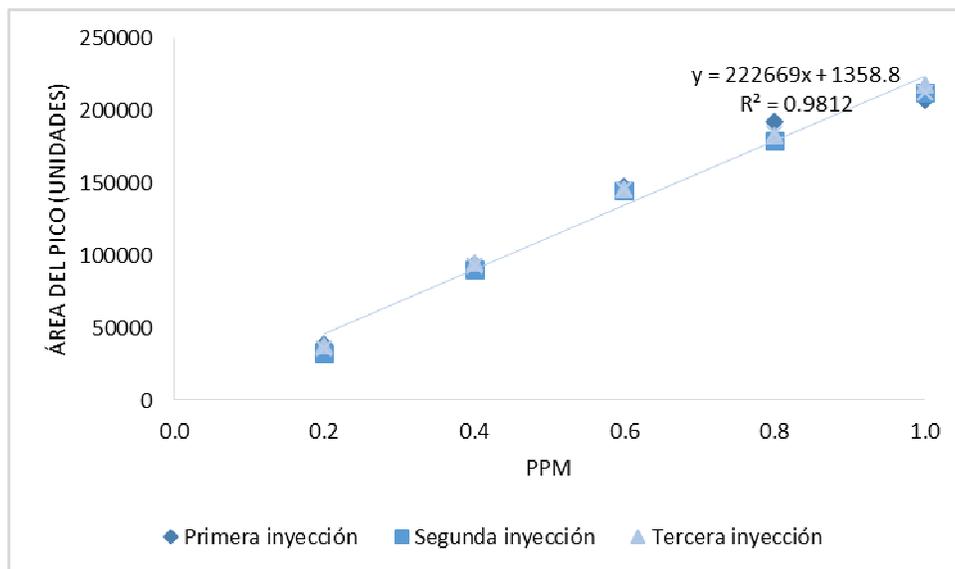


Figura A3.7. Curva de calibración para deisopropilatrastina (DIAT), a pH de 6.8

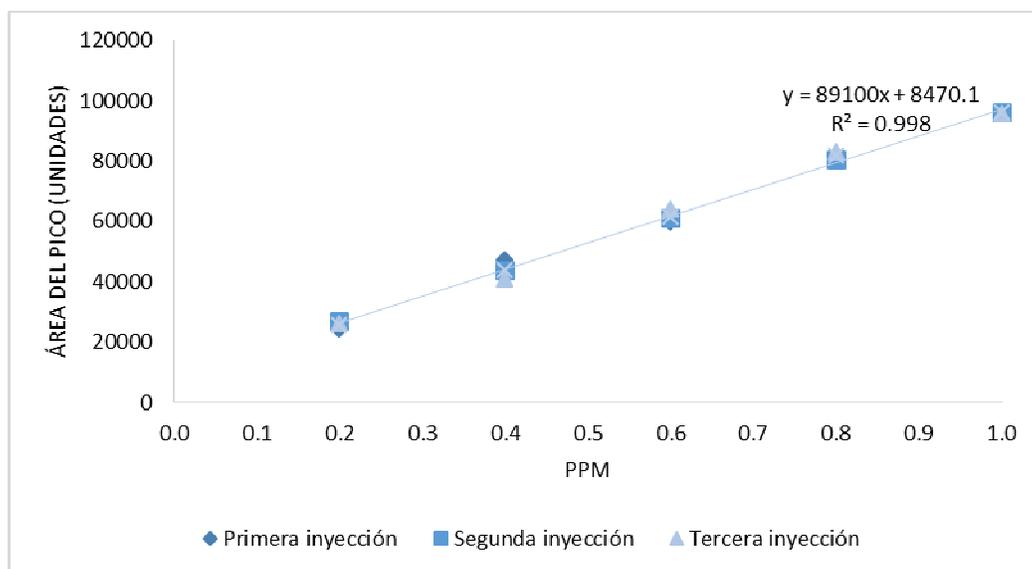


Figura A3.8. Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de 6.8

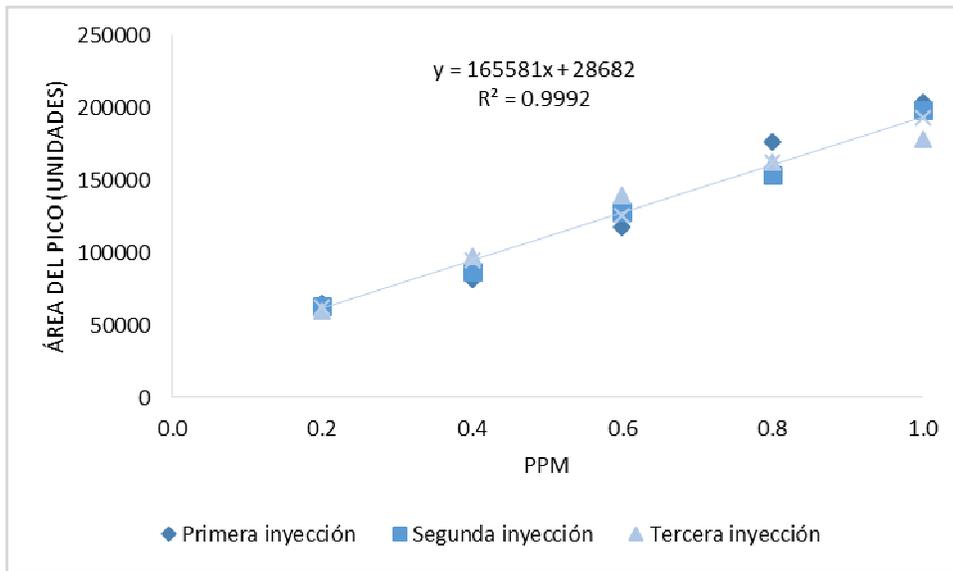


Figura A3.9. Curva de calibración para atrazina (ATZ), a pH de 9

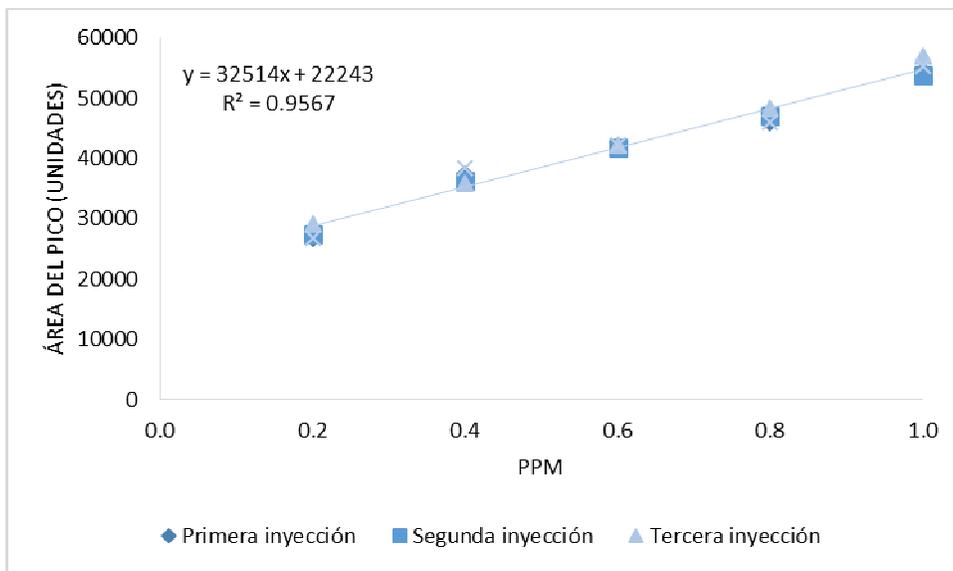


Figura A3.10. Curva de calibración para desetilatrazina (DEAT), a pH de 9

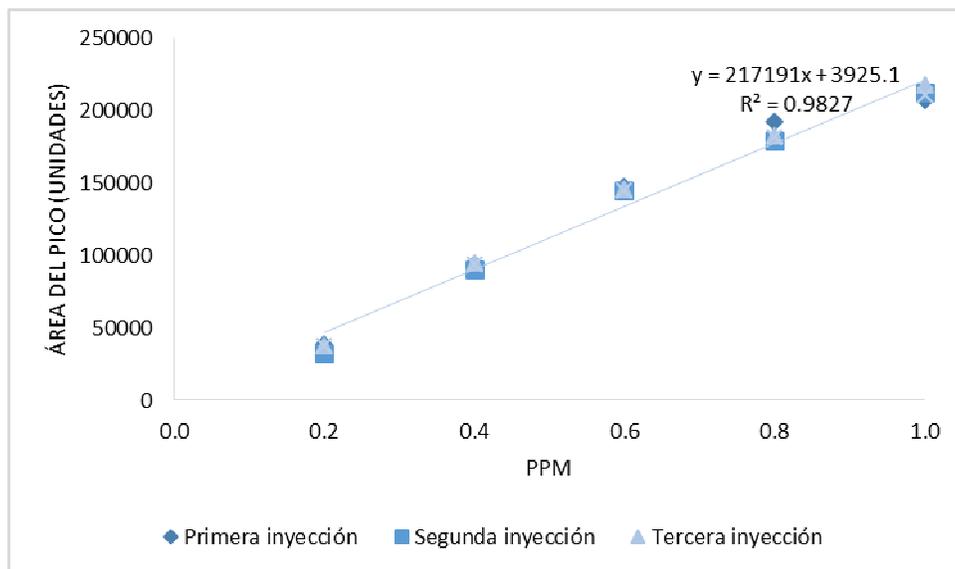


Figura A3.11. Curva de calibración para deisopropilatraxina (DIAT), a pH de 9

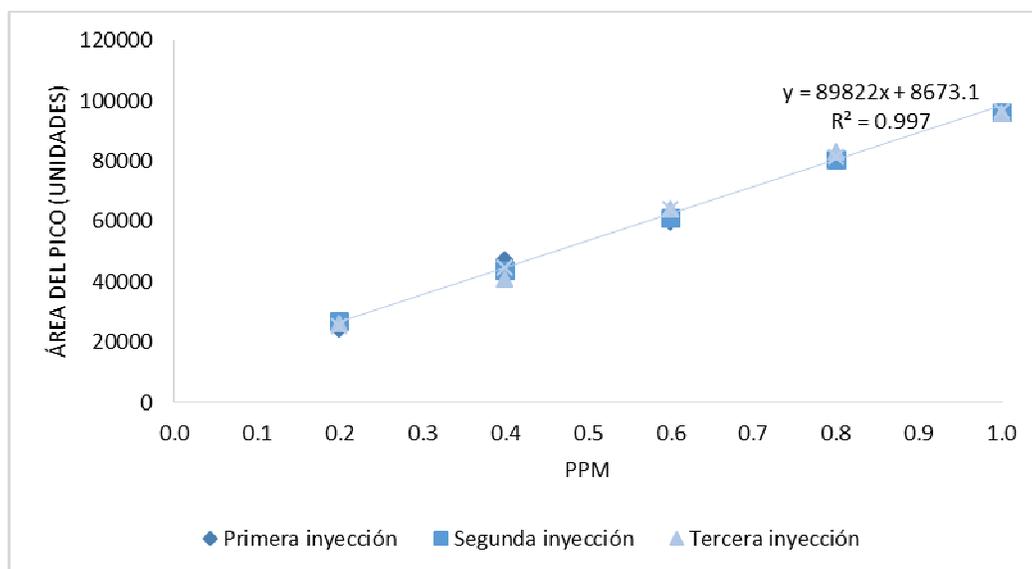


Figura A3.12. Curva de calibración para hidroxiatrazina (HAT), a pH de 9

Anexo 4

Datos experimentales

Tabla A4.1. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la atrazina

Días	Combinación											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Respuesta ATZ (Área bajo la curva)											
1	142561	144147	138269	152066	148566	151426	146278	136546	139246	138416	133855	136956
2	136011	140588	137052	109674	117784	118160	145516	135489	134878	134489	129516	121444
3	122226	138149	98680	97444	94353	114083	145896	136422	134216	131266	126774	116499
4	117498	129260	96544	91446	92715	112207	146196	133987	129511	130390	126280	101592
7	110727	126631	91497	90043	93541	113256	142511	131256	123590	121244	114588	99426
8	109343	113454	90680	88422	90456	118619	140248	129215	115662	118438	104962	97233
9	108556	114516	86054	73820	87578	92567	129487	127466	111263	109514	97216	96115
10	106556	116211	88541	60266	85356	87223	126523	114573	104664	102664	92180	95140
11	96452	86159	84643	57248	76087	83481	122145	107541	95117	95117	82228	95216
14	66211	66391	81297	46812	76000	68801	111542	91614	88290	86222	80798	63711
15	56125	43517	50869	37984	68342	71534	112664	88266	86114	73266	79616	55560
16	48963	33562	51277	29797	69504	66216	106236	87154	82544	68945	72344	58640
17	40771	26018	48457	28345	66455	69451	107549	83511	78116	66451	67545	56212
18	31440	27849	46184	20778	67213	61523	102532	79151	74025	67773	61252	55560
23	32627	34304	44660	21222	64236	57126	96744	77486	71112	61542	60222	52116

Tabla A.4.2. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la hidoxiatrazina

Días	Combinación											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	HAT ppm											
1	1.01	1.02	0.98	1.09	0.72	0.74	0.71	0.65	0.67	0.66	0.64	0.65
2	0.96	0.99	0.97	0.75	0.54	0.54	0.70	0.65	0.64	0.64	0.61	0.56
3	0.85	0.97	0.66	0.65	0.40	0.52	0.71	0.65	0.64	0.62	0.59	0.53
4	0.81	0.90	0.64	0.60	0.39	0.51	0.71	0.64	0.61	0.61	0.59	0.44
7	0.76	0.88	0.60	0.59	0.40	0.51	0.69	0.62	0.57	0.56	0.52	0.43
8	0.74	0.78	0.59	0.58	0.38	0.55	0.67	0.61	0.53	0.54	0.46	0.41
9	0.74	0.79	0.56	0.46	0.36	0.39	0.61	0.60	0.50	0.49	0.41	0.41
10	0.72	0.80	0.58	0.35	0.35	0.36	0.59	0.52	0.46	0.45	0.38	0.40
11	0.64	0.56	0.55	0.33	0.29	0.34	0.57	0.48	0.40	0.40	0.32	0.40
14	0.40	0.40	0.52	0.24	0.29	0.25	0.50	0.39	0.36	0.35	0.31	0.21
15	0.32	0.22	0.28	0.17	0.25	0.27	0.51	0.37	0.35	0.27	0.31	0.16
16	0.26	0.14	0.28	0.11	0.25	0.24	0.47	0.36	0.33	0.24	0.26	0.18
17	0.19	0.08	0.26	0.10	0.24	0.25	0.48	0.34	0.30	0.23	0.23	0.17
18	0.12	0.09	0.24	0.03	0.24	0.21	0.45	0.31	0.27	0.24	0.20	0.16
23	0.13	0.14	0.23	0.04	0.22	0.18	0.42	0.30	0.26	0.20	0.19	0.14

La constante de velocidad de reacción k se obtiene con la ecuación 2.10; por ejemplo, para la combinación 1 se tiene que:

$$k(\text{días})^{-1} = \frac{-\ln \frac{C_{\text{final}}}{C_{\text{inicial}}}}{t_{\text{final}}} = \frac{-\ln \frac{0.13}{1.01}}{23 \text{ días}} = 0.0093 \text{ días}^{-1} \quad \text{Ec. 2.10}$$

y el tiempo de vida media $t_{1/2}$ se obtiene con la ecuación 2.11

$$t_{1/2} = \frac{1}{k} \ln 2 = \frac{1}{0.0093} \ln 2 = 7.8 \text{ días} \quad \text{Ec. 2.11}$$

Tabla A4.3. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la deisopropilatrazina

Días	Combinación											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Respuesta DIAT (Área)											
1	15262	17566	11266	17526	20116	16512	13266	19416	22511	19733	21514	16522
2	20062	16512	21415	27053	21745	29544	20081	18105	26441	31547	29626	23147
3	27718	25804	28635	27724	31081	34450	22347	26468	32039	30139	23443	26386
4	50553	33236	37759	65917	38830	38939	21567	17279	24111	32118	23672	33310
7	66551	35621	36205	72422	43982	46225	25354	31256	19923	30052	36040	46211
8	75541	36423	48896	77733	45688	46098	20995	33265	18744	34692	41999	44532
9	67844	43571	51140	73563	46243	56514	24732	32994	26579	30655	45461	51107
10	78840	36946	70838	75045	50007	53642	38122	40501	22433	62895	49550	54636
11	70511	37266	66214	76245	48644	48155	36478	48906	29736	71422	57481	56941
14	68566	35893	69290	67737	46535	46616	50346	55562	36992	67544	55856	78634
15	64177	33512	67245	69466	49216	48155	51488	44845	44152	87699	66795	81522
16	71514	36251	62164	65945	48415	42156	52894	53219	39622	92144	72591	88945
17	60285	36778	53214	56584	46957	48723	45896	54803	42781	91516	77411	86213
18	58216	30233	50566	53965	46233	49946	56115	56316	46922	89661	78463	85416
23	64211	36481	50152	46152	50511	48116	54378	42156	53922	76588	81916	96488

Tabla A4.4. Resultados del diseño experimental planteado en la investigación para la desetilatrizina

Días	Combinación											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	DEAT ppm											
1	0.06	0.07	0.04	0.07	0.08	0.07	0.05	0.08	0.09	0.08	0.09	0.07
2	0.08	0.07	0.09	0.12	0.09	0.13	0.08	0.08	0.11	0.14	0.13	0.10
3	0.12	0.11	0.12	0.12	0.13	0.15	0.09	0.11	0.14	0.13	0.10	0.11
4	0.22	0.14	0.16	0.29	0.17	0.17	0.09	0.07	0.10	0.14	0.10	0.14
7	0.29	0.15	0.16	0.32	0.19	0.20	0.11	0.13	0.08	0.13	0.16	0.20
8	0.33	0.16	0.21	0.34	0.20	0.20	0.09	0.14	0.08	0.15	0.18	0.19
9	0.30	0.19	0.22	0.32	0.20	0.25	0.10	0.14	0.11	0.13	0.20	0.22
10	0.35	0.16	0.31	0.33	0.22	0.23	0.17	0.18	0.09	0.28	0.22	0.24
11	0.31	0.16	0.29	0.34	0.21	0.21	0.16	0.21	0.13	0.31	0.25	0.25
14	0.30	0.15	0.31	0.30	0.20	0.20	0.22	0.24	0.16	0.30	0.24	0.35
15	0.28	0.14	0.30	0.31	0.21	0.21	0.23	0.20	0.19	0.39	0.29	0.36
16	0.32	0.16	0.27	0.29	0.21	0.18	0.23	0.23	0.17	0.41	0.32	0.39
17	0.26	0.16	0.23	0.25	0.20	0.21	0.20	0.24	0.19	0.40	0.34	0.38
18	0.26	0.13	0.22	0.24	0.20	0.22	0.25	0.25	0.20	0.40	0.35	0.38
23	0.28	0.16	0.22	0.20	0.22	0.21	0.24	0.18	0.24	0.34	0.36	0.43

Anexo 5

Disposición controlada de los residuos producidos en esta experimentación

Disposición de los residuos

Los residuos generados a raíz de la puesta en marcha de la experimentación, tales como soluciones amortiguadoras (*buffer*, en inglés), las soluciones orgánicas utilizadas en la cromatografía líquida como fase móvil (metanol y acetonitrilo), así como las soluciones madre preparadas de atrazina y sus metabolitos, hidroxiatrazina, desetilatrazina y deisopropilatrazina, fueron tratadas de acuerdo con la normativa vigente establecida por la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM y dispuestas siguiendo sus protocolos.

BIBLIOGRAFÍA

- APVMA. 2008. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority. Atrazine Review – Final Review Report & Regulatory Decision Volume 1.
<https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/14361-atrazine-final-review-report.pdf>
- Arata, A.A. 1983. Perspectivas del uso de plaguicidas: Historia, situación actual y necesidades futuras [Internet]. En: III Taller Latinoamericano “Prevención de Riesgos en el uso de Plaguicidas”. Diciembre 1-6. INIREB. Xalapa, Veracruz, México.
<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/003106/03106-02.pdf>
- Bejarano-González, F. 2017. Los plaguicidas altamente peligrosos nuevo tema normativo internacional y su perfil nacional en México. En Los plaguicidas altamente peligrosos en México. Bejarano-González F. Ed. RAPAM, CIAD, Red Temática de Toxicología de Plaguicidas, UAEMEX, INIFAP, UCCS, IPEN, PNUD. Pp. 10-96. Ciudad de México, México.
- Borja-Urzola, A.d.C. 2017. Influencia de la materia orgánica en la extracción en fase sólida de la atrazina y dos de sus metabolitos de degradación en muestras acuosas. Caso de estudio canales de Xochimilco, Cd.Mx., México. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Enero 15. Ciudad de México, México.
<http://132.248.9.195/ptd2017/enero/0754226/Index.html>
- Cabrera, L. 2002. 2002. Diccionario de aztequismos. Revisión y puesta en orden: J. Ignacio Dávila-Garibi. Términos nahuas: Luis Reyes-García. Términos latinos (clasificaciones botánicas y zoológicas): Esteban Inciarte. 5ª edición. ISBN 968-867-038-3. Ed. Colofón S.A. México D.F. México.

- COFEPRIS. 2019. Registro Sanitario de Plaguicidas y Nutrientes Vegetales. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Secretaría de Salud. México. <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/registro-sanitario-de-plaguicidas-y-nutrientes-vegetales>
- Cook, A.M., Beilstein, P., Grossenbacher, H., Hütter, R. 1985. Ring cleavage and degradative pathway of cyanuric acid in bacteria. *Biochemical Journal*. 231(1): 25-30. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1042/bj2310025>
- Coscollá, R., Coscollá, C. 2006. Cómo disminuir o eliminar los residuos de plaguicidas en frutas, hortalizas y alimentos transformados. Pp. 71-111. Ed. Phytoma. Uruguay.
- DOF. 1996a. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en comercializar plaguicidas agrícolas. Norma Oficial Mexicana NOM-033-FITO-1995. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.
- DOF. 1996b. Especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales interesadas en la fabricación, formulación, formulación por maquila, formulación y/o maquila e importación de plaguicidas agrícolas. NOM-034-FITO-1995. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.
- DOF. 1997. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para presentar el aviso de inicio de funcionamiento por las personas físicas o morales que se dediquen a la aplicación aérea de plaguicidas agrícolas. Norma Oficial Mexicana NOM-052-FITO-1995. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2009. DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. **Diario Oficial de la Federación**: Jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.

DOF. 2010. Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico. Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2015. Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarios para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su Dictamen Técnico. Norma Oficial Mexicana NOM-032-FITO-1995. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2017a. Actividades agrícolas-Condiciones de seguridad y salud en el trabajo. Norma Oficial Mexicana NOM-003-STPS-2016. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2017b. Límites máximos de residuos. Lineamientos técnicos y procedimiento de autorización y revisión. Norma Oficial Mexicana NOM-082-SAG-

FITO/SSA1-2017. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

Draber, W., Fujita, T.U. 1992. Rational Approaches to Structure, Activity, and Ecotoxicology of Agrochemicals. CRC Press. Pp. 277–313. Boca Raton, FL. EE.UU.

Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2020. Alimentos chatarra y las bebidas endulzadas en los tiempos del Covid-19 / *Junk Foods and Sweetened Drinks in the Times of Covid-19*. **RD-ICUAP**. 6(18)1-16. ISSN: 2448-5829 (Online). <http://rd.buap.mx/ojs-dm/index.php/rdicuap/article/view/240>
Cita: <https://www.facebook.com/TVBUAP/videos/238652878235654> [Ciencia a tiempo: Ep. 5 (facebook.com)]

FAO. 2019. Codex Alimentarius. Pesticides Residues in Food Online Database. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>

FDA. 2018. U.S. Food and Drug Administration Import Refusal Reports for OASIS. U.S. Food & Drug Administration. Recuperado en febrero de 2018, de U.S. Food & Drug Administration: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/importrefusals/>

Feakin, S.J., Blackburn, E., Burns, R.G. 1995. Inoculation of granular activated carbon in a fixed bed with s-triazine-degrading bacteria as a water treatment process. *Water Research*. 29(3): 819-825.

Fong, W.G., Moye, H.A., Seiber, J.N., Toth, J.P. 1999. Pesticide residues in foods: Methods, techniques and regulations. John Wiley and Sons. 2356 pp. New York, NY. EE. UU.

García-Montiel, A. L., García-Gómez, R. S., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2016. Efecto de la presencia de calcio en la calidad del puré de jitomate (*Lycopersicum esculentum*) elaborado a partir de frutos con recubrimientos naturales / *Effect of the presence of calcium on the quality of tomato (Lycopersicum esculentum) puree made from fruits with natural coatings. Ambiens Techné et Scientia México*. 4(1):61-71.

González-García, J. E. 2018. **Degradación por hidrólisis química de la atrazina y algunos de sus productos de degradación. Ejemplo: Muestras de agua del sistema de canales de Xochimilco.** Tesis profesional de Ingeniero Químico. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Mayo 24. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2018/mayo/0773880/Index.html

Gross, J.H. 2005. Mass spectrometry: A textbook. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 16: 793-797.

Hansen, A.M., Treviño-Quintanilla, L.G., Márquez-Pacheco, H., Villada-Canela, M., González-Márquez, L.C., Guillén-Garcés, L.A., Hernández-Antonio, A. 2013. Atrazina: Un herbicida polémico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29(1): 65-84.

Heizer, J., Render, B. 2009. Administración de Operaciones. Séptima edición. Pearson Educación. Ciudad de México, México.

Hernández-Arriaga, C. M. 2017. Biodegradación del herbicida atrazina por un consorcio microbiano aislado de los canales de Xochimilco. Tesis de Maestría en Ingeniería (Ingeniería Ambiental - Agua). Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. Defensa: Agosto 04. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2017/junio/0760970/Index.html>

- Hodgson, E. 2012. Biotransformation (metabolism) of pesticides. In: Pesticide biotransformation and disposition. Hodgson, E., ed. Chapter 5. Pp. 73-116. Elsevier Inc. London, U.K.
- Hou, X., Huang, X., Ai, Z., Zhao, J., Zhang, L. 2017. Ascorbic acid induced atrazine degradation. *Journal of Hazardous Materials*. 327: 71-78.
- Kamrin, M.A. 1997. Pesticide profiles. Toxicity, environmental impact, and fate. CRC Press. 675 pp. Boca Raton, FL. EE.UU.
- Khan, J.A., He, X., Shah, N.S., Sayed, M., Khan, H.M., Dionysiou, D.D. 2017. Degradation kinetics and mechanism of desethyl-atrazine and desisopropyl-atrazine in water with OH and SO₄⁻ based-AOPs. *Chemical Engineering Journal*. 325: 485-494.
- Kind, T., Tsugawa, H., Cajka, T., Ma, Y., Lai, Z., Mehta, S.S., Wohlgemuth, G., Barupal, D.K., Showalter, M.R., Arita, M., Fiehn, O. 2018. Identification of small molecules using accurate mass MS/MS search. *Mass Spectrometry Reviews*. 37(4): 513-532.
- Konstantinou, I.K., Zarkadis, A.K., Albanis, T.A. 2001. Photodegradation of selected herbicides in various natural waters and soils under environmental conditions. *Journal of Environmental Quality*. 30(1):121-130.
- LeBaron, H.M., Burnside O.C., McFarland, J. 2008. The triazine herbicides: A milestone in the development of weed control technology. In: *The triazine herbicides 50 years revolutionizing agriculture*. LeBaron, H.M., McFarland, J., Burnside, O.C., eds. Pp. 1-12. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands, New York, NY. EE.UU.

- McDougall, P. 2010. The cost of new agrochemical product discovery, development and registration in 1995, 2000 and 2005-8. Final Report.
http://www.croplife.org/files/documentspublished/1/enus/REP/5344_REP_2010_03_04_Phillips_McDougal_Research_and_Development_study.pdf.
- McMurry, J., Mondragón, C.H., Pozo, V.G. 2008. Química orgánica. Grupo Editorial Iberoamérica. 1278 pp. Ciudad de México, México.
- Moreira, A.J., Borges, A.C., Gouvea, L.F., MacLeod, T.C.O, Freschi, G.P.G. 2017. The process of atrazine degradation, its mechanism, and the formation of metabolites using UV and UV/MW photolysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 347: 160-167.
- Moscinski, J.K., Jayachandran, K., Moorman, T.B. 1996. Mineralization of the herbicide atrazine by *Agrobacterium radiobacter*. In 96th General Meeting of the American Society for Microbiology. Vol. 458. Abstr. Q-414. EE.UU.
- Navarro, S., Vela, N., Giménez, M.J., Navarro, G. 2004. Persistence of four s-triazine herbicides in river, sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. *Science of the Total Environment*. 329(1-3): 87-97.
- NIST. 2018. Libro del Web de Química del NIST. National Institute of Standards and Technology U. S. Department of Commerce. Washington, DC. EE.UU.
- Nollet, L. M. L, Toldra, F. 2015. Handbook of Food Analysis. Third Edition. Vol. II. CRC Press. New York, NY. EE.UU.
- OECD. 2004. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Hydrolysis as a function of pH. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Francia.

- Paranjape, K., Gowariker, V., Krishnamurthy, V.N., Gowariker, S. 2014. The pesticide encyclopedia. CPI Group Ltd. Pp. 479-480. Croydon, U.K.
- PMRA. 1993. Pest Management Regulatory Agency. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidelines-canadian-drinking-water-quality-guideline-technical-document-atrazine.html>
- Sherma, J., Cairns, T. 1992. Comprehensive analytical profiles of important pesticides. CRC Press. Vol. 2. Boca Raton, FL. EE.UU.
- Singh, D.K. 2012. Pesticide Chemistry and Toxicology. Bentham Science. Vol. 1. Danvers, MA. EE. UU.
https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=4Z_HmFR5CCcC&oi=fnd&pg=P1&dq=Toxicology+and+Pesticide+Chemistry+&ots=VcrP2Mq5dj&sig=k3FNnXxo211bxan3Vfd20KjhtwM#v=onepage&q=Toxicology%20and%20Pesticide%20Chemistry&f=false
- Tadeo, J. L. 2008. Analysis of pesticides in food and environmental samples. CRC Press. Boca Raton, FL. EE. UU.
- Tomlin, C. 2009. The pesticide manual: A world compendium. No. Ed. 15. British Crop Production Council. Alton, Hampshire, U.K.
- Tuzimski, T., Sherma, J. Eds. 2015. High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis. CRC Press. Vol. 109. Boca Raton, FL. EE.UU.
- USEPA. 2006. Decision documents for atrazine. United States Environmental Protection Agency.

https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-080803_1-Apr-06.pdf

Wu, S., Li, H., Li, X., He, H., Yang, C. 2018. Performances and mechanisms of efficient degradation of atrazine using peroxymonosulfate and ferrate as oxidants. *Chemical Engineering Journal*. 353: 533-541.

Zhang, L., Tian, H., Hong, R., Wang, C., Wang, Y., Peng, A., Gu, C. 2018. Photodegradation of atrazine in the presence of indole-3-acetic acid and natural montmorillonite clay minerals. *Environmental Pollution*. 240: 793-801.