

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Determinación de plaguicidas por cromatografía de gases en muestras de origen agrícola”.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciado en Química

NOMBRE DEL SUSTENTANTE:

Juan Carlos López Zárate

ASESORA:

Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

CO-ASESOR:

M. en C. Pablo Hernández Matamoros

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN.....	10
3. MARCO TEÓRICO.....	10
3.1 Analitos.....	11
3.2 Propiedades de los analitos.....	11
3.2.1 Organofosforados.....	12
3.2.2 Triazinas.....	12
3.2.3 Carbamatos.....	12
3.3 Insecticidas.....	13
3.4 Herbicidas.....	13
3.5 Fungicidas.....	13
3.6 Propiedades de las muestras.....	14
3.7 Malatión.....	14
3.7.1 Uso y forma de aplicación del malatión.....	15
3.7.2 Peligros del malatión en el ser humano.....	15
3.7.3 Mecanismo de acción del malatión.....	16
3.8 Atrazina.....	16
3.8.1 Uso y forma de aplicación de la atrazina.....	16
3.8.2 Peligros de la atrazina en el ser humano.....	17
3.8.3 Mecanismo de acción de la atrazina.....	17
3.9 Glufosinato de amonio.....	17
3.9.1 Uso y forma de aplicación del glufosinato de amonio.....	18
3.9.2 Peligros del glufosinato de amonio en el ser humano.....	18
3.9.3 Mecanismo de acción del glufosinato de amonio.....	18
3.10 Propamocarb.....	18
3.10.1 Uso y forma de aplicación del propamocarb.....	19
3.10.2 Peligros del propamocarb en el ser humano.....	19
3.10.3 Mecanismo de acción del propamocarb.....	19
4. OBJETIVOS.....	19
4.1 Objetivo general.....	19
4.2 Objetivos particulares.....	20
5. METODOLOGÍA.....	20
5.1 Reactivos.....	21
5.2 Material.....	22
5.3 Equipo.....	23
5.4 Configuración final del cromatógrafo de gases.....	23
5.5 Evaluación de las condiciones experimentales de análisis.....	23

5.6 Siembra, cuidado, cosecha y tratamiento de las muestras.....	24
5.6.1 Soluciones de plaguicidas comerciales para muestras.....	24
5.6.2 Preparación de las muestras.....	25
5.6.3 Tratamiento de la muestra.....	26
5.7 Determinación del rango de concentración óptimo de las curvas de calibración...	27
5.7.1 Estudios de recobro de la muestra fortalecida a altas concentraciones.....	27
5.7.1.1 Análisis de soluciones de referencia.....	27
5.7.1.2 Análisis de muestras fortificadas.....	28
5.7.1.3 Pruebas de reproducibilidad y determinación del recobro.....	28
5.7.2 Estudios de recobro de la muestra fortalecida a bajas concentraciones.....	28
5.8 Curvas de calibración.....	28
5.8.1 Preparación de las soluciones Stock.....	28
5.8.1.1 Soluciones Stock de estándares secundarios.....	29
5.8.1.2 Soluciones Stock a partir de estándares primarios.....	29
5.8.2 Preparación de curvas de calibración.....	29
5.8.2.1 Preparación de CC con estándares secundarios.....	29
5.8.2.2 Preparación de CC con estándares primarios.....	30
5.8.2.3 Análisis de CC en el cromatógrafo de gases.....	31
5.8.3 Cuantificación de los plaguicidas mediante análisis de las muestras.....	31
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
6.1 Intervalo de concentración.....	32
6.2 Elección de la columna cromatográfica.....	37
6.3 Prueba de disolvente.....	39
6.4 Selección del gradiente de temperatura para la columna.....	42
6.5 Estándar Interno (EI).....	45
6.6 Evaluación del tratamiento de las muestras.....	47
6.7 Estudios de recobro a alta concentración de plaguicidas.....	50
6.7.1 Soluciones de referencia.....	50
6.7.2 Reproducibilidad de estudios de recobro de muestras fortificadas.....	50
6.7.3 Estimación de la concentración de los plaguicidas en las muestras.....	54
6.8 Curvas de calibración.....	57
6.9 Constatación de los plaguicidas con estándares primarios.....	62
6.10 Determinación de plaguicidas en las muestras.....	65
7. CONCLUSIONES.....	69
8. REFERENCIAS.....	69
9. ANEXOS.....	74
9.1 Cálculos realizados.....	74
9.2 Características de especímenes obtenidos para jitomate.....	83
9.3 Características de especímenes obtenidos para zanahoria.....	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Estructura química del MLT (OEHHA, 2016).....	15
Figura 3.2. Estructura química de la ATZ (OEHHA, 2007).....	16
Figura 3.3. Estructura química del GLA (MedChemExpress, s.f.).....	17
Figura 3.4. Estructura química del PCB (MedChemExpress, s.f.).....	19
Figura 5.1. Invernadero donde se efectuó la siembra, cuidado y cosecha de las plantas..	21
Figura 5.2. 1) Gesaprim Calibre 90 ® (Fumi Insumos, s.f.), 2) Agrofusinato Forte ® (Dragón, s.f.), 3) Malation 500 ® (MercadoLibre, s.f.), 4) Previcur Energy ® (AGROPACIFICO, s.f.).....	25
Figura 5.3. Cronología de plantación de jitomate.....	26
Figura 5.4. Cronología de plantación de zanahoria.....	26
Figura 6.1. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de ATZ.....	33
Figura 6.2. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de GLA.....	34
Figura 6.3. Señales obtenidas para diferentes niveles de concentración de MLT.....	35
Figura 6.4. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de PCB.....	36
Figura 6.5. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas usando la columna ZB-WAX.....	38
Figura 6.6. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas usando la columna DB-5.....	38
Figura 6.7. Orden de polaridad de los plaguicidas con respecto a su solubilidad en agua....	39
Figura 6.8. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente acetona.....	40
Figura 6.9. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente acetonitrilo.....	41
Figura 6.10. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente agua.....	41
Figura 6.11. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas utilizando el 1° gradiente de temperatura.....	43
Figura 6.12. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas utilizando el 2° gradiente de temperatura.....	44
Figura 6.13. Cromatograma obtenido para gradiente óptimo de temperatura en la separación de la mezcla de los plaguicidas.....	44
Figura 6.14. Cromatograma obtenido para dimetilsulfóxido.....	46
Figura 6.15. Cromatograma obtenido para cafeína.....	47
Figura 6.16. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de plaguicidas con cafeína.....	47
Figura 6.17. Cromatograma obtenido para el primer método de tratamiento de la muestra de jitomate fortificado utilizando acetona.....	49
Figura 6.18. Cromatograma obtenido para el primer método de tratamiento de la muestra de zanahoria fortificada utilizando acetona.....	49
Figura 6.19. Cromatograma representativo de la primera muestra de jitomate fortificada a altas concentraciones.....	51

Figura 6.20. Cromatograma representativo de la primera muestra de zanahoria fortificada a altas concentraciones.....	52
Figura 6.21. Cromatograma del séptimo punto de 1° CC para MLT y ATZ utilizando reactivos comerciales.....	58
Figura 6.22. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de ABC en 1° CC de MLT y de ATZ.....	59
Figura 6.23. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de alturas en 1° CC de MLT y de ATZ.....	59
Figura 6.24. 7mo punto de 2° CC para MLT y ATZ utilizando reactivos comerciales.....	60
Figura 6.25. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de ABC en 2° CC de MLT y de ATZ.....	61
Figura 6.26. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de alturas en 2° CC de MLT y de ATZ.....	62
Figura 6.27. 7mo punto de la CC de MLT utilizando estándares primarios.....	63
Figura 6.28. 7mo punto de la CC de ATZ utilizando estándares primarios.....	63
Figura 6.29. Regresión lineal de relación de concentraciones vs relación de ABC para MLT en 3° CC.....	65
Figura 6.30. Regresión lineal de relación de concentraciones vs relación de ABC para ATZ en 3° CC.....	65
Figura 6.31. Cromatograma representativo de muestra de jitomate cosechado.....	66
Figura 6.32. Cromatograma representativo de muestra de zanahoria cosechada.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 6.1. Resultados observados para ATZ en diferentes niveles de concentración.....	32
Tabla 6.2. Resultados observados para GLA en diferentes niveles de concentración.....	33
Tabla 6.3. Resultados observados para MLT en diferentes niveles de concentración.....	34
Tabla 6.4. Parámetros cromatográficos de PCB en diferentes niveles de concentración...	36
Tabla 6.5. Parámetros cromatográficos para la separación de los plaguicidas con relación a la columna cromatográfica empleada.....	37
Tabla 6.6. Características observadas en la separación de los plaguicidas disueltos en acetona, acetonitrilo y agua destilada.....	41
Tabla 6.7. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en la separación de la mezcla utilizando diferentes gradientes de temperatura.....	44
Tabla 6.8. Parámetros cromatográficos obtenidos para dimetilsulfóxido.....	45
Tabla 6.9. Parámetros cromatográficos obtenidos para cafeína.....	46
Tabla 6.10. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas obtenidos en el primer método para tratamiento de jitomate fortificado.....	48
Tabla 6.11. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en soluciones de referencia a altas concentraciones.....	50
Tabla 6.12. Parámetros cromatográficos en las muestras fortificadas de jitomate a altas concentraciones.....	50
Tabla 6.13. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras fortificadas de zanahoria a altas concentraciones.....	51
Tabla 6.14. Valores de recobro a altas concentraciones de MLT obtenidos para las muestras de jitomate y reproducibilidad del método.....	52
Tabla 6.15. Valores de recobro a altas concentraciones de PCB obtenidos para las muestras de jitomate y reproducibilidad del método.....	52
Tabla 6.16. Valores de recobro a altas concentraciones de ATZ obtenidos para las muestras de zanahoria y reproducibilidad del método.....	53
Tabla 6.17. Estimación de concentraciones de MLT y ATZ en lotes de jitomate y zanahoria.	54
Tabla 6.18. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras fortificadas de jitomate a bajas concentraciones.....	55
Tabla 6.19. Datos de relación de concentraciones vs relación de ABC en las muestras fortalecidas a bajas concentraciones.....	55
Tabla 6.20. Recobro de MLT obtenido a bajas concentraciones para muestras de jitomate..	56
Tabla 6.21. Recobro de ATZ obtenido a bajas concentraciones para muestras de zanahoria.....	56
Tabla 6.22. Parámetros cromatográficos obtenidos de los plaguicidas en 1° CC para MLT y ATZ.....	57
Tabla 6.23. Datos para regresión lineal de la 1° CC de MLT y ATZ.....	58
Tabla 6.24. Parámetros cromatográficos obtenidos para la segunda curva.....	60
Tabla 6.25. Datos para regresión lineal de 2° CC de MLT y ATZ.....	61
Tabla 6.26. Parámetros cromatográficos obtenidos para estándares primarios de plaguicidas en 3° CC para MLX, MLT y ATZ.....	62

Tabla 6.27. Datos para regresión lineal de 3° CC de MLT y de ATZ.....	64
Tabla 6.28. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras reales de jitomate.....	66
Tabla 6.29. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras reales de zanahoria.....	66
Tabla 6.30. Estimación de ABC para determinar la concentración de MLT.....	68
Tabla 6.31. Estimación de ABC para determinar la concentración de ATZ.....	68
Tabla 9.1. Datos para el control de los especímenes de jitomate cosechados.....	83
Tabla 9.2. Datos para el control de los especímenes de zanahoria cosechados.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC: Área bajo la curva de pico
ATZ: Atrazina
CC: Curva de calibración
CG: Cromatografía de Gases
DER: Desviación Estándar Relativa
EI: Estándar Interno
FID: Detector de ionización de llama
GLA: Glufosinato de Amonio
i.a.: Ingrediente activo
mg: miligramos
mL: mililitros
MLT: Malatión
MLX: Malaoxón
N: Número de platos teóricos del pico
PCB: Clorhidrato de Propamocarb o Propamocarb
ppm: partes por millón
Rs: Resolución de pico
s.f.: Sin Fecha
TPP: Trifenilfosfato
TR: Tiempo de retención
W: Ancho de pico
%: Por ciento

1. RESUMEN

Los plaguicidas son productos químicos utilizados para el cuidado de cultivos, sin embargo, la aplicación inadecuada de ellos se ha convertido en una actividad altamente riesgosa. Se optimizó un método analítico para identificar cuatro plaguicidas ampliamente utilizados en la agricultura mexicana mediante la técnica de CG con detector FID para determinar la presencia y/o concentración de estos en muestras de jitomate y zanahoria provenientes de diferentes lotes sembrados, donde se establecieron condiciones de trabajo tales como: equipo cromatográfico modelo GC-2010 plus de Shimadzu con uso de software “LabSolutions CS”, columna cromatográfica DB-5, acetona como disolvente, volumen de inyección de 1 μ L, gradiente de temperatura óptimo para la separación y cafeína como EI. Se dosifica con 1.5 litros de ATZ 6 ppm y 1.5 litros de GLA 2 ppm a las muestras de zanahoria y con 1.5 litros de MLT 4 ppm y 1.5 litros de PCB 25 ppm a las muestras de jitomate. Se realizaron estudios de recobro a diferentes niveles de concentración, en donde se llevó a cabo una extracción a especímenes comerciales fortificados a valores de concentración de 4, 12 y 20 ppm y de 5,000 ppm con los que, al utilizar datos de soluciones de referencia a la misma concentración, se determinó el porcentaje remanente de los analitos posterior al tratamiento de la muestra, el cual resultó en ATZ: 44.44% y MLT: 35.29%. Se analizaron en el cromatógrafo de gases las muestras reales para determinar a través de estas, el rango de concentraciones óptimo para las curvas de calibración de ATZ y de MLT, el cual fue de 1 a 20 ppm. Se observó la presencia de PCB y MLT en jitomate, sin embargo, no se observó la presencia de GLA, pero sí la de ATZ en zanahoria; la concentración de ATZ fue 11.45 ppm y para MLT de 30.15 ppm. Se concluye que el método es efectivo para la detección de 3 de los 4 plaguicidas de interés y también es efectivo para la cuantificación de ATZ en zanahoria.

2. INTRODUCCIÓN

Los agroquímicos han sido un componente importante en la modernización de la agricultura, sin embargo, su mal uso representa un riesgo para la sociedad. Estudios recientes en nuestro país han reportado que el maíz, un ingrediente clave en nuestra dieta, es uno de los cultivos con mayor aplicación de plaguicidas, algunos prohibidos en otras partes del mundo (Programa ONU Medio Ambiente México, 2022).

Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para el cuidado de productos agrícolas que tienen el objetivo de evitar la invasión de una amplia variedad de plagas, maleza o infecciones por hongos y bacterias, siendo de vital importancia evitar al ser humano diversos efectos negativos causados por todos los mencionados.

El uso de productos químicos en la agricultura se reduce a un número limitado de compuestos, entre los cuales se utilizan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas y rodenticidas. Sin embargo, la agricultura es una actividad donde se descargan deliberadamente en el medio ambiente productos químicos para acabar con algunas formas de vida. En la actualidad, existen pruebas abrumadoras de que el uso agrícola de los plaguicidas tiene efectos negativos en la calidad del agua y provoca serias consecuencias ambientales; además, los plaguicidas pueden tener importantes consecuencias en la salud humana (FAO, 1997).

El presente trabajo tiene como objetivo de evaluar la factibilidad de desarrollar un método cromatográfico para la separación, identificación y cuantificación de atrazina (ATZ), glufosinato de amonio (GLA), malatión (MLT) y propamocarb (PCB), ampliamente usados en la agricultura en México, utilizando un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG-FID) en muestras de jitomate y zanahoria, cultivadas en condiciones controladas.

3. MARCO TEÓRICO

Los plaguicidas son de vital importancia en el sector agrícola, ya que ayudan a controlar la reproducción de plagas y enfermedades en los cultivos, reducen las pérdidas en la producción de alimentos y contribuyen al control de organismos dañinos transportados por insectos invasores. Sin embargo, la utilización de los plaguicidas se ha convertido en una actividad altamente riesgosa, debido principalmente a la toxicidad que muchos de estos generan, así como a las malas prácticas y a los usos inadecuados de los mismos, especialmente para los agricultores que, en la mayoría de las ocasiones, desconocen el manejo adecuado de estas sustancias. El medio ambiente es constantemente dañado por el uso desmedido e inadecuado de plaguicidas debido a las características tóxicas de dichas sustancias, lo cual se traduce en una contaminación del suelo, aire, agua y mantos freáticos, y que provoca modificaciones a los ecosistemas y daños a la flora y fauna silvestre (SENASICA, 2019).

3.1 Analitos

El Codex Alimentarius define a un plaguicida (pesticide en inglés) como “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a impedir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o piensos, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos” (OMS, 2010; FAO, 2010, como se citó en Rodrigo Fernández, 2018).

Los plaguicidas a su vez se pueden transformar, bajo diversas condiciones ambientales, en una gran cantidad de subproductos o productos de degradación, que en ocasiones pueden ser tan tóxicos y persistentes como los plaguicidas originales (Tang et al, 2014, como se citó en Rodrigo Fernández, 2018).

3.2 Propiedades de los analitos

Existen varias formas de clasificar a los plaguicidas, en base a (Podlesky & Coy, 1994):

- Su aptitud o efecto (insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, molusquicidas, curasemillas, desinfectantes del suelo, hormiguicidas, reguladores del crecimiento, rodenticidas, atrayentes sexuales).
- Su toxicidad (categoría I: extremadamente tóxicos, categoría II: altamente tóxicos, categoría III: medianamente tóxicos, categoría IV: ligeramente tóxicos).
- Su estructura química (organoclorados, carbamatos, bupiridilos, organofosforados, ditiocarbamatos, piretroides, otros).

3.2.1 Organofosforados

Los organofosforados son un grupo de sustancias químicas que, como su nombre lo indica, contienen uno o más grupos derivados del ácido fosfórico; son fabricados por el hombre y son usualmente insecticidas, además de ser los más utilizados en la actualidad.

Son un tipo de plaguicida que daña la enzima llamada acetilcolinesterasa, la cual es crítica para controlar señales nerviosas en el cuerpo. El daño a esta enzima mata las plagas y puede causar efectos secundarios no deseados en humanos expuestos. Dichos plaguicidas son utilizados dentro del ámbito de la agricultura, para el hogar, los jardines, la práctica veterinaria, etc. (CDC, s.f.).

3.2.2 Triazinas

Las triazinas son moléculas orgánicas con forma de anillo heterocíclico con la presencia de tres átomos de nitrógeno en su composición, utilizados para controlar plantas no deseadas mediante la inhibición de la fotosíntesis (Zhang et al., 2021, como se citó en Triazine pesticide, 2014).

Dicho tipo de plaguicidas tiene efectos residuales negativos prolongados y generan alta toxicidad debido a su capacidad de alteración endocrina y a que son cancerígenos, lo que genera riesgos potenciales para la salud y la contaminación ambiental (Yu et al., 2021, como se citó en Triazine pesticide, 2014).

3.2.3 Carbamatos

Los carbamatos son sales o ésteres del ácido carbámico que han sido ampliamente utilizados en el campo agrícola, aunque el uso de estos plaguicidas se ha visto disminuido debido a la implementación de piretroides y otros insecticidas.

Los carbamatos inhiben a la enzima acetilcolinesterasa, lo que genera un aumento de la acetilcolina en el sistema nervioso. El mecanismo de toxicidad de los plaguicidas carbamatos es similar al de los plaguicidas organofosforados; sin embargo, los carbamatos generalmente son inhibidores reversibles de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa y se eliminan rápidamente del cuerpo (CDC, 2017).

3.3 Insecticidas

Los insecticidas son productos químicos que se utilizan para el control de insectos, matándolos o repeliendo actividades indeseables o destructivas hacia los cultivos en cuestión; destacan los organofosforados, piretroides y carbamatos. Son mayormente aplicados en actividades agrícolas, de salud pública e industriales, además de que presentan usos domésticos y comerciales.

La movilización de insecticidas puede ocurrir a través de la escorrentía, es decir, a través de la propagación por medio de la lluvia, así como también por la deposición atmosférica o por el flujo subterráneo (Goring y Hamaker 1972, Moore y Ramamoorthy, 1984, como se citó en EPA 2022).

La mayoría de los insecticidas actúan directamente sobre el sistema nervioso del insecto, al inhibir, por ejemplo, a la colinesterasa, mientras que algunos otros solamente regulan el crecimiento o las endotoxinas (EPA, 2022).

3.4 Herbicidas

Los herbicidas son sustancias químicas utilizadas para la manipulación o para el control de la vegetación no deseada. Los herbicidas son aplicados con mayor frecuencia en los cultivos en hileras, antes o durante la siembra para maximizar la productividad del cultivo al minimizar la presencia de vegetales no deseados; los herbicidas se aplican en áreas

urbanas y suburbanas. También son aplicados a los cuerpos de agua para controlar las malas hierbas acuáticas. (Folmar et al. 1979, como se citó en EPA, 2022).

Los efectos potenciales de los herbicidas están influenciados por el modo de acción tóxico y por su método de aplicación (Duke, 1990, como se citó en EPA, 2022). Los herbicidas pueden inhibir la división celular, la fotosíntesis o la producción de aminoácidos, además de que imitan las hormonas naturales de crecimiento de las plantas, lo que puede generar deformidades en ellas (Ross y Childs, 1996, como se citó en EPA, 2022).

3.5 Fungicidas

Los fungicidas son sustancias químicas que se utilizan para matar o prevenir el crecimiento de hongos y de sus esporas. Es posible el uso de los fungicidas para el control de hongos que dañan a las plantas, de entre los que se encuentran especímenes como las royas, los hongos y las plagas, además de que son utilizados para el control del moho y de los hongos en otros entornos.

“Los fungicidas funcionan de varias maneras, pero la mayoría daña las membranas de las células fúngicas o interfiere con la producción de energía dentro de las células fúngicas.” (NPIC, 2022).

3.6 Propiedades de las muestras

Para esta investigación se realizó la búsqueda de muestras de origen agrícola que fueran comunes en el consumo de la población mexicana, que tuvieran una fenología similar, y que fueran adecuadas para los plaguicidas seleccionados en base al uso de estos últimos. Se optó por utilizar muestras de jitomate y de zanahoria, ya que ambos productos son altamente consumidos, teniendo el jitomate un consumo per cápita de 13.4 kg por año (Gobierno de México, 2022) y la zanahoria de 1.64 kg por año (Bastidas-Cadpata, Ruth; Valencia-Chamorro, Silvia, 2015); entre ellos cumplen con tener una fenología similar, puesto que el jitomate requiere de 100-120 días para poder ser cosechado, en donde aproximadamente a los 60 días de cultivo se observa la aparición de los primeros frutos (Agro Krebs, 2020), mientras que en el caso de la zanahoria se estima un periodo de

120-140 días de cosecha, finalizando a los 39-60 días las primeras etapas del desarrollo de la raíz y observándose un engrosamiento en la zanahoria (Vega Rojas Tatiana et. al, 2011).

Finalmente se determinó utilizar insecticidas y/o fungicidas para el caso de jitomate, mientras que para la zanahoria se determinó utilizar herbicidas, debido a que la planta de jitomate tiene una morfología suave y succulenta, característica que atrae plagas de insectos que se alimentan de su savia, así como de otras especies, donde destacan los hongos (Celuz Agro, 2019), caso contrario con la zanahoria, donde al presentar una estructura más rígida, se ve afectada principalmente por la presencia de otras hierbas o malezas que compiten por ocupar un espacio dentro de la maceta.

3.7 Malatión

Es un insecticida de tipo organofosforado, que se encuentra en el ambiente solamente como resultado de su manufactura o uso (Red universitaria de ambiente y salud, 2020). El nombre químico de este plaguicida es dietil (dimetoxitiofosforiltio) succinato (figura 3.1) y cuenta con diversos productos comerciales registrados, por ejemplo: Agromat-1000®, Carthion 1000-E®, Flythion 1000 Ce®, Gorgojil – 2®, **Malatión 500**®, Quimi-Thion®, etc. (Malatión, s.f.).

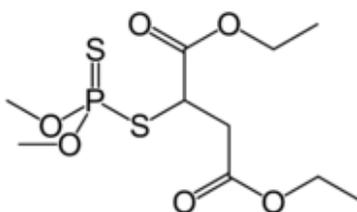


Figura 3.1. Estructura química del MLT (OEHHA, 2016).

Se puede encontrar en forma pura como un líquido incoloro, y en su presentación de calidad técnica (la cual contiene >90% de MLT) es un líquido pardo-amarillento con olor a ajo (Red universitaria de ambiente y salud, 2020) y con un punto de ebullición reportado de 156°C (Pubchem, s.f.).

3.7.1 Uso y forma de aplicación del malatión

Se usa para matar insectos en cosechas agrícolas y en jardines, para tratar piojos en humanos, pulgas en animales, para matar mosquitos y moscas de la fruta, etc. Una vez que el MLT es introducido al medio ambiente, generalmente al rociarlo sobre cosechas o sobre áreas urbanas/residenciales extensas, pequeñas gotas de MLT en el aire caen sobre el suelo, plantas, agua o cualquier superficie (ATSDR, 2016).

3.7.2 Peligros del malatión en el ser humano

Al introducirse al organismo humano, el MLT se incorpora en la corriente sanguínea, donde puede llegar a muchos órganos y tejidos. Interfiere con el funcionamiento normal del sistema nervioso y, debido a que este controla otros órganos, puede afectar indirectamente a otros órganos y sus funciones. La exposición excesiva al MLT puede producir intoxicación grave o la muerte (ATSDR, 2016). La mayor parte es degradado en el hígado a otros metabolitos, siendo el malaoxón (MLX) el metabolito mayoritario con mayor toxicidad que el MLT.

3.7.3 Mecanismo de acción del malatión

Este insecticida actúa por contacto, inhalación e ingesta, sobre el sistema nervioso de los insectos. Su mecanismo de acción primario es inhibir la acetilcolinesterasa, que por consecuencia detiene la transmisión de los impulsos nerviosos de los insectos, que quedan paralizados, caen al suelo y mueren por inanición (ADAMA, s.f.).

3.8 Atrazina

Es el nombre común de un herbicida selectivo de tipo triazina ampliamente usado en fincas. Su nombre químico es 6-cloro-N-etil-N²-(1-metiletil)-triazina-2,4-diamina (figura 3.2) y entre los nombres comerciales registrados se incluyen Aatrex®, Aatram®, Atratol®, Callisto Xtra® y **Gesaprim Calibre 90®**.

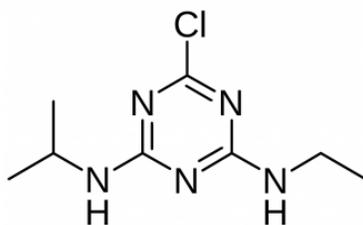


Figura 3.2. Estructura química de la ATZ (OEHHA, 2007).

Se presenta como un polvo blanco sin olor, aunque también puede adquirir una presentación como solución blanquecina. La ATZ no es reactiva ni inflamable, además de que es ligeramente soluble en agua (ATSDR, 2016) y con un punto de ebullición reportado de 205°C (Pubchem, s.f.).

3.8.1 Uso y forma de aplicación de la atrazina

La ATZ es utilizada en cosechas como caña de azúcar, maíz, piñas, sorgo y ciertos tipos de nueces; también se usa en fincas que producen pinos y áreas usadas para reforestación. Se aplica generalmente en los meses de primavera y verano y, para que sea eficaz, necesita ser disuelta en agua y entrar a las plantas a través de las raíces; actúa directamente en los brotes y las hojas de la hierba deteniendo la fotosíntesis (ATSDR, 2016).

3.8.2 Peligros de la atrazina en el ser humano

Puede afectar el sistema reproductivo de los seres humanos. Estudios indican que puede haber una conexión entre el uso de ATZ y ciertos tipos de cáncer, pero la información no es suficientemente específica para establecer una conexión definitiva (ATSDR, 2016).

3.8.3 Mecanismo de acción de la atrazina

Como un herbicida inhibidor, involucra la competencia por un sitio de enlace dentro de una membrana; al haber ligeras modificaciones en la estructura de un herbicida, pueden causar una sensibilidad diferencial entre especies de plantas.

Debido a que entre especies vegetales la proteína D1 puede presentar ligeras diferencias en su doceava secuencia de aminoácidos, una efectividad diferencial puede observarse con una molécula de herbicida (Markwell et al., 2015, como se citó en Candela, R. E., 2016).

3.9 Glufosinato de amonio

Es un herbicida no selectivo de tipo organofosforado cuyo nombre químico es 4-[hidroxi(metil)fosfinoil]-DL-homoalaninato de amonio (figura 3.3) y cuenta con productos comerciales registrados como **Agrofosinato Forte®**, Basta Técnico®, o Finale SL 14® (Glufosinato de amonio, s.f.).

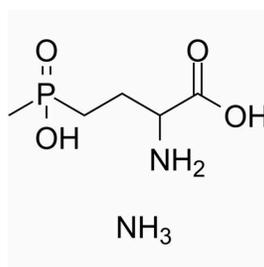


Figura 3.3. Estructura química del GLA (MedChemExpress, s.f.).

Su presentación más común es una solución azul o verde translúcida, aunque también se encuentra como polvo cristalino de color blanco a amarillo claro, altamente soluble, con olor ligeramente picante (PubChem, s.f.) y con un punto de ebullición reportado de 117°C (Tridente, 2018).

3.9.1 Uso y forma de aplicación del glufosinato de amonio

Entre las numerosas especies que controla el GLA, destacan las dicotiledóneas anuales (malezas de hoja ancha), las monocotiledóneas anuales (malezas de hoja angosta), las dicotiledóneas perennes (malezas de hoja ancha perennes) y las monocotiledóneas perennes (malezas de hoja angosta perennes). Es un herbicida primariamente de contacto con acción sistémica parcial (Portal Tecnoagrícola, s.f.).

3.9.2 Peligros del glufosinato de amonio en el ser humano

Este compuesto interfiere y afecta las actividades del glutamato como neurotransmisor del impulso nervioso a nivel de áreas específicas del cerebro humano relacionadas con el

sistema respiratorio. Altera la integridad de la pared endotelial en la zona ventricular-subventricular y altera la diferenciación neuroglial de las células madre neurales (Red universitaria de ambiente y salud, 2020).

3.9.3 Mecanismo de acción del glufosinato de amonio

Es un herbicida que causa clorosis en un periodo de tres a cinco días, que posteriormente se transforma en necrosis de los tejidos de la planta tratada en una o dos semanas. Su mecanismo de acción es la inhibición de la enzima glutamina sintetizada en el metabolismo del nitrógeno que, al ser bloqueada, provoca la acumulación de amoníaco en las plantas destruyendo las membranas celulares (DVA, 2020).

3.10 Propamocarb

Fungicida de tipo carbamato, su nombre químico es clorhidrato de propil 3-(dimetilamino) propil carbamato (figura 3.4) con productos registrados como Banol®, Dynone®, Filex®, **Previcur Energy®**, Previcur-N®, Proplantel®, etc.

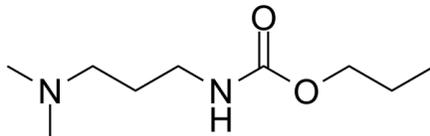


Figura 3.4. Estructura química del PCB (MedChemExpress, s.f.).

El PCB está formulado como un concentrado/líquido soluble en agua (Propamocarb Clorhidrato, s.f.) con un punto de ebullición reportado de 256.8°C (Chemnet, s.f.).

3.10.1 Uso y forma de aplicación del propamocarb

Se utiliza para controlar *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. en césped, exterior leñoso y herbáceo ornamentales. Para usos terrestres, no se puede aplicar directamente a agua, ni tampoco a áreas intermareales debajo de la marca de agua media-alta. Se aplica como inmersión a raíz, empapado y aplicación foliar, pero no se aplica a través de ningún tipo de sistema de riego (EPA, 1995).

3.10.2 Peligros del propamocarb en el ser humano

El PCB está clasificado como ligeramente tóxico para la irritación oral, dérmica y ocular en términos de toxicidad aguda y prácticamente no tóxico en términos de inhalación aguda e irritación dérmica. También se demostró que el fungicida no es un agente dérmico (EPA, 1995).

3.10.3 Mecanismo de acción del propamocarb

PCB es un fungicida sistémico que es aplicado al suelo donde es rápidamente incorporado por las raíces y distribuido de manera ascendente por toda la planta; es aplicado de manera foliar donde se absorbe y distribuye por toda la hoja. Inhibe el crecimiento y desarrollo del micelio, reduciendo la producción de esporas e interfiriendo en el metabolismo de los lípidos en la membrana celular de los hongos afectados.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la posibilidad de implementar un método analítico para identificar y cuantificar plaguicidas ampliamente utilizados en la agricultura mexicana mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama para conocer si existe una concentración remanente de plaguicidas en muestras de zanahoria y jitomate, cultivadas para este fin.

4.2 Objetivos particulares

- Optimizar las condiciones experimentales que permitan la adecuada solubilidad, disolución y separación de los cuatro plaguicidas de interés, con base a los resultados de tiempo de análisis, tiempo de retención, resolución (Rs), desviación estándar relativa, etc.
- Determinar el intervalo de concentración donde se observa una señal y se tiene una tendencia lineal en la curva de calibración, con el empleo de un estándar interno adecuado.

- Evaluar el recobro utilizando un tratamiento simple y económico de las muestras bajo estudio y determinar su reproducibilidad, mediante el uso de muestras fortificadas.
- Determinar la presencia de los plaguicidas en las muestras orgánicas cultivadas en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán mediante la metodología desarrollada y la técnica de cromatografía de gases y evaluar la posibilidad de cuantificar la concentración remanente.

5. METODOLOGÍA

La presente experimentación se desarrolló en tres partes: la primera parte fue realizada dentro del laboratorio L-113 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, donde se prepararon las soluciones y muestras que se utilizaron para los análisis cromatográficos. En esta parte se evaluaron las condiciones a utilizar durante el análisis para obtener una correcta separación de los plaguicidas variando diferentes condiciones y parámetros fisicoquímicos como disolvente, concentración de los analitos y volumen de inyección, así como gradiente de temperatura, recubrimiento de la columna, diámetro interno, etc.

La segunda parte se realizó en uno de los invernaderos del jardín botánico de la sección de morfológicas y agropecuarias, situado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, (figura 5.1) en donde se sembraron 12 lotes de jitomate y 4 lotes de zanahoria, de los cuales se dispuso 1 lote control por cada 3 lotes con plaguicida aplicado; se monitorearon los cultivos hasta que se visualizaron los primeros frutos y raíces, donde en seguida se roció MLT y PCB a los 9 lotes de jitomate y durante dos semanas ATZ y GLA a los 3 lotes de zanahoria.



Figura 5.1. Invernadero donde se efectuó la siembra, cuidado y cosecha de las plantas.

En la tercera parte se partió de la cantidad aplicada de los plaguicidas a la muestra para realizar pruebas de recobro de los analitos posterior al tratamiento de la muestra a diferentes niveles de concentración, dichas pruebas fueron realizadas por triplicado para determinar qué tan reproducible sería dicho tratamiento y así garantizar confianza en el porcentaje de recobro de los analitos. Se analizaron en el cromatógrafo de gases las muestras cosechadas y se estimó la concentración presente de MLT en jitomate y de ATZ en zanahoria para preparar de principio curvas de calibración de los dos plaguicidas utilizando estándares secundarios y una vez seleccionado el intervalo de concentraciones, preparar la curva de calibración empleando estándares primarios.

5.1 Reactivos

- Acetato de etilo, 99.80% pureza (Baker analyzed).
- Acetonitrilo R.A., 99.5% pureza (Meyer).
- Acetona R.A., 99.6% pureza (J. T. Baker).
- Acetona HPLC, 99.99% pureza (Tecsiquim).
- Agua destilada.
- ATZ, 90% equivalente a 900g de i.a./kg (Gesaprim Calibre 90 ®).
- Cafeína, 99% pureza (Merck Millipore).
- Dimetilsulfóxido, 99.8% pureza (Merck).
- Estándar de ATZ 100 ppm en acetonitrilo (LGC Standards).

- Estándar de GLA 100 ppm en agua (LGC Standards).
- Estándar de MLT 1,000 ppm en acetona (LGC Standards).
- Estándar de PCB 1,000 ppm en acetona (LGC Standards).
- GLA, 18.40% equivalente a 200g de i.a./L a 20°C (Agrofusinato Forte ®).
- MLT, 48.6% equivalente a 500g de i.a./L (Malation 500 ®).
- Muestra de jitomate tipo “Saladet” (semillas de ERGO Standard).
- Muestra de zanahoria (semillas de ERGO Standard).
- PCB, 47.20% equivalente a 530g de i.a./L a 20°C (Previcur Energy ®).
- Sulfato de sodio granular anhidro, 100% pureza (J. T. Baker).

5.2 Material

- Aire comprimido para cromatografía (5.0) Praxair.
- Hidrógeno para cromatografía (5.0) Praxair
- Nitrógeno para cromatografía (5.0) Praxair.
- Columna cromatográfica DB-5.
- Columna cromatográfica ZB-WAX.
- Embudo Büchner.
- Embudo de vidrio.
- Jeringa para CG de 10µL (Agilent Gold Standard Syringe).
- Licuadora de dos velocidades Osterizer Classic.
- Matraces volumétricos de 1, 2, 5, 10, 50 y 100 mL.
- Matraz kitasato de 250 mL.
- Micropipeta de 1-10 µL.
- Micropipeta de 10-100 µL.
- Micropipeta de 10-1,000 µL.
- Micropipeta de 20-200µL.
- Papel filtro de poro pequeño.
- Pipetas pasteur.
- Pipetas volumétricas de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL.
- Probetas de 10, 50 y 100 mL.
- Vasos de precipitados de 20, 50, 100 y 250 mL.

5.3 Equipo

- Balanza Analítica BPS 41 Plus (BOECO, Alemania).
- Equipo 1: Cromatógrafo GC 910 (Buck); software Peaksimple versión 3.29
- Equipo 2: Cromatógrafo GC-2010 plus (Shimadzu); software “LabSolutions CS”.

Nota: Ambos equipos cromatográficos estaban acoplados con un detector FID.

5.4 Configuración final del cromatógrafo de gases

- Fase móvil: Flujo de N₂= 3.0 mL/min, flujo de H₂= 40.0 mL/min, flujo de aire= 400.0 mL/min, flujo de purga= 3.0 mL/min, flujo make-up (N₂)= 30 mL/min.
- Modo de inyección: Splitless.
- Programa de temperatura: Temperatura inyector= 280°C, temperatura detector= 320°C.

5.5 Evaluación de las condiciones experimentales de análisis

Se evaluaron diferentes condiciones de trabajo: concentración de analitos, columna cromatográfica, disolvente, gradiente de temperatura y estándar interno (EI).

Rango de concentración: Para esta prueba se realizó una serie de soluciones disueltas en acetonitrilo a diferentes niveles de concentración, donde utilizando el 1° equipo cromatográfico, incorporado con la columna ZB-WAX, se midieron soluciones para cada plaguicida empleando los gradientes de temperatura descritos a continuación:

- Para MLT= 40°C, 1 min; 15°C/min; 150°C, 3 min; 5°C/min; 200°C, 2 min.
- Para ATZ / GLA / PCB= 40°C, 1 min; 15°C/min; 230°C, 5 min.

Para los sistemas, se utilizaron valores de concentración comprendidos en un rango entre 5 a 15,000 ppm mostrados a continuación:

- 2 µL de ATZ a: 20; 200; 4,000; 6,000 ppm.
- 2 µL de GLA a: 1,000; 10,000; 15,000 ppm.
- 2 µL de MLT a: 5; 50; 500; 10,000 ppm.
- 2 µL de PCB a: 300; 3,000; 10,000 ppm.

Columna cromatográfica: En esta prueba se realizó el análisis de dos diferentes columnas cromatográficas empleando la columna polar ZB-WAX y la columna poco polar DB-5. Se consideró al análisis de la separación de 2 µL de la mezcla de los 4 plaguicidas a 1,000 ppm en acetonitrilo en la columna DB-5 con el gradiente de temperatura descrito a continuación:

- 40°C, 0 min; 5°C/min; 180°C, 1 min; 15°C/min; 230°C, 6 min.

Disolvente: Se realizó el análisis para la separación de la mezcla de los plaguicidas disueltos en tres solventes: agua destilada, acetona y acetonitrilo. Para esta prueba se analizó 2 µL de la mezcla de los plaguicidas a 1,000 ppm en cada uno de los disolventes y se utilizó el gradiente de temperatura mostrado a continuación:

- 40°C, 0 min; 2°C/min; 130°C, 0 min; 3°C/min; 200°C, 0 min; 4°C/min; 240°C, 4 min.

Gradiente de temperatura óptimo: En esta prueba se realizó el análisis a la mezcla de los plaguicidas probando diferentes gradientes de temperatura, siendo el óptimo descrito a continuación:

- 50°C, 5 min; 20°C/min; 205°C, 0 min; 15°C/min; 290°C, 1 min.

Nota: A partir de este punto se descartó la cuantificación de GLA debido a la nula observación del pico representativo en los cromatogramas.

Estándar Interno: Para esta prueba se revisó en la literatura opciones de EI a ocupar, donde destacaron cafeína y dimetilsulfóxido debido a su accesible alcance; se analizó cada uno de los estándares en acetona a una concentración de 1,000 ppm, donde finalmente se seleccionó a la cafeína como EI y se realizó un análisis de la separación de la mezcla de los plaguicidas y el EI a 1,000 ppm, utilizando el gradiente de temperatura óptimo.

5.6 Siembra, cuidado, cosecha y tratamiento de las muestras

Como se mencionó anteriormente, el proyecto se realizó en tres partes, correspondiendo la siembra, cuidado, cosecha y tratamiento de las muestras a la segunda parte.

5.6.1 Soluciones de plaguicidas comerciales para muestras

Para la preparación de los plaguicidas comerciales a dosificar en las muestras se siguieron las instrucciones presentes en las fichas técnicas de los plaguicidas:

ATZ: Se vació la dosis requerida de Gesaprim Calibre 90 en el tanque de mezclado, conteniendo las 3/4 partes del volumen de agua, se agitó y posteriormente se agregó el agua faltante. Se mantuvo al sistema en constante agitación durante el mezclado (Sol. A). La muestra comercial Gesaprim Calibre 90 se encontró en la presentación mostrada en la figura 5.2.

GLA: Se llenó el tanque de mezclado a la mitad de su capacidad con agua limpia y se preparó por separado una pre-mezcla con poca agua y la dosis a emplear de AGROFUSINATO FORTE. Una vez disuelto, se vertió esta premezcla al tanque y se completó con agua sin dejar de agitar (Sol. B). La muestra comercial Agrofusinato Forte se encontró en la presentación mostrada en la figura 5.2.

MLT: Se diluyó con agua la dosis requerida de Malation 500 en el tanque de mezclado y se completó el volumen del tanque con agua limpia (Sol. C). La muestra comercial Malation 500 se encontró en la presentación mostrada en la figura 5.2.

PCB: Se vació la dosis requerida de Previcur Energy en el tanque de mezclado, donde previamente se agregó aproximadamente 1 litro de agua, se agitó y se agregó agua hasta el máximo de capacidad del tanque (Sol. D). La muestra comercial Previcur Energy se encontró en la presentación mostrada en la figura 5.2.



Figura 5.2. 1) Gesaprim Calibre 90 ® (Fumi Insumos, s.f.), 2) Agrofusinato Forte ® (Dragón, s.f.), 3) Malation 500 ® (MercadoLibre, s.f.), 4) Previcur Energy ® (AGROPACIFICO, s.f.).

5.6.2 Preparación de las muestras

Jitomate: Se realizó la siembra de semillas de jitomate de la marca ERGO Standard, al colocar dichas semillas previamente humedecidas en 1 caja de plástico con mediciones de 29 cm de largo x 29 cm de ancho x 10 cm de altura, las cuales fueron monitoreadas durante 24 semanas, donde dicho progreso se ejemplifica en la figura 5.3 a continuación.



Figura 5.3. Cronología de plantación de jitomate.

Zanahoria: Se realizó la siembra de semillas de zanahoria de la marca ERGO Standard en 4 cajas diferentes de madera con una medida de 52 cm de largo x 32 cm de ancho x 29 cm de altura cada una, se trazaron 3 hileras a lo largo de la tierra en la caja con una profundidad de aproximadamente 3 a 5 cm, y en ellas se distribuyeron uniformemente las semillas previamente hidratadas. Se realizó una constante aplicación de agua a las macetas, así como se supervisó durante 20 semanas para asegurar el crecimiento de la planta que se visualiza en la figura 5.4.



Figura 5.4. Cronología de plantación de zanahoria.

5.6.3 Tratamiento de la muestra

Se buscó el tratamiento de la muestra óptimo para las muestras considerando principalmente el tiempo empleado en el tratamiento, por ello se realizaron pruebas con dos disolventes diferentes (acetato de etilo y acetona) para las muestras. Por ello, para el método seleccionado se utilizaron muestras provenientes de un mercado local que fueron fortificadas con los plaguicidas a 3,000 ppm, realizándose lo descrito a continuación:

- 1) Las muestras se congelaron por 1 hora y se almacenaron a baja temperatura. Se colocaron aproximadamente 15-25 g de jitomate/zanahoria en una licuadora de dos velocidades Osterizer Classic y se añadieron 7-10 g de Na_2SO_4 granular anhidro y 50 mL de acetato de etilo/acetona R.A; posteriormente se mezcló durante 3 minutos a alta velocidad y la mezcla resultante se filtró al vacío, realizando tres lavados al vaso con el disolvente; si el volumen total excedió los 50 mL, se colocaba a chorro de aire de nitrógeno hasta evaporar a un menor volumen de disolvente, esta solución se transfirió a un matraz aforado de 50 mL y se aforó con el disolvente correspondiente; se almacenó y etiquetó a esta solución.

5.7 Determinación del rango de concentración óptimo de las curvas de calibración

Para el desarrollo de esta metodología, se realizaron estudios de recobro con el objetivo de estimar un rango de concentración óptimo para las CC.

5.7.1 Estudios de recobro de la muestra fortalecida a altas concentraciones

Se realizaron pruebas de recobro de los plaguicidas a altas concentraciones en las que se determinó la cantidad presente de analito posterior a su tratamiento (muestra fortalecida) con respecto a la cantidad total de una solución del plaguicida puro (solución de referencia) a mismos niveles de concentración.

5.7.1.1 Análisis de soluciones de referencia

Se prepararon soluciones para los plaguicidas a diferentes valores de concentración, siendo el representativo en este caso un valor de 5,000 ppm para MLT, PCB y para ATZ; se analizaron estas soluciones en el cromatógrafo de gases.

5.7.1.2 Análisis de muestras fortalecidas

Para este caso, se tomaron jitomates y zanahorias al azar provenientes de lotes control, los cuales fueron fortalecidos a 5,000 ppm para MLT, PCB y ATZ, y se inyectaron en el cromatógrafo de gases con las condiciones previamente establecidas.

5.7.1.3 Pruebas de reproducibilidad y determinación del recobro

Se realizó el cálculo correspondiente para determinar el porcentaje de recobro de cada plaguicida y se realizó por triplicado el análisis para observar la reproducibilidad de esta prueba.

Nota: A partir de este punto se descartó la cuantificación de PCB debido a la gran desviación estándar vista durante los análisis de reproducibilidad.

5.7.2 Estudios de recobro de la muestra fortalecida a bajas concentraciones

Se realizó el cálculo pertinente para estimar la concentración remanente de los plaguicidas en cada muestra a partir de lo aplicado en las muestras, y tras ello se efectuaron pruebas de recobro de los plaguicidas a bajas concentraciones en las que se siguió la metodología utilizada en las pruebas de recobro a altas concentraciones, utilizando en este caso 3 niveles diferentes de concentración: 4, 12 y 20 ppm.

5.8 Curvas de calibración

Para el desarrollo de este método se prepararon dos CC con el uso de estándares secundarios, es decir, con los reactivos comerciales vistos en la figura 5.2, y una tercer CC en la que se utilizaron estándares primarios provenientes de LGC Standards.

5.8.1 Preparación de las soluciones Stock

Para la preparación de las soluciones stock en las primeras dos CC, se utilizó a la muestra comercial de cada plaguicida para hacer una “solución madre” que contuvo a ambos plaguicidas a partir de sus respectivos Stocks, mientras que para la CC de estándares primarios se realizó un Stock para cada analito partiendo directamente de los estándares.

5.8.1.1 Soluciones Stock de estándares secundarios

Solución stock de ATZ: Se pesaron 14 mg de la muestra comercial Gesaprim Calibre 90 y se disolvieron en acetona hasta homogeneizar; posteriormente se trasvasó la solución generada a un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con acetona (Sol. E).

Solución stock de MLT: Dentro de una campana de vapores, se tomó con una micropipeta 21 μL de la muestra comercial Malation 500, se agregó con cuidado a un matraz volumétrico de 25 mL, posteriormente se aforó con acetona (Sol. F) y se almacenó la solución a baja temperatura.

Solución madre: Se tomaron 2 mL de la solución Stock de ATZ y 2 mL de la solución de MLT y se agregaron a un matraz volumétrico de 25 mL, posteriormente se aforó con acetona (Sol. G).

Solución del EI (cafeína): Se pesaron 12 mg de estándar de cafeína y se disolvieron en acetona; posteriormente se trasvasó el contenido de la solución del estándar de cafeína a un matraz volumétrico de 50 mL y se aforó con acetona (Sol. H).

5.8.1.2 Soluciones Stock a partir de estándares primarios

Solución stock de ATZ (estándar primario): Se vació el contenido de la ampolleta de ATZ a 100 ppm en acetonitrilo en un matraz volumétrico de 2 mL y se aforó con acetona (Sol. STD. A).

Solución stock de MLT (estándar primario): Se vació el contenido de la ampolleta de MLT a 1,000 ppm en acetona en un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con acetona (Sol. STD. B).

5.8.2 Preparación de curvas de calibración

Para cada CC se realizó una serie de 7 soluciones, es decir, 21 soluciones en total, comprendiendo un rango de concentración entre 1 a 20 ppm, realizando lo detallado a continuación:

5.8.2.1 Preparación de CC con estándares secundarios

- Primer punto de la curva: Se tomaron 0.5 mL de la solución G y 2 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 20 mL, aforando con acetona (Sol. I y Sol. I').
- Segundo punto de la curva: Se tomaron 0.5 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. J y Sol. J').
- Tercer punto de la curva: Se tomaron 1 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. K y Sol. K').
- Cuarto punto de la curva: Se tomaron 2 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. L y Sol. L').
- Quinto punto de la curva: Se tomaron 3 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. M y Sol. M').
- Sexto punto de la curva: Se tomaron 4 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. N y Sol. N').

- Séptimo punto de la curva: Se tomaron 5 mL de la solución G y 1 mL de la solución H, y se agregaron a un matraz de 10 mL, aforando con acetona (Sol. O y Sol. O’).

5.8.2.2 Preparación de CC con estándares primarios

- Primer punto de la curva: ATZ - Se tomaron 20 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. P).
MLT - Se tomaron 10 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. P’).
- Segundo punto de la curva: ATZ - Se tomaron 40 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. Q).
MLT - Se tomaron 20 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. Q’).
- Tercer punto de la curva: ATZ - Se tomaron 80 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. R).
MLT - Se tomaron 40 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. R’).
- Cuarto punto de la curva: ATZ - Se tomaron 160 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. S).
MLT - Se tomaron 80 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. S’).
- Quinto punto de la curva: ATZ - Se tomaron 240 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. T).
MLT - Se tomaron 120 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. T’).
- Sexto punto de la curva: ATZ - Se tomaron 320 μ L de la solución STD. A y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. U).
MLT - Se tomaron 160 μ L de la solución STD. B y 100 μ L de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. T’).

- Séptimo punto de la curva: ATZ - Se tomaron 400 μL de la solución STD. A y 100 μL de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. V). MLT - Se tomaron 200 μL de la solución STD. B y 100 μL de la solución H, se agregaron a un matraz de 1 mL y se aforó con acetona (Sol. V').

5.8.2.3 Análisis de CC en el cromatógrafo de gases

Fueron medidos en orden aleatorio los 7 sistemas de cada CC en diferentes días en el cromatógrafo de gases con las condiciones ya establecidas, generando las respectivas curvas.

5.8.3 Cuantificación de los plaguicidas mediante análisis de las muestras

Para el análisis de las muestras se tomaron 3 jitomates y 3 zanahorias al azar de diferentes lotes, a los que se les realizó el tratamiento de la muestra seleccionado. Posteriormente, se realizó la inyección de 1 μL de cada uno de los sistemas de las muestras tratadas de jitomate y zanahoria en el cromatógrafo de gases, se recopilaron los datos y se realizó un análisis estadístico.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se comenzó con pruebas cualitativas empleando productos comerciales para evaluar las condiciones de trabajo, se observa la forma de los picos y parámetros como la R_s , el ABC, altura, etc.

6.1 Intervalo de concentración.

Con esta prueba se observa el comportamiento de los picos en función de la concentración de los plaguicidas, a fin de evitar se deformen o no sean visibles. Se utiliza como disolvente acetonitrilo.

- En el caso de ATZ se realizaron análisis para concentraciones de 20 a 6,000 ppm. A 20 ppm no se observó ningún pico aparente, a 200 ppm se observó un pico poco visible, y al aumentar la concentración a 4,000 ppm, incrementó proporcionalmente el pico de

interés; a 6,000 ppm se observó también un incremento (tabla 6.1), con la presencia de deformación en el pico (figura 6.1).

Tabla 6.1. Resultados observados para ATZ en diferentes niveles de concentración.

Conc. (ppm)	TR (min)	Pico visible
20	17.59	No
200	17.55	Sí
4,000	17.95	Sí
6,000	17.53	Sí
Promedio	17.66	-
S	0.1982	-
%DER	1.123	-

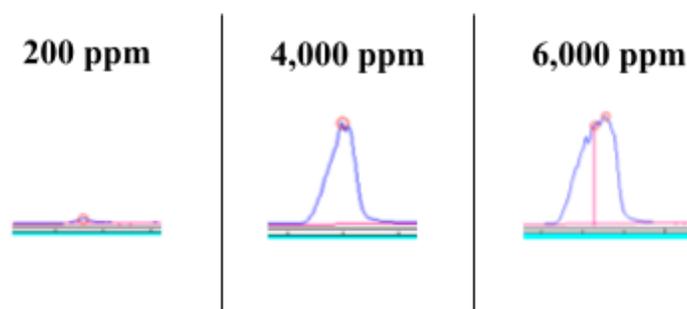


Figura 6.1. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de ATZ.

La figura 6.1 muestra los resultados del pico para ATZ, se observa que una concentración máxima de 4,000 ppm presenta un pico gaussiano adecuado y a una concentración mínima de 200 ppm se tiene certeza de la presencia de la ATZ. Los valores reportados de tiempo de retención (TR), desviación estándar (S) y desviación estándar relativa (DER) para las diferentes concentraciones son mostrados en la tabla 6.1, siendo estos valores adecuados para la identificación al presentar un valor de $DER < 2\%$. Sin embargo, pueden variar al modificar las condiciones cromatográficas en experimentos posteriores.

- Para **GLA** se realizaron análisis en un intervalo de 1,000 a 15,000 ppm (tabla 6.2). No se observó ningún pico a una concentración de 1,000 ppm, pero sí a 10,000 ppm sin ninguna deformación aparente; al aumentar la concentración a 15,000 ppm, tampoco se

observó la deformación del pico a pesar de que este aumentó de forma evidente (figura 6.2).

Tabla 6.2. Resultados observados para GLA en diferentes niveles de concentración.

Conc. (ppm)	TR (min)	Visible
1,000	-	No
10,000	3.32	Sí
15,000	3.40	Sí
Promedio	3.36	-
S	0.0566	-
%DER	1.683	-

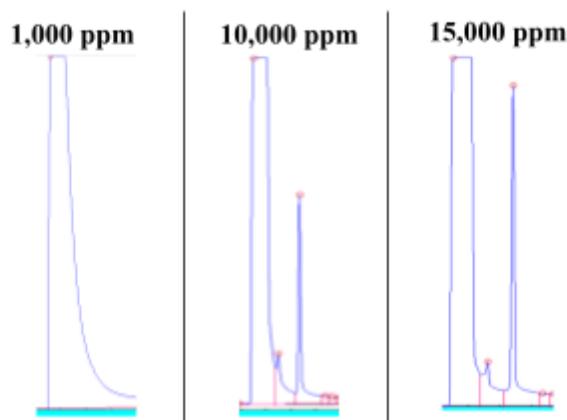


Figura 6.2. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de GLA.

La figura 6.2 muestra los resultados del pico de GLA, en donde se observa que una concentración máxima de 15,000 ppm presenta un pico gaussiano adecuado, sin embargo a una concentración mínima de 1,000 ppm fue imposible asegurar con exactitud la presencia del pico sin el uso de mayor escala. Por lo tanto, al solo tener dos puntos reportados de tiempo de retención, se determinó el tiempo de retención promedio, la desviación estándar y la desviación estándar relativa, que al ser $\%DER < 2.0$ se considera adecuado pero con un bajo nivel de confianza para las diferentes concentraciones mostradas en la tabla 6.2, siendo esto considerado en las demás pruebas experimentales.

- Con respecto a **MLT** se propuso un intervalo de concentraciones de 5 a 10,000 ppm (tabla 6.3) y los cromatogramas obtenidos (figura 6.3) presentan siempre dos picos,

siendo el primer pico Malaoxón (MLX) y el segundo (MLT), deduciéndose esto debido a que al entrar en contacto con el aire, el MLT es degradado a su metabolito principal, MLX (ATSD, 2016), y basando el orden en sus respectivos puntos de ebullición. Los picos son difícilmente visibles a 5 ppm, pero fácilmente observables a concentraciones mayores a 50 ppm. A 10,000 ppm no se observa deformación, pero el traslape entre ambos picos es mayor por el aumento de la concentración.

Tabla 6.3. Resultados observados para MLT en diferentes niveles de concentración.

Conc. (ppm)	MLX		MLT	
	TR (min)	Visible	TR (min)	Visible
5	5.98	No	6.63	No
50	6.15	Sí	6.52	Sí
500	6.18	Sí	6.53	Sí
10,000	5.97	Sí	6.58	Sí
Promedio	6.07	-	6.565	-
S	0.1105	-	0.0507	-
%DER	1.82	-	0.772	-

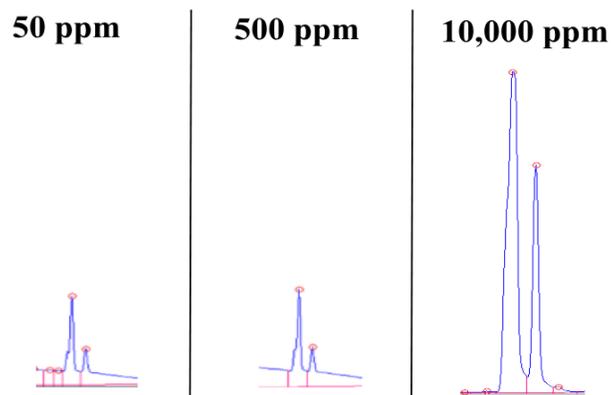


Figura 6.3. Señales obtenidas para diferentes niveles de concentración de MLT.

Para el caso de MLT cabe destacar la presencia de un patrón cromatográfico de los dos picos mencionados previamente, debido a la degradación del MLT por la exposición al calor (ATSD, 2016). Se observó durante la experimentación que el MLT genera este metabolito en proporción aproximadamente equivalente a su degradación ya que, en

pruebas realizadas a una solución de MLT en diferentes días, se notó que, al disminuir el segundo pico, incrementó el primero manteniendo una sumatoria de ABC de ambos picos casi constante, siendo esto considerado al cuantificar este analito. Mencionado lo anterior, la figura 6.3 muestra los resultados de los picos para MLT y MLX, donde se observa que una concentración máxima de 10,000 ppm se presentan picos gaussianos adecuados pero que a su vez se traslapan entre sí debido al ensanchamiento que presentaron, al disminuir a una concentración de 500 ppm se tiene certeza del patrón de picos visibles y sin traslapes entre sí, mientras que al disminuir a un mínimo de 5 ppm no fue posible identificar los picos sin el uso de un aumento en la escala. Los valores reportados de tiempo de retención promedio, desviación estándar y desviación estándar relativa para las diferentes concentraciones son mostrados en la tabla 6.3, siendo estos valores adecuados para la identificación al presentar un valor de $DER < 2\%$.

- Para **PCB** se propuso un intervalo de concentración de 300 a 10,000 ppm (tabla 6.4). A 300 ppm no se observa señal en el cromatograma (figura 6.4), pero se detecta su presencia al TR respectivo. A 3,000 ppm se observa un pico pequeño que presenta coleo y que crece proporcionalmente al aumentar la concentración a 10,000 ppm, observándose un pico vecino posterior.

Tabla 6.4. Parámetros cromatográficos de PCB en diferentes niveles de concentración.

Conc. (ppm)	TR (min)	Visible
300	13.38	No
3,000	13.33	Sí
10,000	13.17	Sí
Promedio	13.29	-
S	0.1097	-
%DER	0.825	-

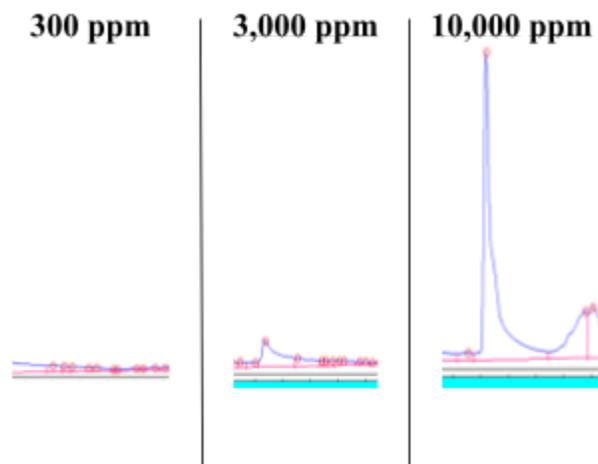


Figura 6.4. Análisis representativo para diferentes niveles de concentración de PCB.

En la figura 6.4 se muestran los resultados del pico para PCB, en la que se observa que una concentración máxima de 10,000 ppm presenta un pico gaussiano medianamente adecuado, ya que se aprecia la aparición de un pico vecino que genera un coleo en el pico, mientras que a una concentración mínima de 300 ppm no se tiene certeza de la presencia del pico incluso al aumentar la escala. Los valores reportados de tiempo de retención, desviación estándar y desviación estándar relativa para las diferentes concentraciones son mostrados en la tabla 6.4, siendo estos valores adecuados para la identificación al presentar un valor de $DER < 2\%$.

6.2 Elección de la columna cromatográfica.

Se evaluó la separación de una mezcla de plaguicidas en dos columnas de diferente polaridad, esto para determinar cuál ofrecía una mejor resolución entre los analitos sin que el número de platos teóricos (N) fuera menor de 2,000 (Deepak, 2021).

Para la columna ZB-WAX se observó una separación adecuada (figura 6.5), con valores de N superiores a mil y la Rs valores mayores a 1.5 en todos los casos con excepción del metabolito MLX (tabla 6.5).

Con la columna DB-5 (figura 6.6) se tuvo una mejor separación de los picos, con valores de N correctos y superiores para todos los compuestos estudiados, con respecto a la columna ZB-WAX. Adicionalmente los valores de resolución de los picos son mayores a los

obtenidos en la separación con la columna ZB-WAX (figura 6.5), por ello se eligió trabajar con esta última.

Tabla 6.5. Parámetros cromatográficos para la separación de los plaguicidas con relación a la columna cromatográfica empleada.

Analito	Columna ZB-WAX					Columna DB-5				
	TR (min)	W _b (min)	Rs (min)	W _{1/2} (min)	N	TR (min)	W _b (min)	Rs (min)	W _{1/2} (min)	N
ATZ	37.48	0.87	2.86	0.51	29714.49	36.53	0.17	22.92	0.11	706702
GLA	4.76	0.23	1.88	0.14	6857.50	4.59	0.08	32.07	0.04	59200
MLT	10.68	0.47	1.92	0.28	8267.12	8.905	0.14	7.55	0.09	63280
MLX	9.50	0.3	0.74	0.28	6932.50	8.084	0.08	44.46	0.05	154105
PCB	33.28	2.07	17.84	1.21	4138.41	32.06	0.22	126.85	0.12	331373

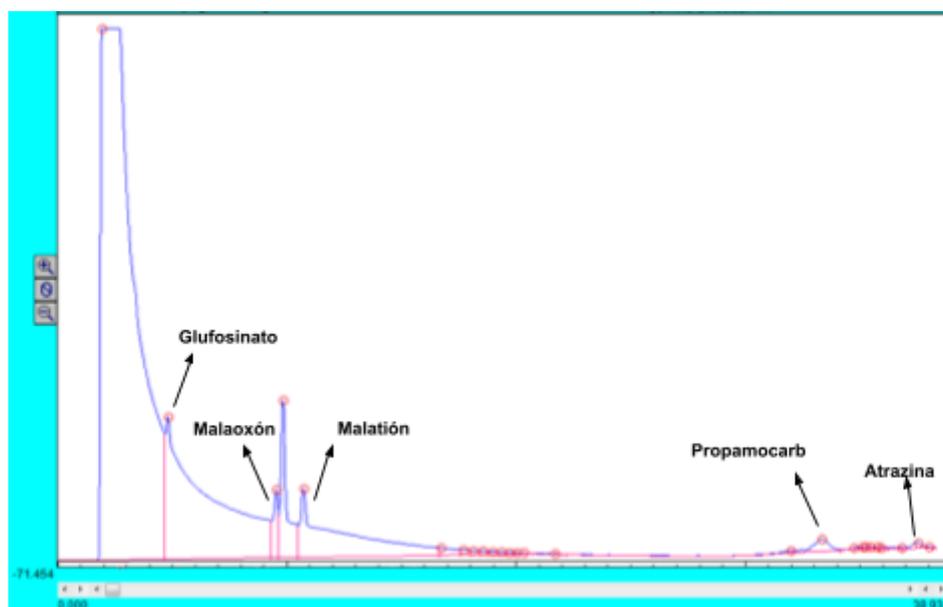


Figura 6.5. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas usando la columna ZB-WAX.

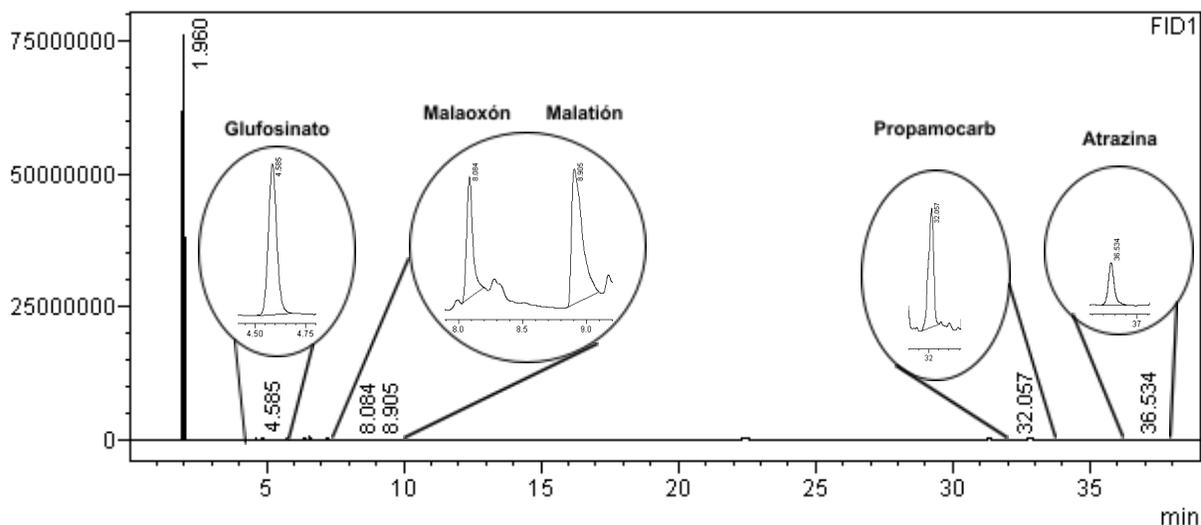


Figura 6.6. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas usando la columna DB-5.

Al ser la mayoría de los analitos compuestos poco polares, se esperaba que la columna DB-5 fuera más adecuada para la separación debido a su composición de 5% de fenilo y 95% de dimetilpolisiloxano, lo cual se vio reflejado en una mayor afinidad con respecto a la mayoría de los plaguicidas en comparación con la columna ZB-WAX, cuya composición es principalmente conformada por polietilenglicol (Agilent Technologies, 2010). Estableciendo una escala de solubilidades en agua de los plaguicidas (PubChem, s.f.), se observa que tanto ATZ como MLT son menos solubles en agua, mientras que PCB y GLA son más solubles en agua (figura 6.7) , por lo que al interactuar con una columna poco polar, los plaguicidas cercanos entre sí serían separados a diferentes velocidades de separación, mejorando la separación, en términos de R_s , de los picos.

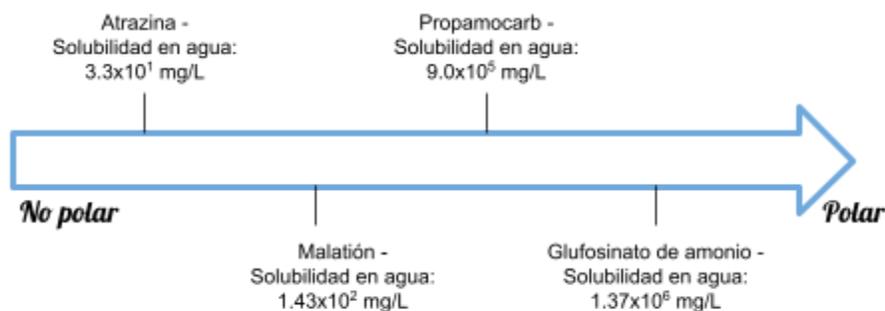


Figura 6.7. Orden de polaridad de los plaguicidas con respecto a su solubilidad en agua.

En la columna DB-5, el ancho de pico (W_b), fue menor lo que se traduce en una mejor R_s y el número de platos teóricos mayor para los 4 plaguicidas como lo demuestra la tabla 6.5. De igual manera el orden de elución de los plaguicidas es GLA>MLX>MLT>PCB>ATZ en ambas columnas. Sin embargo, GLA que es altamente polar, presenta una menor retención con respecto a la fase estacionaria de la columna y al separarlo con mayor rapidez se presentó el problema de que el pico representativo de GLA tiene un traslape con el pico del disolvente con la columna ZB-WAX de polietilenglicol, situación que no se presenta con la columna DB-5, lo que permite utilizarla en esta separación.

6.3 Prueba de disolvente

Se propuso para esta prueba evaluar disolventes medianamente polares para disolver los plaguicidas basado en los valores de momento dipolar (μ), tales como: agua ($\mu= 1.85D$), acetona ($\mu= 2.88D$) y acetonitrilo ($\mu= 3.84D$) y se evaluó el frente del disolvente (ancho) y el ruido cromatográfico asociado.

Se empleó una concentración de 1,500 ppm utilizando el mismo gradiente de temperatura, la separación obtenida se presenta en las figuras 6.8 a 6.10 a continuación.

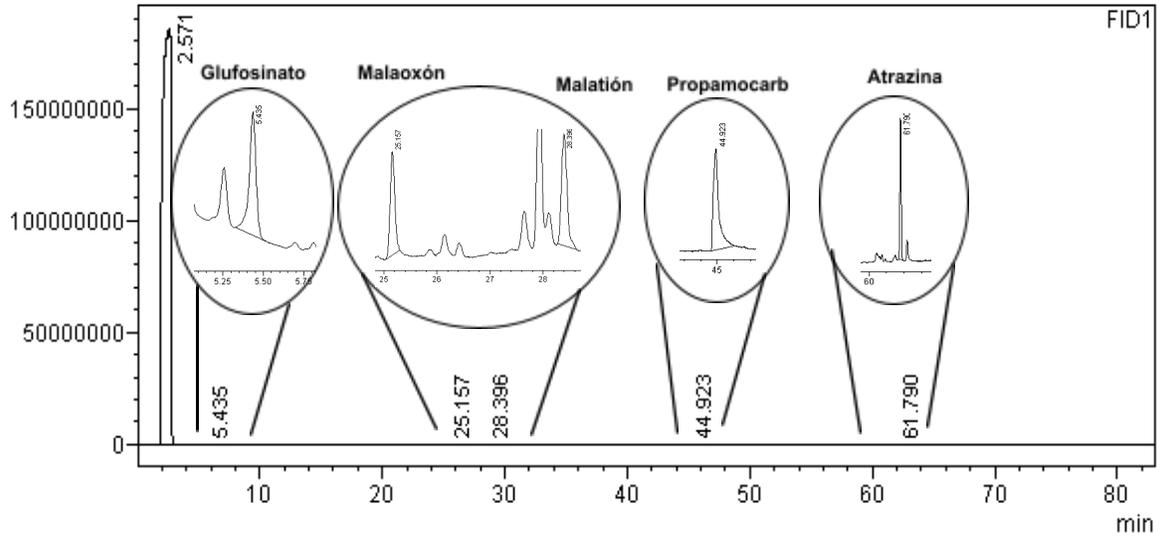


Figura 6.8. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente acetona.

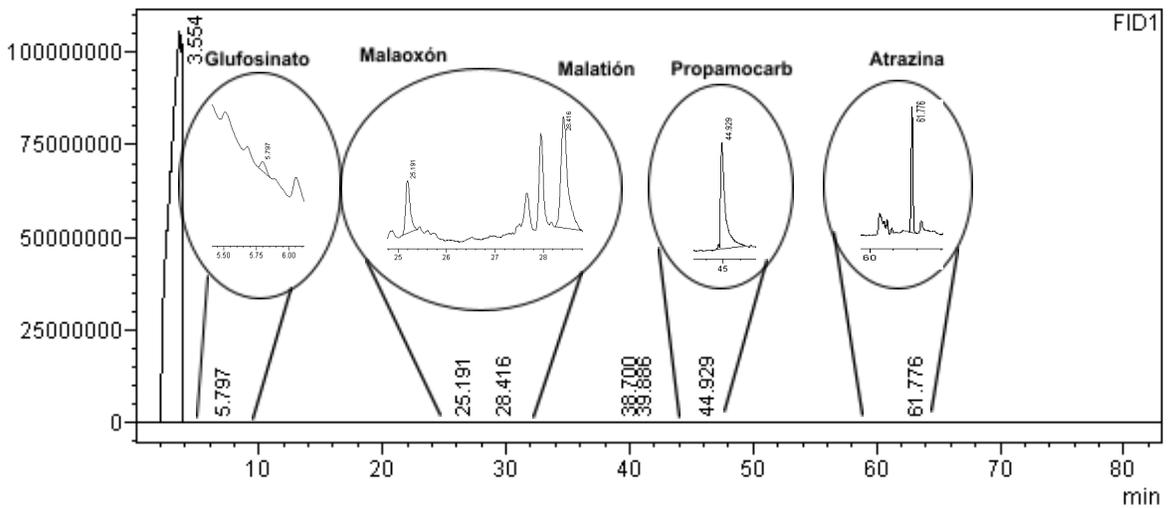


Figura 6.9. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente acetonitrilo.

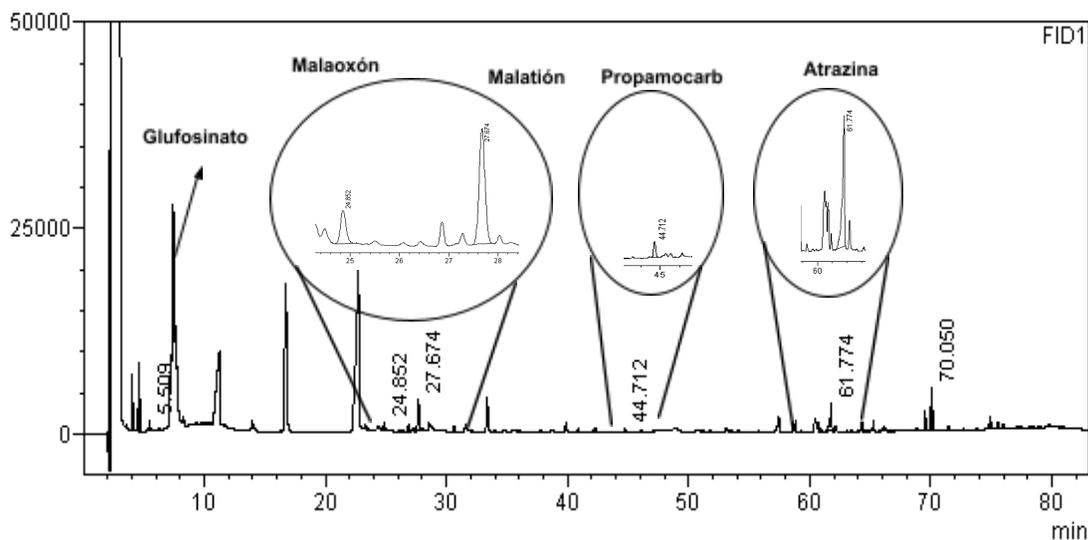


Figura 6.10. Cromatograma de la separación de la mezcla de los plaguicidas con disolvente agua.

De los resultados observados, la tabla 6.6 resume los hallazgos encontrados.

Tabla 6.6. Características observadas en la separación de los plaguicidas disueltos en acetona, acetonitrilo y agua destilada.

	Acetona	Acetonitrilo	Agua destilada
Ventajas	<ul style="list-style-type: none"> - Pico menos ancho de disolvente. - Mejores valores de ABC y altura de pico. 	<ul style="list-style-type: none"> - Valores de ABC y altura de pico mayores que en agua. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ausencia de pico de disolvente. - Mayor facilidad al disolver GLA y PCB.
Desventajas	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de pico de disolvente cercano a analitos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de pico de disolvente cercano a analitos. - Pico ancho de disolvente. - Valores de ABC y altura de pico menores que en acetona. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ruido cromatográfico excesivo. - Extinción constante de llama. - Peores valores de ABC y altura de pico. - Enturbiamiento de mezcla al disolver analitos.

Se observó que la separación de los plaguicidas en acetona generó un mayor tamaño en los valores de ABC de la mayoría de los picos de interés, debido a que se tuvo la mejor solubilidad de los plaguicidas, dentro de los 3 considerados (figura 6.8); sin embargo, el pico de la acetona se detectó cerca de los primeros analitos en separarse, pero al ser este un

pico medianamente ancho, se observó una separación mejor de GLA, MLX y MLT comparada a la efectuada utilizando acetonitrilo.

Para el análisis con acetonitrilo se observaron picos con menor ABC, además de que el pico del disolvente es notablemente más ancho y generó un traslape con el pico de GLA, disminuyendo también la resolución a los picos de MLX y MLT.

Por último, al utilizar agua destilada no se observa un pico del disolvente, esto debido a que el detector (FID) no la detecta, sin embargo, no fue posible lograr la disolución de los analitos; esto fue evidente al observar el enturbiamiento que ocurrió al agregar ATZ. Además, se tiene la presencia de mayor ruido cromatográfico y la llama del detector se apagaba durante el análisis.

Por lo anterior, se seleccionó de entre los tres disolventes evaluados, a la acetona como la mejor opción para utilizar en las siguientes pruebas.

6.4 Selección del gradiente de temperatura para la columna

Se utilizaron diferentes gradientes de temperatura, priorizando que el gradiente a seleccionar fuera capaz de separar correctamente la mezcla de plaguicidas, obteniendo valores apropiados de Rs, bajo el menor tiempo de análisis posible.

Primer gradiente: “80°C, 1 min; 30°C/min; 180°C, 0 min; 3°C/min; 205°C, 4 min; 20°C/min; 290°C, 5 min”. Se buscó obtener la separación de los picos basado en las temperaturas de ebullición de los analitos, por lo que se inició el proceso en una temperatura menor a la temperatura de ebullición del primer analito en separarse, GLA, por lo que se comenzó a una temperatura de 80°C y un incremento de la relación temperatura/tiempo en las temperaturas cercanas a los 200-250°C. Con ello se logró una separación medianamente adecuada (figura 6.11) en un tiempo de análisis de 26.17 minutos, una mínima resolución de los picos de 5.72 minutos, y un mínimo valor de número de platos de 18284, donde destaca la cercanía de picos de no interés a el pico de ATZ, además de no ser posible la visualización de GLA.

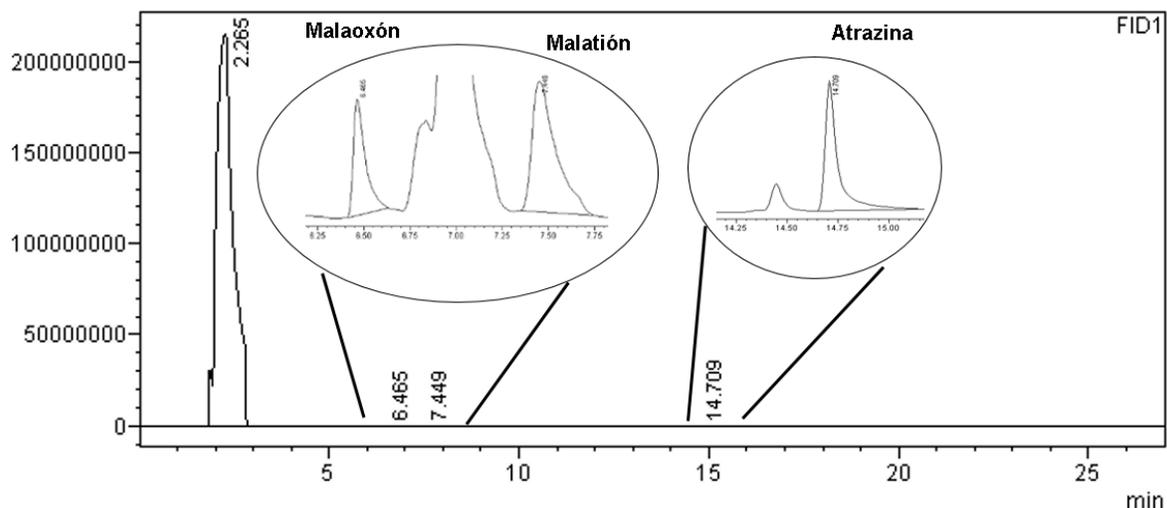


Figura 6.11. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas utilizando el 1° gradiente de temperatura.

Segundo gradiente: “50°C, 5 min; 20°C/min; 140°C, 0 min; 30°C/min; 205°C, 0 min; 15°C/min; 290°C, 1 min”. Se buscó corregir el problema de la resolución de los plaguicidas afectados, así como disminuir el tiempo total de análisis. Con este gradiente se logró disminuir el tiempo de análisis a 18.33 minutos, y la mínima resolución que se obtuvo fue de 4.01 minutos, así como el mínimo valor de número de platos fue de 30509; se mejoró la resolución de ATZ, sin embargo, se empeoró la resolución de MLX y nuevamente no se observó la presencia de GLA (figura 6.12).

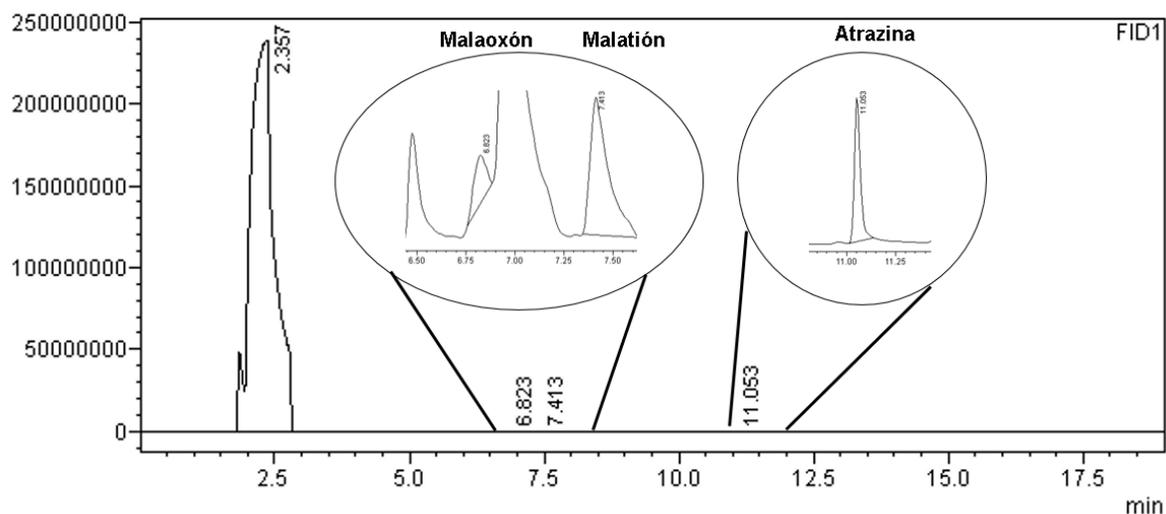


Figura 6.12. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de los plaguicidas utilizando el 2° gradiente de temperatura.

Se procedió a modificar el gradiente, incrementando la razón de temperatura/tiempo a 20°C/min en el primer intervalo de tiempo, y disminuyendo esta razón a 15°C/min de temperatura/tiempo en el intervalo de tiempo final; se establecieron las condiciones finales para la cuantificación como columna DB-5, acetona como disolvente, y utilizando el programa de temperatura: “50°C, 5 min; 20°C/min; 205°C, 0 min; 15°C/min; 290°C, 1 min”. Empleando estas condiciones (figura 6.13) se obtuvo la mejor separación manteniendo un tiempo de análisis de 20 minutos, y se obtuvo la mínima resolución de los picos de 14.59 minutos, y el mínimo valor de número de platos de 63486; se comparan los respectivos parámetros cromatográficos de los cromatogramas en la tabla 6.7.

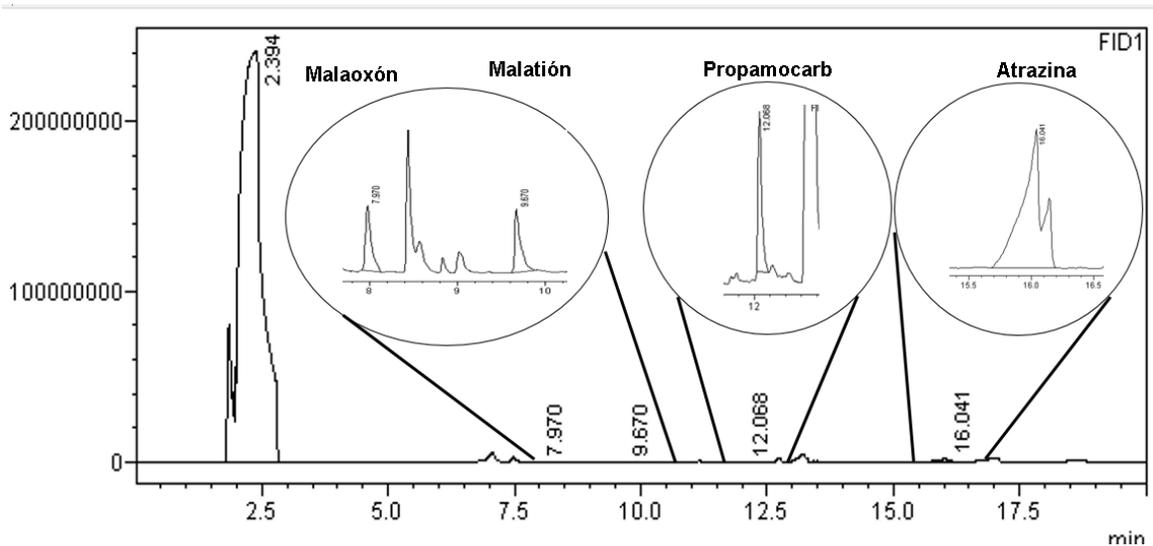


Figura 6.13. Cromatograma obtenido para gradiente óptimo de temperatura en la separación de la mezcla de los plaguicidas.

Tabla 6.7. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en la separación de la mezcla utilizando diferentes gradientes de temperatura.

Analito separado	1° gradiente			2° gradiente			Gradiente óptimo		
	Tiempo de análisis (min)	Rs (min)	N	Tiempo de análisis (min)	Rs (min)	N	Tiempo de análisis (min)	Rs (min)	N

ATZ	26.17	24.24	97685	18.33	28.81	11053 8	19.42	28.08	11101 1	
GLA		-	-		-	-		-	-	-
MLT		5.72	18284		4.01	30509		14.59	13179 6	
MLX		11.53	43599		13.32	48554		16.49	63486	
PCB		20.43	201532		26.21	45847 5		24.35	28525 6	

Siendo claramente visible (tabla 6.7) la mejora de los valores de resolución de número de platos en el gradiente óptimo, obteniendo a la vez un buen tiempo de análisis. Cabe mencionar, que a pesar de los esfuerzos para observar al pico de GLA, no fue posible separarlo del pico de disolvente, además, se observan una serie de picos que, se deduce, son aditivos o componentes de los productos comerciales utilizados para hacer estas pruebas. La separación de MLT, ATZ y PCB, con un valor de R_s superior a 1.5, además de platos teóricos mayor a los 1,000 se logró con este gradiente. Los tiempos de retención para los compuestos quedaron para ATZ en 16 min, MLX en 8 min, MLT en 10 min y PCB en 12 min con una desviación de ± 0.5 min.

6.5 Estándar Interno (EI)

En cromatografía de gases es importante el uso de un estándar interno a fin de disminuir los problemas asociados con la variabilidad en el volumen pequeño de inyección. Al buscar en la literatura (P. Ej: NCBI, 2012) opciones se destacaron los siguientes: **cafeína**, **dimetilsulfóxido**, plaguicidas deuterados (propamocarb (propil-d7), atrazina-d5, glufosinato-d3), estándar de ácido aminometilfosfónico (AMPA), estándar de TPP, otros plaguicidas (etil-paratión, glifosato, lindano, fenantreno), entre otros; estos fueron propuestos por tener similitudes estructurales con los analitos, a fin de presentar una respuesta analítica similar a la de los plaguicidas y garantizar que sean térmicamente estables y volátiles. Se evaluaron dimetilsulfóxido y cafeína por su fácil accesibilidad, baja toxicidad y principalmente a su punto de ebullición, que se reportan de 189°C (CarlRoth, 2021) y 178°C (QUIMICA.ES, s.f.).

Se analizó al estándar de dimetilsulfóxido en acetona a 1,000 ppm con el objetivo de observar al pico representativo, así como para establecer su TR y su W_b (figura 6.14) al

gradiente de temperatura seleccionado; los parámetros cromatográficos correspondientes se reportan en la tabla 6.8.

Tabla 6.8. Parámetros cromatográficos obtenidos para dimetilsulfóxido.

Analito	TR (min)	W _b (min)
Dimetilsulfóxido	6.54	0.36

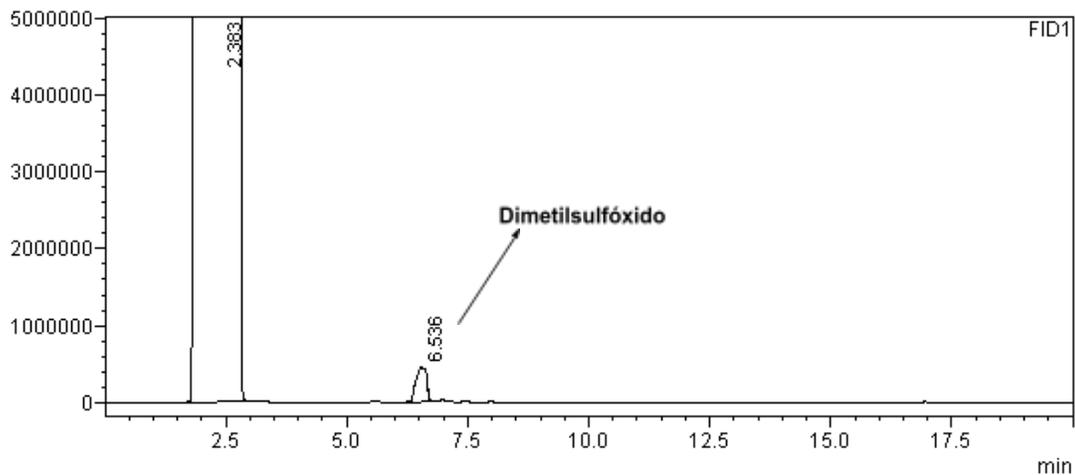


Figura 6.14. Cromatograma obtenido para dimetilsulfóxido.

Se realizó también la medición del estándar de cafeína en acetona a 1,000 ppm para comprobar la forma del pico representativo, así como para establecer su TR y su W_b (figura 6.15), donde los parámetros cromatográficos correspondientes se reportan en la tabla 6.9.

Tabla 6.9. Parámetros cromatográficos obtenidos para cafeína.

Analito	TR (min)	W _b (min)
Cafeína	16.71	0.27

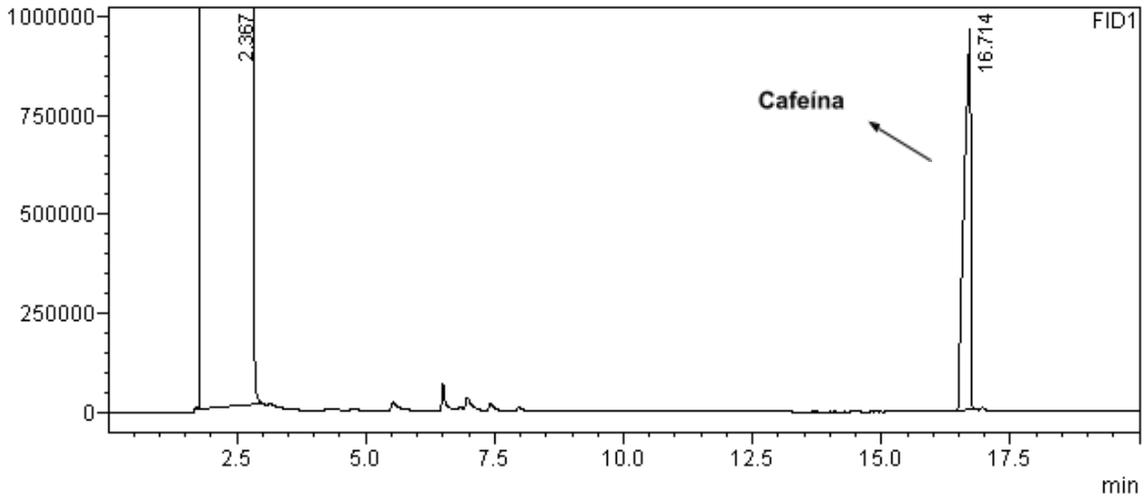


Figura 6.15. Cromatograma obtenido para cafeína.

Se seleccionó cafeína como EI debido a que el pico obtenido es más eficiente, es decir, menos ancho y su señal es más grande, además, no se traslapa con los picos de los analitos. Se identificó el TR de la cafeína en 16.5 ± 0.5 minutos de análisis

Se analizó posteriormente, la separación de la mezcla de plaguicidas con el EI de cafeína, y se identificaron los picos de ATZ, MLT, PCB y cafeína en los TR esperados, con una Rs de 2.43 min con respecto a ATZ, cuyo pico es el más cercano (figura 6.16).

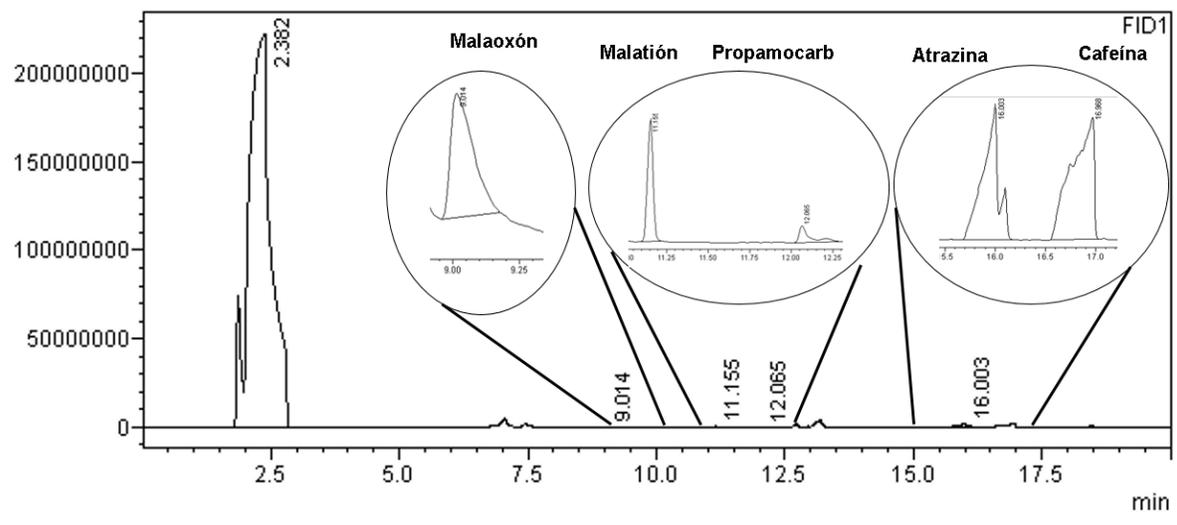


Figura 6.16. Cromatograma obtenido para la separación de la mezcla de plaguicidas con cafeína.

Al analizar la separación de la mezcla de los tres plaguicidas con cafeína (figura 6.16) se confirmó que el pico representativo del EI no interfiere con los picos representativos de los analitos en la separación de la mezcla y fue fácilmente reconocible por ser el último en separarse de la mezcla como era esperado por su punto de ebullición y, principalmente, debido a su medianamente alta polaridad, siendo este más retenido en la columna.

6.6 Evaluación del tratamiento de las muestras

En esta parte se evalúa qué método utilizar para extraer los analitos de las muestras en estudio, basado en metodologías reportadas en artículos de investigación. Algunas de ellas son extracción con evaporador rotatorio al vacío seguidas de eliminación de coextractivos con cloruro de sodio y éter dietílico (Toshihiro Nagayama *et al.*, 1996), extracción tipo QuEChERS seguido de una centrifugación (Sanjay Kumar Sahoo *et al.*, 2014), extracción simple seguida de filtración por gravedad y evaporador rotatorio (L. G. Edgerton *et al.*, 1967) y una derivatización con AMPA, glifosato y GLA seguida de una acidificación y posterior extracción con éter dietílico (Hiroyuki Kataoka *et al.*, 1996). Se comprobó también una extracción simple al licuar a alta velocidad las muestras fortificadas agregando sulfato de sodio y un disolvente medianamente polar, del que se realizaron pruebas con acetato de etilo y acetona, seguido de una filtración al vacío y finalizando con una evaporación de la muestra hasta minimizar el volumen al necesario, siendo esta última razón por la que se escogió acetona como disolvente en el tratamiento de la muestra por su más rápida volatilización (Nand K. Narain *et al.*, 2015).

Se realizó el último procedimiento mencionado a ambas muestras fortificadas utilizando acetona, debido a que al ser un procedimiento experimental más simple, es más fácil de realizar en cualquier laboratorio; se trataron los plaguicidas a una concentración de 3,000 ppm, además de que se utilizó un gradiente más amplio, cuyos TR de los picos de interés fueron caracterizados previamente, para así asegurar la observación de los picos en los cromatogramas, ya que al tratarse de una muestra orgánica, se esperó la presencia de más picos que pudieran interferir en el análisis, obteniendo de dicho método los parámetros

cromatográficos de cada muestra fortificada reportados en la tabla 6.10, representados en las figuras 6.17 para jitomate y 6.18 para zanahoria.

Tabla 6.10. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas obtenidos en el primer método para tratamiento de jitomate fortificado.

Analito	Jitomate			Zanahoria		
	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura
ATZ	-	-	-	42.10	1990657	203449
MLT	24.04	44719	7285	-	-	-
MLX	18.32	483465	71370	-	-	-
PCB	33.21	48184	11206	-	-	-

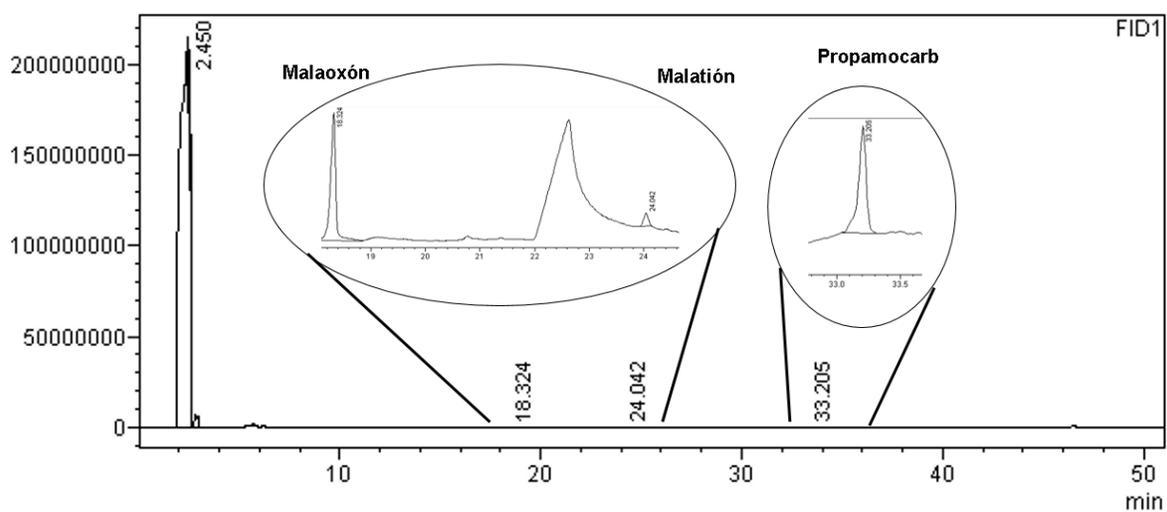


Figura 6.17. Cromatograma obtenido para el primer método de tratamiento de la muestra de jitomate fortificado utilizando acetona.

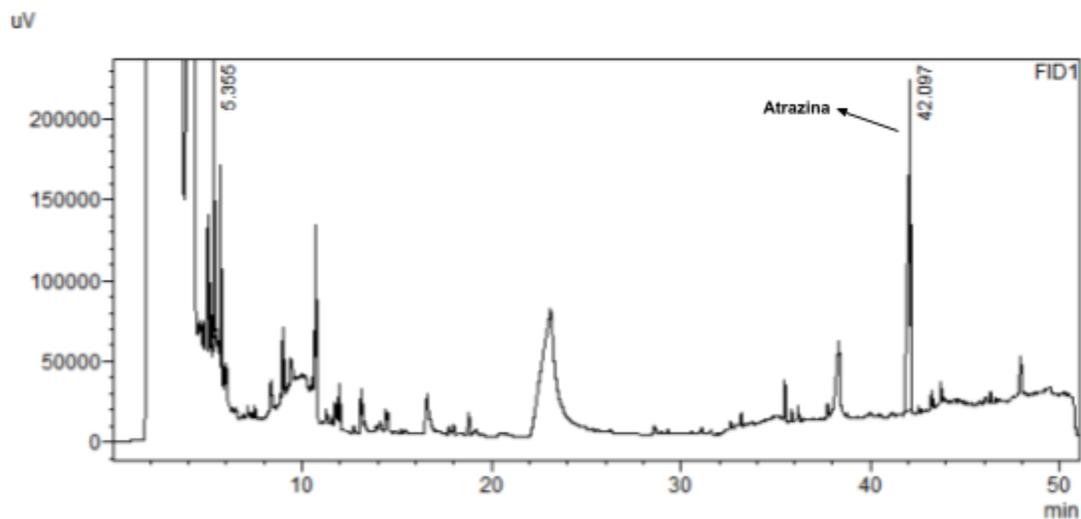


Figura 6.18. Cromatograma obtenido para el primer método de tratamiento de la muestra de zanahoria fortificada utilizando acetona.

Entonces, al analizar las ABC obtenidas de zanahoria para el método seleccionado, se observa que se obtuvo un valor significativo de los plaguicidas, comparado a los demás métodos probados, por presentar este mayor absorción de los plaguicidas.

6.7 Estudios de recobro a alta concentración de plaguicidas

Para este apartado se buscó comprobar la efectividad del tratamiento de la muestra, determinando el recobro de los analitos al establecer el porcentaje de la cantidad presente de los analitos tras el tratamiento con respecto a la cantidad presente en una solución de referencia con una misma concentración; esto fue realizado primero a altas concentraciones para asegurar que se visualicen los picos de los analitos después del tratamiento.

6.7.1 Soluciones de referencia

Se realizó el análisis de soluciones de los plaguicidas a concentración de 5,000 ppm, mismas que fueron consideradas como el 100% de analito en la solución; se reportan los parámetros cromatográficos de los picos en la tabla 6.11.

Tabla 6.11. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en soluciones de referencia a altas concentraciones.

Analito	TR (min)	ABC	Altura
ATZ	42.23	3,677,726	291,934
MLX	18.48	1,428,554	190,062
MLT	24.11	470,782	46,021
PCB	32.71	51,794,606	1,652,854

6.7.2 Reproducibilidad de estudios de recobro de muestras fortificadas

Por otra parte, se realizó el análisis a muestras control fortificadas con los plaguicidas agregados a una concentración de 5,000 ppm, considerando solo la presencia de MLT y PCB en jitomate, y de ATZ en zanahoria; se reportan los parámetros cromatográficos de los picos en la tabla 6.12 para jitomate y en la tabla 6.13 para zanahoria, con su cromatograma representativo en la figura 6.19 y 6.20 respectivamente.

Tabla 6.12. Parámetros cromatográficos en las muestras fortificadas de jitomate a altas concentraciones.

Analito	1° muestra fortificada			2° muestra fortificada			3° muestra fortificada		
	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura
MLT	23.96	43,482	5,948	24.07	44,336	7,319	24.04	44,719	7,285
MLX	18.28	487,699	80,663	18.34	483,245	79,920	18.32	483,465	71,370
PCB	32.48	19,976,717	995,700	33.21	40,655	7,319	33.21	48,184	11,206

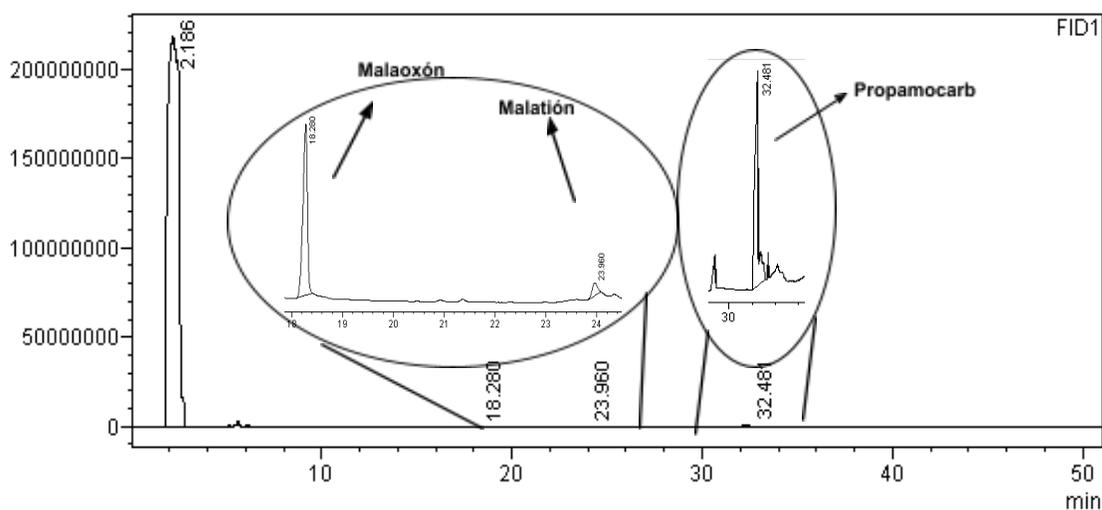


Figura 6.19. Cromatograma representativo de la primera muestra de jitomate fortificada a altas concentraciones.

Tabla 6.13. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras fortificadas de zanahoria a altas concentraciones.

Analito	1° muestra			2° muestra			3° muestra		
	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura
ATZ	42.06	2,049,173	194,344	42.09	2,039,307	202,443	42.05	2,012,322	201,370

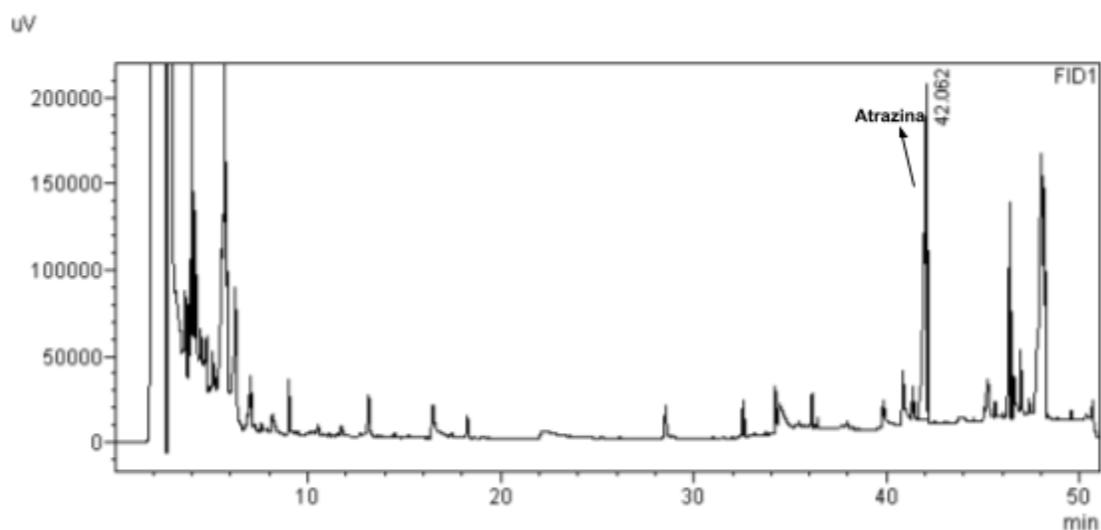


Figura 6.20. Cromatograma representativo de la primera muestra de zanahoria fortificada a altas concentraciones.

Se utilizaron los datos de las soluciones de referencia de cada plaguicida para obtener el porcentaje de analitos presentes en la muestra fortificada. Se realizaron los cálculos correspondientes y se obtuvieron los porcentajes para cada plaguicida representados en la tabla 6.14 para MLT, 6.15 para PCB y 6.16 para ATZ.

Tabla 6.14. Valores de recobro a altas concentraciones de MLT obtenidos para las muestras de jitomate y reproducibilidad del método.

ABC de solución de referencia $[ABC_{MLT} + ABC_{MLX}]$ (ABC _{referencia})	ABC de muestra fortificada $[ABC_{MLT} + ABC_{MLX}]$ (ABC _{muestra})	Porcentaje de recobro = $\left(\frac{ABC_{muestra}}{ABC_{referencia}}\right) \times 100$
1,899,336	531,181	27.97 %
1,899,336	527,581	27.78 %
1,899,336	528,184	27.81 %

	Promedio	27.85 %
	S	0.1015
	%DER	0.3645

Se aprecia con los datos de la tabla 8.14 que MLT tuvo un primer porcentaje del 27.97%, lo que indicó la pérdida considerable de analito durante el tratamiento, por lo cual se realizaron pruebas de reproducibilidad para comprobar la confianza del método y así establecer un valor fijo de recuperación de los analitos; al realizar por triplicado el análisis, se tuvo una desviación estándar de 0.1015, con ella se calculó un valor de DER de 0.3646, lo que permitió evaluar estadísticamente la reproducibilidad del tratamiento de la muestra, ya que, al ser menor que 2.0 en una técnica cromatográfica, se definió el porcentaje de recobro en el promedio obtenido, es decir, 27.85%.

Tabla 6.15. Valores de recobro a altas concentraciones de PCB obtenidos para las muestras de jitomate y reproducibilidad del método.

ABC de solución de referencia (ABC_{referencia})	ABC de muestra fortificada (ABC_{muestra})	Porcentaje de recobro = $\left(\frac{ABC_{muestra}}{ABC_{referencia}}\right) \times 100$
51,794,606	19,976,717	38.57 %
51,794,606	40,655	0.08%
51,794,606	48,184	0.09%
	Promedio	12.91%
	S	22.22
	%DER	172.07

Se calculó un primer porcentaje de recobro de PCB de 38.57%, por lo que se realizaron pruebas de reproducibilidad para confirmar la confianza del tratamiento; en este punto la cuantificación de PCB se descartó ya que fue uno de los plaguicidas donde más variación en los resultados se presentó a lo largo de todas las pruebas efectuadas, siendo en esta prueba donde más evidencia hubo de ello, al presentar una clara diferencia en las ABC obtenidas, con una desviación estándar de 22.22 y una DER de 172.07; esto se debió a la complejidad que se presentó al maniobrar este plaguicida, puesto que se generaron errores aleatorios en el tratamiento de este analito, viéndose reflejado en parámetros

cromatográficos muy distintos entre sí para las pruebas efectuadas en dicho analito, por lo que se consideró a este plaguicida solamente para su detección.

Tabla 6.16. Valores de recobro a altas concentraciones de ATZ obtenidos para las muestras de zanahoria y reproducibilidad del método.

ABC de solución de referencia (ABC _{referencia})	ABC de muestra fortificada (ABC _{muestra})	Porcentaje de recobro = $\left(\frac{ABC_{muestra}}{ABC_{referencia}}\right) \times 100$
3,677,726	2,049,173	55.72 %
3,677,726	2,039,307	55.45 %
3,677,726	2,012,322	54.72 %
	Promedio	55.30 %
	S	0.5187
	%DER	0.9381

Finalmente, analizando a ATZ se observó un porcentaje de 55.72%, el cual fue un porcentaje aceptable, sin embargo se decidió realizar pruebas de reproducibilidad como en los casos anteriores, por lo que, al repetir la prueba por triplicado para confirmar la confianza del método, se observó una desviación estándar de 0.5187 que indicó precisión en los datos, además de una DER de 0.9381, que también indica confianza en el experimento ya que al ser menor de 2.0, se estableció como porcentaje de recobro para ATZ el porcentaje promedio de 55.30%.

6.7.3 Estimación de la concentración de los plaguicidas en las muestras

Se estimó la concentración aplicada de cada plaguicida en las hortalizas, para tener una aproximación del nivel de concentración a cuantificar de cada plaguicida en cada lote (tabla 9.1 y 9.2) utilizando como base el tratamiento utilizado para la preparación de las muestras; el cálculo se ejemplifica a continuación con el lote 1 de jitomate y de zanahoria, con los datos reportados en la tabla 6.17.

MLT:

$$\frac{500g \text{ i.a. Malation 500}}{L} (10 \mu L) \left(\frac{1L}{1,000,000 \mu L} \right) = 5 \times 10^{-3} g \text{ i. a.} \left(\frac{1,000 mg}{1 g} \right) = 5 mg \text{ i. a.}$$

$$\frac{5 \text{ mg i.a.}}{9 \text{ macetas}} = \frac{0.5556 \text{ mg i.a.}}{1 \text{ maceta}} \left(\frac{1 \text{ maceta Lote 1}}{10 \text{ jitomates}} \right) = \frac{0.0556 \text{ mg i.a.}}{\text{jitomate}} \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 1.1111 \text{ ppm/jitomate}$$

ATZ:

$$\frac{900 \text{ g i.a. Gesaprim cal. 90}}{\text{kg}} (10 \text{ mg}) \left(\frac{1 \text{ kg}}{1,000,000 \text{ mg}} \right) = 9 \times 10^{-3} \text{ g i. a.} \left(\frac{1,000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \right) = 9 \text{ mg i. a.}$$

$$\frac{9 \text{ mg i.a.}}{3 \text{ macetas}} = \frac{3 \text{ mg i.a.}}{1 \text{ maceta}} \left(\frac{1 \text{ maceta Lote 1}}{13 \text{ zanahorias}} \right) = \frac{0.2308 \text{ mg i.a.}}{\text{zanahoria}}$$

$$\frac{0.2308 \text{ mg i.a.}}{\text{zanahoria}} \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = \frac{4.6154 \text{ ppm/zanahoria}}{1 \text{ aplicación de plaguicida}} (2 \text{ aplicaciones}) = \frac{9.2308 \text{ ppm}}{\text{zanahoria}}$$

Tabla 6.17. Estimación de concentraciones de MLT y ATZ en lotes de jitomate y zanahoria.

Lote	Jitomate		Zanahoria	
	Número de especímenes	Conc. promedio por espécimen (ppm)	Número de especímenes	Conc. promedio por espécimen (ppm)
1	10	1.11	13	9.23
2	17	0.65	11	10.91
3	10	1.11	8	15
4	18	0.62		
5	20	0.56		
6	14	0.79		
7	15	0.74		
8	7	1.59		
9	13	0.86		

Por lo que, partiendo de los datos obtenidos, se realizaron nuevamente pruebas de recobro a menores concentraciones con el objetivo de observar el porcentaje de recobro de cada analito al nivel de concentración de interés. Se realizó el análisis a muestras control fortificadas a 3 niveles de concentración comprendidos en la CC, los cuales fueron 4, 12 y 20 ppm, de donde se reportan los parámetros cromatográficos de los picos de interés en la tabla 6.18.

Tabla 6.18. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras fortificadas de jitomate a bajas concentraciones.

Analito	MLT	ATZ
---------	-----	-----

Conc. (ppm)	TR (min)	ABC	TR (min)	ABC
4	8.68	1849	15.27	2790
12	8.44	4762	15.27	10744
20	8.41	9142	15.36	13830

Con lo anterior calculando el valor de la relación de concentraciones vs la relación de ABC para ambos plaguicidas (tabla 6.19).

Tabla 6.19. Datos de relación de concentraciones vs relación de ABC en las muestras fortalecidas a bajas concentraciones.

Analito	Cafeína		MLT		ATZ	
	Conc. (ppm)	ABC	$\frac{C_{MLT}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{MLT}}{ABC_{EI}}$	$\frac{C_{ATZ}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{ATZ}}{ABC_{EI}}$
4	24	43567	0.17	0.04	0.17	0.06
12	24	41676	0.5	0.11	0.5	0.26
20	24	43741	0.83	0.21	0.83	0.32

Se utilizaron los datos de ABC de soluciones a misma concentración analizadas posteriormente para la 2° CC para obtener el porcentaje de analitos presentes en la muestra fortificada, ya que en ellas se consideró el 100% de los analitos al no experimentar ningún tratamiento adicional a su preparación; se realizaron los cálculos correspondientes y se obtuvieron los porcentajes para cada plaguicida representados en la tabla 6.20 para MLT y 6.21 para ATZ.

Tabla 6.20. Recobro de MLT obtenido a bajas concentraciones para muestras de jitomate.

Conc. (ppm)	Relación de ABC de referencia (Rel. ABC _{referencia})	Relación de ABC de muestra fortificada (Rel. ABC _{muestra})	Porcentaje de recobro = $\left(\frac{Rel. ABC_{muestra}}{Rel. ABC_{referencia}}\right) \times 100$
4	0.09	0.04	44.44%
12	0.17	0.11	65.71%

20	0.26	0.21	80.77%
----	------	------	--------

Se aprecia con los resultados que al disminuir la concentración de MLT, disminuye también el porcentaje de recobro, sin embargo, se asegura la confianza del método al haber realizado previamente el recobro a altas concentraciones con una DER de 0.3645, que indicó la repetibilidad en el método, por lo que se tomó el porcentaje del nivel de concentración más cercano a lo aplicado a las cosechas, es decir, 4 ppm, estableciendo así un porcentaje de recobro de 44.44%.

Tabla 6.21. Recobro de ATZ obtenido a bajas concentraciones para muestras de zanahoria.

Conc. (ppm)	Relación de ABC de referencia (Rel. ABC _{referencia})	Relación de ABC de muestra fortificada (Rel. ABC _{muestra})	Porcentaje de recobro = $\left(\frac{Rel. ABC_{muestra}}{Rel. ABC_{referencia}}\right) \times 100$
4	0.17	0.06	35.29%
12	0.66	0.26	39.39%
20	1.30	0.32	24.62%

Mientras que con ATZ, los resultados varían entre sí, pero al igual que en el caso de MLT, se asegura la confianza del método con la prueba de recobro a altas concentraciones previa, que con una DER de 0.9381, indicó la repetibilidad del método, por lo que se consideró el porcentaje del nivel de concentración más cercano a lo aplicado a las cosechas, 4 ppm, estableciendo así un porcentaje de recobro de 35.29%.

6.8 Curvas de calibración

Se realizó primeramente una CC propuesta con rangos de concentración de 1 a 20 ppm para MLT y para ATZ, basado en las concentraciones esperadas de ambos plaguicidas ya sea por la estimación en la tabla 6.17 que fue entre 0.56 a 1.59 ppm para MLT y entre 9.23 a 15 ppm para ATZ, o por la dosis aplicada a los lotes en el invernadero que fue de 3.99 y 6 ppm respectivamente, usando una concentración constante de EI de 24 ppm; se realizó esta primera con estándares secundarios, es decir, con el uso de los reactivos comerciales previamente detallados debido a la poca accesibilidad de los estándares primarios con la

que se contó; se utilizó para el análisis un gradiente de temperatura que permitió observar la separación de los picos y se reportaron los resultados en la tabla 6.22, con el gráfico representativo del punto más concentrado en la CC en la figura 6.21.

Tabla 6.22. Parámetros cromatográficos obtenidos de los plaguicidas en 1° CC para MLT y ATZ.

Analito	MLT			ATZ		
	Conc. (ppm)	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC
1	6.39	1,759	641	11.4	1,940	547
2	6.35	4,187	1,258	11	4,330	454
4	6.59	7,318	3,505	11.71	9,104	3,602
8	6.6	11,794	3,187	11.4	17,501	2,054
12	6.6	20,136	6,024	11.4	25,032	2,639
16	6.6	24,304	4,639	11.39	36,566	4,730
20	6.6	30,480	5,670	11.38	47,848	8,417
Promedio	6.53			Promedio	11.38	
S	0.11			S	0.21	
%DER	1.71			%DER	1.81	

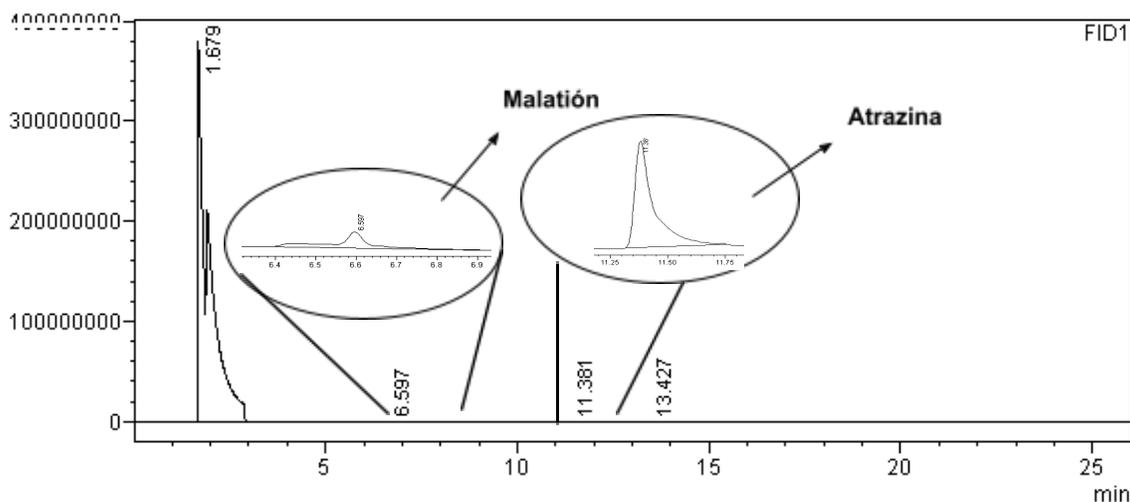


Figura 6.21. Cromatograma del séptimo punto de 1° CC para MLT y ATZ utilizando reactivos comerciales.

Con el objetivo de tener análisis más precisos, se confirmaron los TR de ambos plaguicidas realizando un análisis estadístico de la DER a los tiempos observados en los lugares esperados y se observó un valor por debajo de 2 en ambos casos, confirmando así la confianza en los resultados (tabla 6.22). De igual manera son reportados los datos necesarios para obtener la regresión lineal de la curva en la tabla 6.23 y ejemplificados en la figura 6.22 para el gráfico de relación de ABC vs relación de concentraciones y 6.23 para el gráfico de relación de alturas vs relación de concentraciones.

Tabla 6.23. Datos para regresión lineal de la 1° CC de MLT y ATZ.

Punto de la curva	Cafeína			MLT			ATZ		
	Conc. EI (ppm)	ABC EI	Altura EI	$\frac{C_{MLT}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{MLT}}{ABC_{EI}}$	$\frac{Altura_{MLT}}{Altura_{EI}}$	$\frac{C_{ATZ}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{ATZ}}{ABC_{EI}}$	$\frac{Altura_{ATZ}}{Altura_{EI}}$
1	24	41,697	6,487	0.04	0.04	0.10	0.04	0.05	0.08
2	24	39,393	1,544	0.08	0.11	0.82	0.08	0.11	0.29
3	24	39,630	5,928	0.17	0.19	0.59	0.17	0.23	0.61
4	24	40,313	2,510	0.33	0.29	1.27	0.33	0.43	0.82
5	24	40,346	2,018	0.5	0.50	2.99	0.5	0.62	1.31
6	24	40,688	2,184	0.67	0.60	2.12	0.67	0.90	2.17
7	24	41,309	2,419	0.83	0.74	2.34	0.83	1.16	3.48

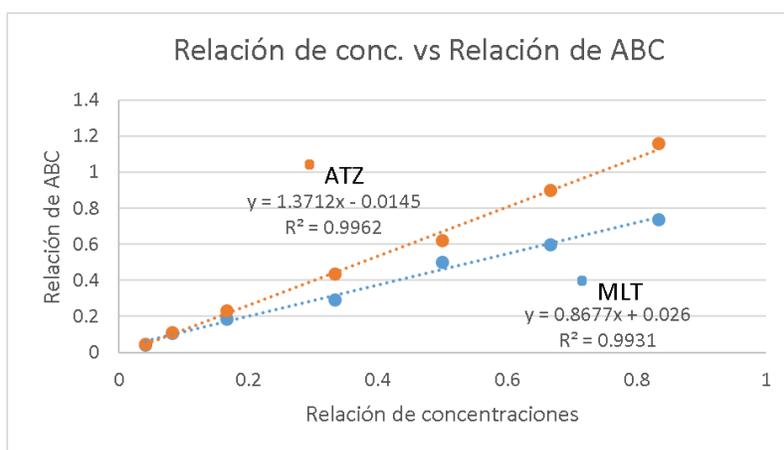


Figura 6.22. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de ABC en 1° CC de MLT y de ATZ.

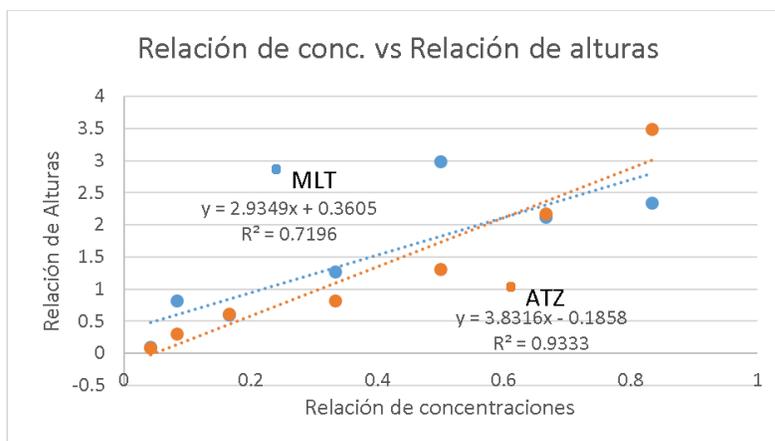


Figura 6.23. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de alturas en 1° CC de MLT y de ATZ.

Se analizó la 1° CC, en ella se observó un valor de r^2 de 0.9931 para MLT y de 0.9962 para ATZ al graficar la relación de concentraciones vs la relación de ABC de los 7 puntos en la curva, sin embargo, al graficar la relación de concentraciones vs la relación de alturas de los picos no se observa una tendencia lineal, teniendo valores menores para la r^2 de 0.7196 y 0.9333 respectivamente, ambos resultados menores al límite permitido de 0.98 para considerar la linealidad. Se realiza una segunda curva de calibración con diferentes soluciones recién preparadas para observar el comportamiento de ambos plaguicidas. Los datos obtenidos se reportan en la tabla 6.24 y en la figura 6.24 se muestra el cromatograma del punto más concentrado.

Tabla 6.24. Parámetros cromatográficos obtenidos para la segunda curva.

Analito	MLT			ATZ		
	Conc. (ppm)	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC
2	6.59	2,981	1,254	11.44	2,551	431
4	6.59	3,664	1,088	11.43	6,895	809
8	6.59	4,642	1,094	11.4	15,679	2,201
12	6.59	6,724	1,884	11.39	25,910	3,662
16	6.59	8,681	1,590	11.37	41,154	6,947

20	6.59	10,400	1,597	11.36	52,433	11,531
Promedio	6.59		Promedio	11.40		
S	9.72×10^{-16}		S	0.03		
%DER	1.48×10^{-14}		%DER	0.28		

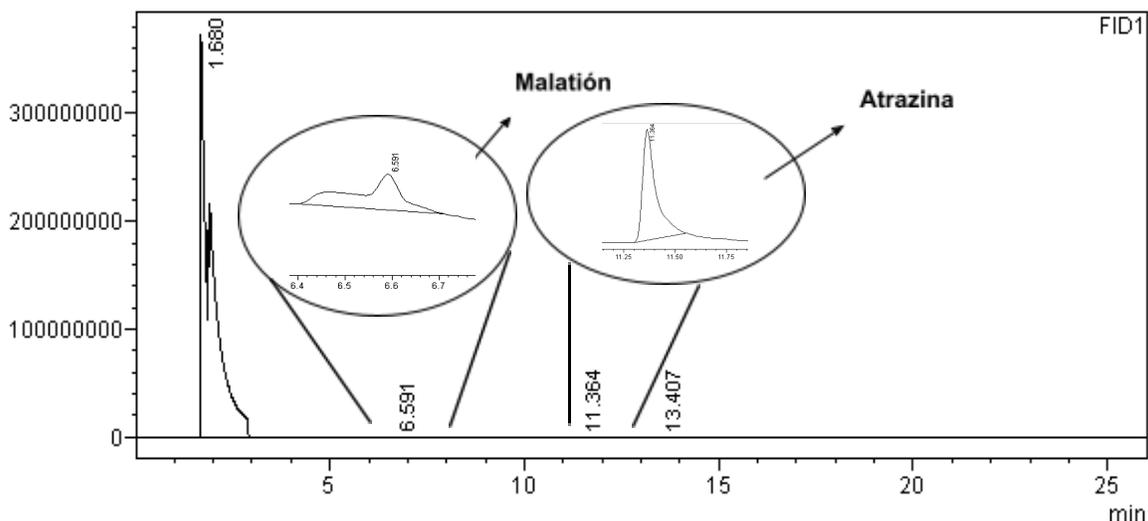


Figura 6.24. 7mo punto de 2° CC para MLT y ATZ utilizando reactivos comerciales.

Nuevamente se confirmaron los TR de los plaguicidas, manteniendo una DER por debajo del 2% en ambos casos, confirmando así la confianza en los resultados (tabla 6.24). También se calcularon los datos necesarios para obtener la regresión lineal de la curva (tabla 6.25) y se representan los gráficos de relación de ABC vs relación de concentraciones (figura 6.25) y de relación de alturas vs relación de concentraciones (figura 6.26) para la 2° CC realizada.

Tabla 6.25. Datos para regresión lineal de 2° CC de MLT y ATZ.

Analito	Cafeína			MLT			ATZ		
	Conc. EI (ppm)	ABC EI	Altura EI	$\frac{C_{MLT}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{MLT}}{ABC_{EI}}$	$\frac{Altura_{MLT}}{Altura_{EI}}$	$\frac{C_{ATZ}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{ATZ}}{ABC_{EI}}$	$\frac{Altura_{ATZ}}{Altura_{EI}}$
1	24	40,549	3,064	0.08	0.07	0.41	0.08	0.06	0.14
2	24	41,078	2,499	0.17	0.09	0.44	0.17	0.17	0.32
3	24	40,139	2,576	0.33	0.12	0.43	0.33	0.39	0.85
4	24	39,307	2,323	0.5	0.17	0.81	0.5	0.66	1.58

5	24	39,437	2,440	0.67	0.22	0.65	0.67	1.04	2.85
6	24	40,471	2,749	0.83	0.26	0.58	0.83	1.30	4.20

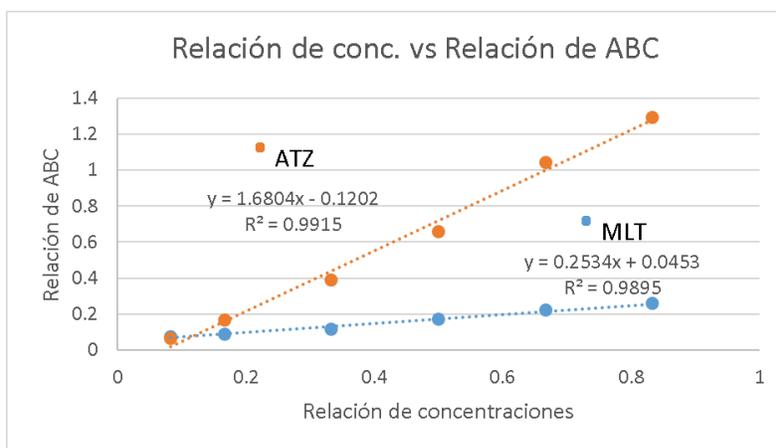


Figura 6.25. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de ABC en 2° CC de MLT y de ATZ.

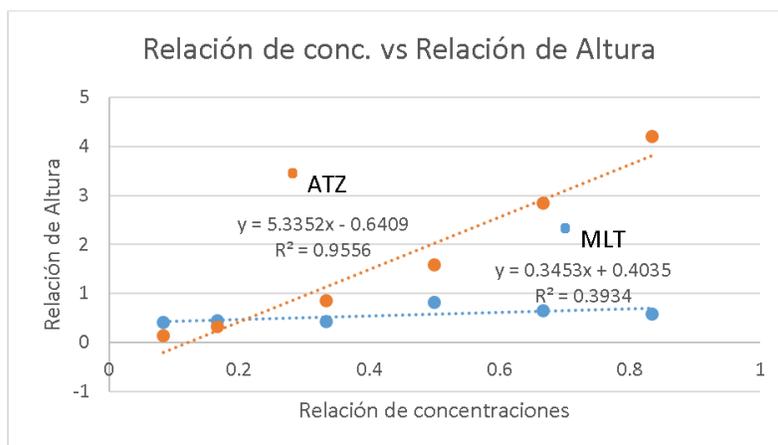


Figura 6.26. Regresión lineal para relación de concentraciones vs relación de alturas en 2° CC de MLT y de ATZ.

Para esta 2° CC se observó nuevamente la linealidad en el caso de ambos plaguicidas al graficar la relación de concentraciones vs la relación de ABC, obteniendo valores de r^2 de 0.9895 para MLT y 0.9915 para ATZ. Por el contrario, al graficar la relación de concentraciones vs la relación de alturas de los picos, en donde no se obtuvo linealidad con respecto a ambos plaguicidas, siendo la r^2 de 0.3934 para MLT y 0.9556 para ATZ, y de los cuales, nuevamente fue muy lejano el valor de MLT al mínimo permitido, ello se explica

debido a la cercanía de este con el pico del disolvente, que al extenderse por las impurezas del reactivo utilizado, generó una línea base mucho mayor a cero. Por lo anterior se establecieron condiciones adicionales a utilizar para los análisis de la CC con estándares primarios: utilizar acetona grado HPLC o un reactivo sin previo uso y no considerar la altura como parámetro de cuantificación debido a la poca confianza de los resultados de r^2 de ambos plaguicidas.

6.9 Constatación de los plaguicidas con estándares primarios

Se realizó una curva con estándares primarios para confirmar de esta forma la presencia de los plaguicidas a los TR establecidos en las pruebas previas y posteriormente cuantificar a los analitos; primero se realizó el análisis a las soluciones Stock de cada plaguicida y se pudo observar nuevamente la presencia de dos picos resaltantes en la solución de MLT, esto debido a que el plaguicida no fue degradado. Se prepara y analiza la curva (tercera curva) y los resultados se reportan en la tabla 6.26, y el cromatograma del punto más concentrado de la curva de MLT se presenta en la figura 7.27, y el punto más concentrado de la curva de ATZ en la figura 7.28.

Tabla 6.26. Parámetros cromatográficos obtenidos para estándares primarios de plaguicidas en 3° CC para MLX, MLT y ATZ.

MLT			ATZ		
Conc. (ppm)	TR (min) [MLX; MLT]	ABC $[ABC_{MLT} + ABC_{MLX}]$	Conc. (ppm)	TR (min)	ABC
1	8.14; 10.13	116,356	2	15.82	567
2	8.09; 10.12	129,361	4	15.52	1,103
8	8.29; 10.15	164,339	8	15.82	2,298
12	8.28; 10.15	177,568	12	15.82	4,011
16	8.22; 10.14	206,004	16	15.76	6,056
20	8.19; 10.14	238,039	20	15.77	7,922
Promedio	8.21; 10.14		Promedio	15.75	
S	0.07; 0.01		S	0.12	
%DER	0.89; 0.11		%DER	0.74	

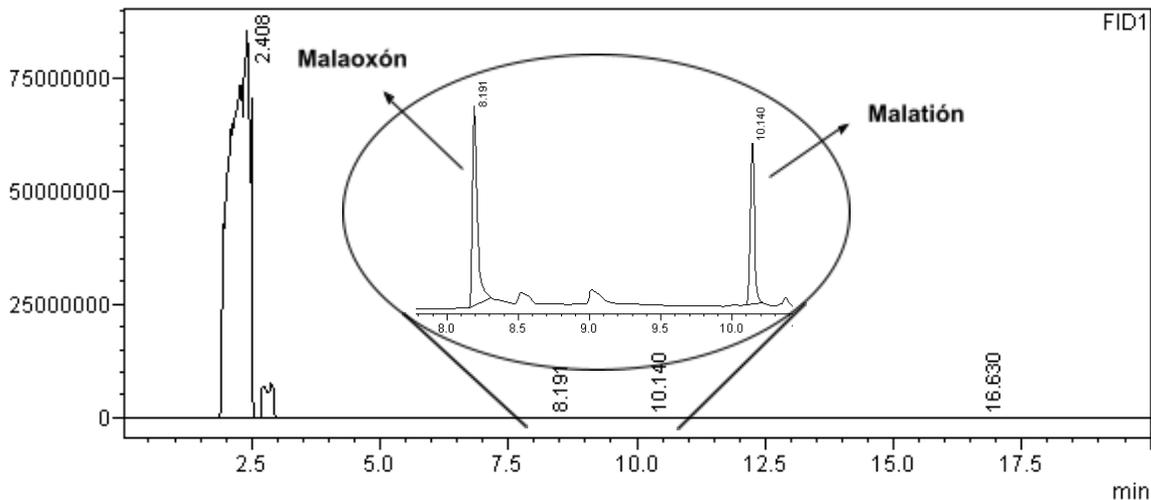


Figura 6.27. 7mo punto de la CC de MLT utilizando estándares primarios.

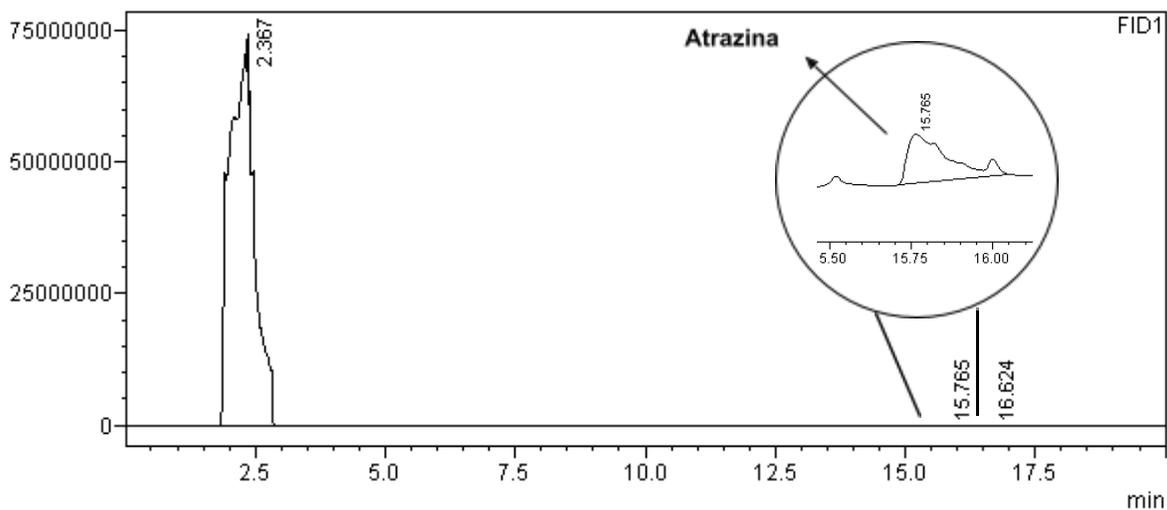


Figura 6.28. 7mo punto de la CC de ATZ utilizando estándares primarios.

Con esta curva, se confirmaron primeramente los TR para determinar que el pico en cuestión fuera el pico de interés, para esto, se obtuvo una DER de los valores de TR, incluyendo ambos picos en la CC de MLT, observándose un valor por debajo del 2% para todos los casos, con ello dando confianza a los resultados (tabla 6.26).

Posteriormente se reportaron los datos del cociente de concentraciones vs el cociente de ABC para los plaguicidas (tabla 6.27), mismos que fueron graficados para determinar la regresión lineal de MLT (figura 6.29) y de ATZ (figura 6.30).

Tabla 6.27. Datos para regresión lineal de 3° CC de MLT y de ATZ.

Analito	MLT (MLT+MLX)				ATZ			
	Conc. EI (ppm)	ABC EI	$\frac{C_{MLT}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{MLT}}{ABC_{EI}}$	Conc. EI (ppm)	ABC EI	$\frac{C_{ATZ}}{C_{EI}}$	$\frac{ABC_{ATZ}}{ABC_{EI}}$
1	24	6,681	0.04	17.42	24	18,545	0.08	0.03
2	24	7,423	0.08	17.43	24	16,421	0.17	0.07
3	24	6,939	0.33	23.68	24	14,221	0.33	0.16
4	24	6,949	0.5	25.55	24	14,067	0.5	0.29
5	24	7,286	0.67	28.27	24	13,907	0.67	0.44
6	24	7,900	0.83	30.13	24	14,448	0.83	0.55

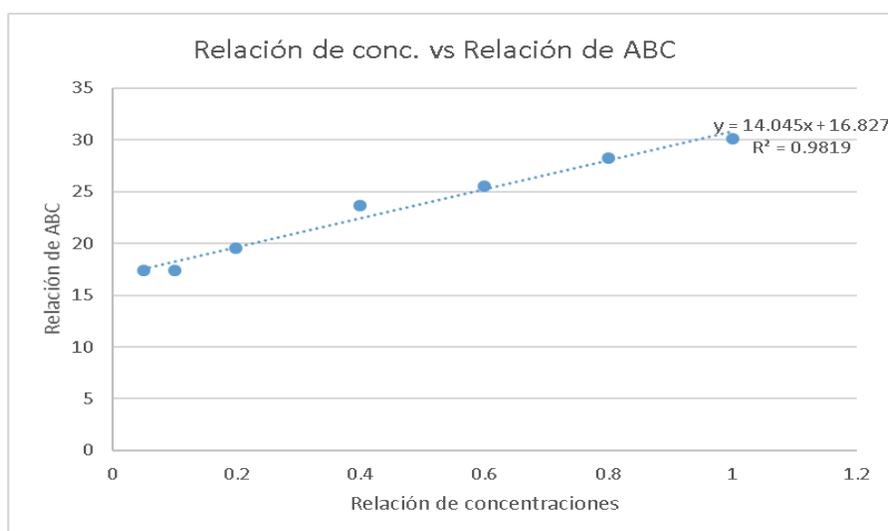


Figura 6.29. Regresión lineal de relación de concentraciones vs relación de ABC para MLT en 3° CC.

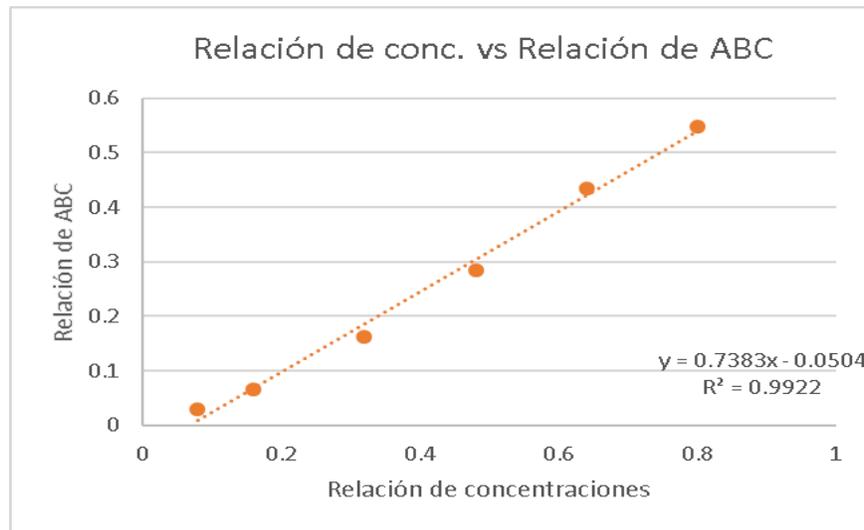


Figura 6.30. Regresión lineal de relación de concentraciones vs relación de ABC para ATZ en 3° CC.

De la figura 6.29 destaca en primer lugar la lejanía de la ordenada al origen con respecto a cero en la CC de MLT, esto fue debido a errores cometidos durante la experimentación, que al intentar resolver repitiendo la experimentación o considerando solamente el pico de MLX o solamente el pico de MLT, no se observó mejoría ya que se perdía la linealidad, por lo que se concluyó en descartar el estándar primario de MLT para el método en cuestión, y considerar los resultados obtenidos en las CC de estándares secundarios para cuantificar a MLT.

Por otra parte, como se observa en la CC para ATZ (figura 6.30), se reportó un valor de r^2 de 0.9922, siendo mayor que 0.98 y así confirmando la linealidad; además, al observar que la ordenada al origen fue cercana a 0, se consideró confiable para la cuantificación de ATZ.

6.10 Determinación de plaguicidas en las muestras

Con lo anterior, se realizó el análisis de muestras aleatorias cosechadas de jitomate y de zanahoria, utilizando el tratamiento de la muestra ya establecido y la programación del cromatógrafo de gases establecida, obteniendo así los parámetros cromatográficos en la

tabla 6.28 en el caso de jitomate y la tabla 6.29 en el caso de zanahoria, con sus correspondientes cromatogramas representativos en las figuras 6.23 y 6.24 respectivamente.

Tabla 6.28. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras reales de jitomate.

	1° muestra			2° muestra			3° muestra		
Analito	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura
MLT	10.09	6638	4164	10.04	12835	4450	10.08	2847	1653
MLX	8.03	37404	11823	8.16	31633	9269	7.99	34875	12348
Caféina	16.98	102191	42183	16.98	107790	23241	16.98	95772	20740

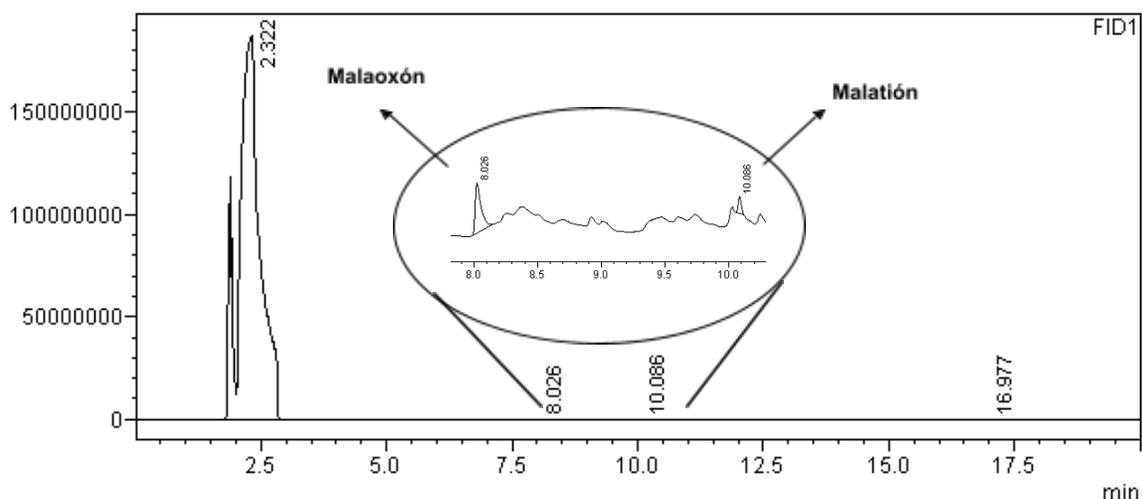


Figura 6.31. Cromatograma representativo de muestra de jitomate cosechado.

Tabla 6.29. Parámetros cromatográficos de los plaguicidas en las muestras reales de zanahoria.

	1° muestra			2° muestra			3° muestra		
Analito	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura	TR (min)	ABC	Altura
ATZ	15.61	8624	3370	15.62	12770	4812	15.62	11365	4314
Caféina	16.51	71146	29664	16.99	123617	54075	16.99	121301	52719

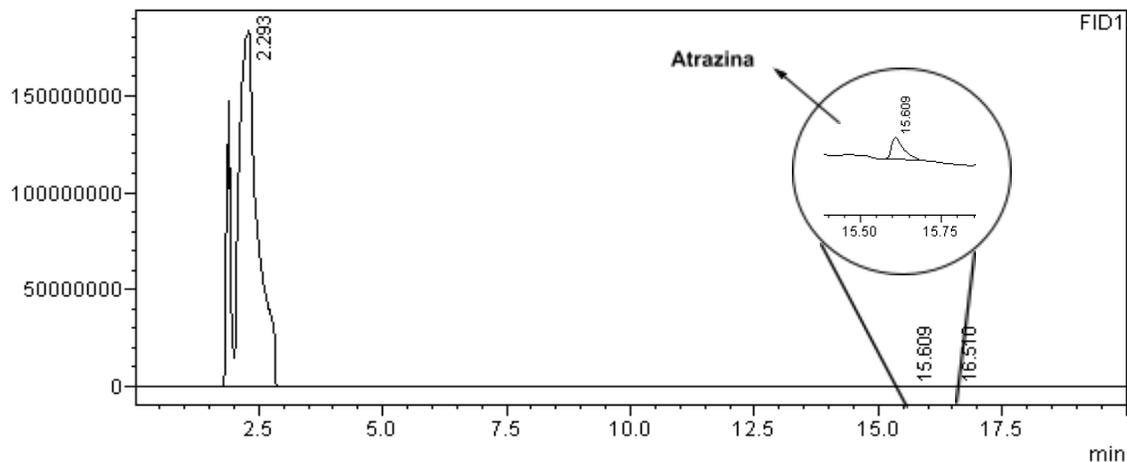


Figura 6.32. Cromatograma representativo de muestra de zanahoria cosechada.

Partiendo de los datos de ABC reportados para los plaguicidas en las muestras cosechadas, se calculó primeramente la relación de ABC para MLT y para ATZ con el EI respectivamente, con ello se realizó de lo siguiente:

$$y = m x + b$$

$$Rel. ABC_{cosecha} = m (Rel. conc._{cosecha}) + b$$

Y despejando la variable de la relación de concentraciones de la siguiente manera:

$$Rel. conc._{cosecha} = \frac{Rel. ABC_{cosecha} - b}{m}$$

De donde, a partir de la ecuación de la recta obtenida en la 3° CC para ATZ y de la 2° CC para MLT, se calculó la relación de concentraciones de los analitos y se realizó lo mostrado a continuación:

$$Rel. conc._{cosecha} = \frac{Conc. plaguicida}{Conc. EI} \rightarrow Rel. Conc._{cosecha} = \frac{Conc. plaguicida}{24 ppm}$$

$$Conc. plaguicida = Rel. conc._{cosecha} (24 ppm)$$

Con ello obteniendo la concentración relativa de los plaguicidas, y donde finalmente se utilizó el porcentaje de recobro correspondiente en cada plaguicida para determinar la concentración total en las muestras previo a su tratamiento, como se muestra en la tabla 6.30 para MLT y en la tabla 6.31 para ATZ.

Tabla 6.30. Estimación de ABC para determinar la concentración de MLT.

Rel. de ABC de muestra [MLT+MLX] (Rel. ABC _{cosecha})	Rel. de conc. de muestra (Rel. conc _{cosecha}) $\frac{Rel. ABC_{cosecha} - b}{m}$	Conc. MLT [ppm] <i>Rel. conc._{cosecha} (24 ppm)</i>	Porcentaje de recobro promedio (% _{recobro})	Conc. real de MLT $\frac{Conc. MLT(100\%)}{\%_{recobro}}$
0.43	0.47	11.28	35.29	31.96
0.41	0.44	10.56	35.29	29.92
0.39	0.42	10.08	35.29	28.56
			Promedio	30.15
			S	1.39
			%DER	4.61

En el caso de MLT se obtuvo una concentración de 30.15 ppm con una DER de 4.61, lo cual se explica debido a que al trabajar con muestras volátiles, la variación incrementa en los resultados, sin embargo, al ser menor a 15, se considera correcto y se establece como la concentración de MLT real.

Tabla 6.31. Estimación de ABC para determinar la concentración de ATZ.

Rel. de ABC de muestra (Rel. ABC _{cosecha})	Rel. de conc. de muestra (Rel. conc _{cosecha}) $\frac{Rel. ABC_{cosecha} - b}{m}$	Conc. ATZ [ppm] <i>Rel. conc._{cosecha} (24 ppm)</i>	Porcentaje de recobro promedio (% _{recobro})	Conc. real de ATZ $\frac{Conc. ATZ(100\%)}{\%_{recobro}}$
0.1212	0.2325	5.58	44.44	12.56
0.1033	0.2082	5.00	44.44	11.25
0.0937	0.1952	4.68	44.44	10.53
			Promedio	11.45
			S	0.84
			%DER	7.34

Por otra parte, en el caso de ATZ, se obtuvo una concentración de 11.45 ppm con una DER de 7.34, que al igual que en el caso de MLT, se explica debido a la volatilidad de las

muestras, pero siendo este menor que el límite aceptado, se establece como la concentración final.

7. CONCLUSIONES

Este trabajo tuvo como propósito el desarrollo de un método de detección y cuantificación para cuatro de los plaguicidas más utilizados en México. La separación fue viable solo para tres plaguicidas: ATZ, MLT y PCB, mientras que para GLA no fue posible su separación. Después de las diferentes pruebas con muestras reales, se vio que solo era factible la determinación cuantitativa de ATZ y MLT, para concentraciones menores a 20 ppm. Las curvas realizadas con estándares secundarios, presentaron una tendencia lineal y el recobro con un método simple de extracción fue reproducible. Con un porcentaje de recobro de 35.29% para MLT y de 44.44% para ATZ, se logró determinar en las muestras agrícolas una concentración de MLT de 30.15 ppm en jitomate y una concentración de ATZ de 11.45 ppm en zanahoria.

8. REFERENCIAS

1. ADAMA. (s.f.). *Malathion 57% EC*. ADAMA. http://www.ghcia.com.co/plm/source/productos/9638_11_326.htm#:~:text=MODO%20DE%20ACCI%20C3%93N%3A%20Insecticida%20que,transmisi%C3%B3n%20de%20los%20impulsos%20nerviosos.
2. Agilent Technologies. (2010). *Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC*. Consultado el 24 de marzo de 2023 en: [https://www.icon-argentina.com/columna-cromatografica-de-uso-general-no-polar-5-fenil-9-5-metilpolisiloxano-usp-g27--det--DB5#:~:text=Columna%20cromatogr%C3%A1fica%20de%20uso%20general,%25%20metilpolisiloxano%20USP%20G27%20\(DB5\)](https://www.icon-argentina.com/columna-cromatografica-de-uso-general-no-polar-5-fenil-9-5-metilpolisiloxano-usp-g27--det--DB5#:~:text=Columna%20cromatogr%C3%A1fica%20de%20uso%20general,%25%20metilpolisiloxano%20USP%20G27%20(DB5))
3. Agro Krebs. (2020). *Etapas fenológicas*. Publicación. Facebook. <https://www.facebook.com/agrokrebs/photos/a.565875290563594/961655594318893/?type=3>
4. AGROPACIFICO. (s.f.). *Previcur Energy*. Consultado el 10 de diciembre del 2023 en: <https://agropacifico.mx/producto/previcur-energy/>

5. ATSDR. (2016). *Resúmenes de Salud Pública - Atrazina (Atrazine)*. Consultado el 21 de septiembre de 2022 en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs153.html
6. ATSDR. (2016). *Resúmenes de Salud Pública - Malatión (Malathion)*. Consultado el 21 de septiembre de 2022 en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs154.html
7. Bastidas-Cadpata, Ruth; Valencia-Chamorro, Silvia. (2015). *ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE SANITIZANTES EN LA CALIDAD DE ZANAHORIA (Daucus carota L.) de IV GAMA*. Consultado el 12 de octubre de 2022 en: <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176023.pdf>
8. Cámara de comercio Bogotá. (2015). *Manual Zanahoria*. Cámara de comercio Bogotá. Consultado en: <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/bitstream/handle/11520/14309/Zanahoria.pdf>
9. Candela, R. E. (2016). *Comportamiento de Atrazina y su relación con la práctica de fertilización nitrogenada en un suelo de la Pedanía Cañas, Departamento Colón, Provincia de Córdoba*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Córdoba]. <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/4180/Tesis%20Raul%20Candela.pdf>
10. CarlRoth. (2021). *Ficha de Datos de Seguridad: Dimetilsulfóxido*. Consultado el 12 de febrero del 2023 en: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-A994-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyNDUzMzB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNjcvdDlxLzkwMjY4MTg0MDg0NzgucGRmfDY1MjI4ZWVlYTQ5ZW44MjZhOWVhNjZlZjZkdjYTAyOWM4ODRkN2JlYjg5ZmU1ZGE2ZjNhYzE0NTliMWMwNjc5NGE>
11. Celuz Agro (2019). *Plagas más comunes del jitomate*. Consultado el 12 de octubre del 2022 en: <https://celuzag.mx/2019/06/28/plagas-mas-comunes-del-jitomate/>
12. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2017). *Carbofuran - Biomonitoring Summary*. CDC. https://www.cdc.gov/biomonitoring/Carbofuran_BiomonitoringSummary.html
13. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (s.f.). *Cancer clusters*. CDC. [https://www.cdc.gov/nceh/clusters/fallon/organophosfaq.htm#:~:text=Organophosphate%20insecticides%20\(such%20as%20diazinon,side%20effects%20in%20exposed%20humans.](https://www.cdc.gov/nceh/clusters/fallon/organophosfaq.htm#:~:text=Organophosphate%20insecticides%20(such%20as%20diazinon,side%20effects%20in%20exposed%20humans.)
14. Chemnet. (s.f.). *24579-73-5 Propamocarb*. Consultado el 11 de enero de 2023 en: <https://www.chemnet.com/cas/es/24579-73-5/Propamocarb.html>

15. Deepak. (2021). *Calculation of System Suitability in Chromatography*. Consultado el 16 de febrero de 2024 en: <https://lab-training.com/how-to-calculate-system-suitability-in-chromatography/>
16. Dragón. (s.f.). *Agrofosinato ® Forte*. Consultado el 11 de enero de 2023 en: <https://www.dragon.com.mx/herbicidas/agrofosinato-forte>
17. DVA. (2020). *Glufosinato de amonio 200 SL-DVA*. DVA. <https://dva.com.co/wp-content/uploads/2017/03/FT-GLUFOSINATO-DE-AMONIO-200-SL-DVA.pdf>
18. EPA. (1995). *Propamocarb Hydrochloride*. Consultado el 21 septiembre 2022: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-119301_1-Sep-95.pdf
19. EPA. (2022). *Herbicidas*. Consultado el 27 de diciembre de 2022: <https://www.epa.gov/caddis-vol2/herbicidas>
20. EPA. (2022). *Insecticidas*. Consultado el 27 de diciembre de 2022: <https://www.epa.gov/caddis-vol2/insecticidas>
21. FAO. (1997). *Los plaguicidas, en cuanto contaminantes del agua*. en *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de Los Recursos Hidricos (Estudios FAO: Riego y Drenaje) (Spanish Edition)*. FAO.
22. Fumi Insumos. (s.f.). *Gesaprim Calibre 90 Atrazina BOLSA 1 KG*. Consultado el 10 de diciembre de 2023 en: <https://fumiinsumos.com/syngenta/606-gesaprim-calibre-90-atrazina.html>
23. *Glufosinato de amonio*. (s.f.). Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/glufosinato_de_amonio.pdf
24. Gobierno de México. (2022). *México, referente mundial en el cultivo y exportación de jitomate: Agricultura*. Consultado el 12 de octubre de 2022 en: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mexico-referente-mundial-en-el-cultivo-y-exportacion-de-jitomate-agricultura#:~:text=Al%20cierre%20de%202020%20se,per%20c%C3%A1pita%20de%2013.4%20kilogramos>.
25. Hiroyuki Kataoka *et al.* (1996). *Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection*. Consultado el 02 de enero de 2024. DOI: 10.1016/0021-9673(95)01071-8

26. L. G. Edgerton *et al.* (1967). *Gas chromatographic determination of malathion and its Oxygen Analog, Mala-Oxon*. Consultado el 02 de enero de 2024 en: <https://pubs-acrs-org.pbidi.unam.mx:2443/doi/pdf/10.1021/jf60156a021>
27. *Malatión*. (s.f.). Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/malation.pdf>
28. MedChemExpress. (s.f.). *Glufosinate ammonium*. Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: <https://www.medchemexpress.com/glufosinate-ammonium.html>
29. MedChemExpress. (s.f.). *Propamocarb*. Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: <https://www.medchemexpress.com/propamocarb.html>
30. Mercado Libre. (s.f.). *1 Pieza Malation 500 250 ml Insecticida + 1 Kg Nitrophoska*. Consultado el 10 de diciembre de 2023 en: https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-666821694-1-pieza-malation-500-250ml-insecticida-1-kg-nitrophoska-_JM
31. Nand K. Narain *et al.* (2015). *Gas chromatographic estimation of malathion in seven vegetables*. Consultado el 02 de enero de 2024. DOI: 10.1080/03601238109372241
32. National Pesticide Information Center [NPIC]. (2022). *Fungicides*. Consultado el 27 de diciembre de 2022: <http://npic.orst.edu/ingred/ptype/fungicide.html>
33. National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2012). *Simultaneous Determination of Parathion, Malathion, Diazinon, and Pirimiphos Methyl in Dried Medicinal Plants Using Solid-Phase Microextraction Fibre Coated with Single-Walled Carbon Nanotubes*. Consultado el 15 de noviembre de 2022 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3354778/>
34. OEHHA. (2007). *Atrazine*. Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: <https://oehha.ca.gov/chemicals/atrazine>
35. OEHHA. (2016). *Malathion*. Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: <https://oehha.ca.gov/proposition-65/chemicals/malathion>
36. Podlesky, E. O. & Coy, G.A. (1994). *Determinación de plaguicidas en muestras ambientales, biológicas y de alimentos*. Instituto Nacional de Salud. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Determinacion-plaguicidas-muestras-ambientales-biologicas-alimentos.pdf>
37. Portal Tecnoagrícola. (s.f.). *Glufosinato de amonio*. Consultado el 21 de septiembre de 2022 en:

<https://www.buscador.portalteconoagricola.com/vademecum/mex/producto-tecnico/8593/GLUFOSINATO%20DE%20AMONIO>

38. Programa ONU Medio Ambiente México [onuma México]. (6 de diciembre, 2022). *Los agroquímicos han sido un componente importante en la modernización de la agricultura, sin embargo, su mal uso representa un riesgo para la sociedad. Estudios recientes en nuestro país han reportado que el maíz un ingrediente clave en nuestra* [Publicación de Facebook]. Recuperado de <https://www.facebook.com/onumamexico/posts/pfbid0hw5WaQnhEjJM2Q9UvWHQ2BYy u8JTdsb9eYvpLnnj1pmW1cpWhTXE651a6jstipnj1>
39. *Propamocarb clorhidrato*. (s.f.). Consultado el 23 de septiembre de 2022 en: http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/propamocarb_clorhidrato.pdf
40. PubChem. (s.f.). *Atrazine*. Consultado el 25 de abril de 2023 en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atrazine>
41. PubChem. (s.f.). *Glufosinate-ammonium*. Consultado el 21 de septiembre de 2022 en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glufosinate#:~:text=Glufosinate%2DAmmonium%20is%20a%20synthetic,inhalation%2C%20ingestion%2C%20or%20contact>.
42. PubChem. (s.f.). *Malathion*. Consultado el 25 de abril de 2023 en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malathion>
43. PubChem. (s.f.). *Propamocarb*. Consultado el 21 de septiembre de 2022 en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propamocarb#section=Kovats-Retention-Index>
44. QUIMICA.ES. (s.f.). *Caféina*. Consultado el 12 de febrero de 2023 en: <https://www.quimica.es/enciclopedia/Cafe%C3%ADna.html>
45. Red universitaria de ambiente y salud. (2020). *Trigo transgénico: Glufosinato de Amonio y sus riesgos para la salud humana*. Consultado 23 septiembre 2022 en: <https://reduas.com.ar/trigo-transgenico-glufosinato-de-amonio-y-sus-riesgos-para-la-salud-humana/>
46. Rodrigo Fernández, A. (2018). *Determinación de pesticidas en alimentos mediante la técnica de cromatografía de gases*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Educación a Distancia].

- http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Arodrigo/Rodrigo_Fernandez_Ana_TFM.pdf
47. Sanjay Kumar Sahoo *et al.* (2014). *Analysis of Fluopicolide and Propamocarb Residues on Tomato and Soil Using QuEChERS Sample Preparation Method in Combination with GLC and GCMS*. Consultado el 02 de enero de 2024. DOI: 10.1007/s12161-013-9709-2
 48. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA]. (2019). *Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo*. SENASICA. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf
 49. Toshihiro Nagayama *et al.* (1996). *Gas Chromatographic Determination of Propamocarb in Agricultural Commodities*. Consultado el 02 de enero de 2024 en: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1093/jaoac/79.3.769>
 50. *Triazine pesticide*. (2014). ScienceDirect. Consultado el 16 de diciembre de 2022 en: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/triazine-pesticide>
 51. Tridente. (2018). *Glufin 200 SL. Hoja de seguridad*. Consultado el 11 de enero de 2023 en: https://www.tridente.com.mx/media/agrproducts/GLUFIN_200_SL_HDS.pdf
 52. Vega Rojas Tatiana *et. al.* (2011). *ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE CINCO HÍBRIDOS DE ZANAHORIA (Daucus carota L.) MEDIANTE LA METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS FUNCIONAL*. Consultado el 12 de octubre de 2022 en: https://www.mag.go.cr/rev_agr/v36n02_029.pdf
 53. Villegas Cota, J.R. *et al.* (2004). *CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE EN RESPUESTA A DENSIDADES DE POBLACIÓN EN DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27 (4), 333-338.

9. ANEXOS

9.1 Cálculos realizados

- Preparación de soluciones de ATZ:
 - $180 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 18 \text{ ppm} \approx 20 \text{ ppm}$
 - $1 \text{ mg} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 180 \text{ ppm} \approx 200 \text{ ppm}$
 - $22 \text{ mg} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 3,960 \text{ ppm} \approx 4,000 \text{ ppm}$

- $33 \text{ mg} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 5,940 \text{ ppm} \approx 6,000 \text{ ppm}$
- Preparación de soluciones de GLA:
 - $40 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.4 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{18.40 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.01 \text{ L}} \right) = 1,030.4 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$
 - $195 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.4 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{18.4 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 10,046.4 \text{ ppm} \approx 10,000 \text{ ppm}$
 - $290 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.4 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{18.4 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 14,940.8 \text{ ppm} \approx 15,000 \text{ ppm}$
- Preparación de soluciones de MLT:
 - $50.8113 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 5.0811 \text{ ppm} \approx 5 \text{ ppm}$
 - $508.113 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 50.8113 \text{ ppm} \approx 50 \text{ ppm}$
 - $5081.13 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 508.113 \text{ ppm} \approx 500 \text{ ppm}$
 - $85 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.23 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{48.6 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 10,162.26 \text{ ppm} \approx 10,000 \text{ ppm}$
- Preparación de soluciones de PCB:
 - $3200.16 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 320.016 \text{ ppm} \approx 300 \text{ ppm}$
 - $30 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.13 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{47.2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 3,200.16 \text{ ppm} \approx 3,000 \text{ ppm}$
 - $95 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.13 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{47.2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.005 \text{ L}} \right) = 10,133.84 \text{ ppm} \approx 10,000 \text{ ppm}$
- Preparación de soluciones estándar interno

Cafeína

$$10 \text{ mg} \left(\frac{99 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.01 \text{ L}} \right) = 990 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

Dimetilsulfóxido

$$10 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.1 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{99.8 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.01 \text{ L}} \right) = 1,097.8 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

- Mezclas de 4 plaguicidas (ATZ + GLA + MLT + PCB):
 - Preparación de soluciones en pruebas de columna / disolvente / volumen de inyección / gradiente de temperatura / EI:

ATZ

$$28 \text{ mg} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 1,008 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

GLA

$$10 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.4 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{18.40 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 1,030.4 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

MLT

$$42 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.23 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{48.6 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 1,004.27 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

PCB

$$47 \text{ } \mu\text{L} \left(\frac{1.13 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{47.2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 1,002.72 \text{ ppm} \approx 1,000 \text{ ppm}$$

- Información de plaguicidas para aplicación a cultivos:
 - Densidad de plantación de jitomate: “En condiciones de invernadero y sin despunte, las densidades comerciales fluctúan de 2 a 2.5 plantas/m²” (Koning, 1989, como se citó en Villegas Cota *et al.*, 2004).
 - Área de maceta de jitomate:

$$29 \text{ cm de largo} (10 \text{ cm de alto}) = 290 \text{ cm}^2$$

$$290 \text{ cm}^2 \left(\frac{1 \text{ m}^2}{10,000 \text{ cm}^2} \right) = 0.029 \text{ m}^2$$

❖ **MLT** - Dosificación: 0.7-1 L / ha:

$$\frac{0.7-1 \text{ L}}{\text{ha}} \left(\frac{1 \text{ ha}}{10,000 \text{ m}^2} \right) \left(\frac{1 \text{ m}^2}{2.25 \text{ plantas}} \right) \left(\frac{1,000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right)$$

$$= \frac{0.0311-0.0444 \text{ mL}}{\text{m}^2}$$

$$\frac{0.0311-0.0444 \text{ mL}}{\text{m}^2} \left(\frac{1,000 \text{ } \mu\text{L}}{1 \text{ mL}} \right) = \frac{31.11-44.44 \text{ } \mu\text{L}}{\text{m}^2}$$

$$\frac{31.11-44.44 \text{ } \mu\text{L}}{\text{m}^2} \left(\frac{0.029 \text{ m}^2}{1 \text{ maceta}} \right) = \frac{0.9022-1.289 \text{ } \mu\text{L}}{1 \text{ maceta}}$$

$$\frac{0.9022-1.289 \text{ } \mu\text{L}}{1 \text{ maceta}} (9 \text{ macetas}) = 8.1197 - 11.601 \text{ } \mu\text{L}$$

❖ **PCB** - Dosificación: 6 L/ha:

$$\frac{6L}{ha} \left(\frac{1 ha}{10,000 m^2} \right) \left(\frac{1 m^2}{2.25 plantas} \right) \left(\frac{1,000 mL}{1 L} \right) = \frac{0.2667 mL}{m^2}$$

$$\frac{0.2667 mL}{m^2} \left(\frac{1,000 \mu L}{1 mL} \right) = \frac{266.67 \mu L}{m^2}$$

$$\frac{266.67 \mu L}{m^2} \left(\frac{0.029 m^2}{1 maceta} \right) = \frac{7.7333 \mu L}{1 maceta}$$

$$\frac{7.7333 \mu L}{1 maceta} (9 macetas) = 69.6 \mu L$$

- Densidad de plantación de zanahoria: “La densidad de siembra final de zanahoria es de 400,000 a 540,000 por hectárea” (Lardizabal & Theodoracopoulos, 2007, como se citó en Cámara de comercio Bogotá, 2015).

$$\frac{400,000-540,000 zanahorias}{ha} \left(\frac{1 ha}{10,000 m^2} \right) = \frac{40-54 zanahorias}{m^2}$$

- Área de maceta de zanahoria:

$$52 cm de largo(29 cm de alto) = 1,508 cm^2$$

$$1,508 cm^2 \left(\frac{1 m^2}{10,000 cm^2} \right) = 0.1508 m^2$$

- ❖ ATZ - Dosificación: 1-2.5 kg/ha:

$$\frac{1-2.5kg}{ha} \left(\frac{1 ha}{10,000 m^2} \right) \left(\frac{1 m^2}{54 plantas} \right) \left(\frac{1,000 mg}{1 kg} \right)$$

$$= \frac{0.0019 - 0.0046g}{m^2}$$

$$\frac{0.0019-0.0046 g}{m^2} \left(\frac{1,000 mg}{1 g} \right) = \frac{1.9-4.6mg}{m^2}$$

$$\frac{1.9-4.6 mg}{m^2} \left(\frac{0.1508 m^2}{1 maceta} \right) = \frac{0.2865 - 0.6981 mg}{1 maceta}$$

$$\frac{0.2865 - 0.6981 mg}{1 maceta} (3 macetas) = 0.8596 - 2.0943 mg$$

- ❖ GLA - Dosificación: 1.125-3 kg/ha

$$\begin{aligned} & \frac{1.125-3L}{ha} \left(\frac{1 ha}{10,000 m^2} \right) \left(\frac{1 m^2}{54 plantas} \right) \left(\frac{1,000 mL}{1 L} \right) \\ &= \frac{0.0021-0.0056 mL}{m^2} \\ & \frac{0.0021-0.0056 mL}{m^2} \left(\frac{1,000 \mu L}{1 mL} \right) = \frac{2.1-5.6 \mu L}{m^2} \\ & \frac{2.1-5.6 \mu L}{m^2} \left(\frac{0.1508 m^2}{1 maceta} \right) = \frac{0.3167-0.8445 \mu L}{1 maceta} \\ & \frac{0.3167-0.8445 \mu L}{1 maceta} (3 macetas) = 0.9501 - 2.5334 \mu L \end{aligned}$$

- Preparación de soluciones de plaguicidas para aplicación a cultivos:

ATZ

$$10 mg Gesaprim \left(\frac{90 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{1.5 L} \right) = 6 ppm (Sol. A)$$

GLA

$$10 \mu L Agrofusinato \left(\frac{1.4 mg}{\mu L} \right) \left(\frac{18.40 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{1.5 L} \right) = 1.72 ppm (Sol. B)$$

MLT

$$10 \mu L Malation 500 \left(\frac{1.23 mg}{\mu L} \right) \left(\frac{48.6 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{1.5 L} \right) = 3.99 ppm (Sol. C)$$

PCB

$$70 \mu L Previcur \left(\frac{1.13 mg}{\mu L} \right) \left(\frac{47.2 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{1.5 L} \right) = 24.89 ppm (Sol. D)$$

- Tratamiento de la muestra

ATZ

$$167 mg Gesaprim \left(\frac{90 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{0.05 L} \right) = 3,006 ppm \approx 3,000 ppm$$

MLT

$$\begin{aligned} & 251 \mu L Malation 500 \left(\frac{1.23 mg}{\mu L} \right) \left(\frac{48.6 mg}{100 mg} \right) \left(\frac{1}{0.05 L} \right) \\ &= 3,000.86 ppm \approx 3,000 ppm \end{aligned}$$

PCB

$$282 \mu\text{L Previcur} \left(\frac{1.13 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{47.2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) \\ = 3,008.15 \text{ ppm} \approx 3,000 \text{ ppm}$$

- Estudios de recobro a altas concentraciones
 - Preparación de soluciones de referencia / muestras fortificadas:

ATZ

- 5,000 ppm:

$$277 \text{ mg Gesaprim} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 4,986 \text{ ppm} \approx 5,000 \text{ ppm}$$

MLT

- 5,000 ppm:

$$418 \mu\text{L Malation 500} \left(\frac{1.23 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{48.6 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) \\ = 4,997.44 \text{ ppm} \approx 5,000 \text{ ppm}$$

PCB

- 5,000 ppm:

$$469 \mu\text{L Previcur} \left(\frac{1.13 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{47.2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) \\ = 5,002.92 \text{ ppm} \approx 5,000 \text{ ppm}$$

- Estudios de recobro a bajas concentraciones
 - Preparación de muestras fortificadas:

ATZ:

$$28 \text{ mg Gesaprim} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 504 \text{ ppm} \approx 500 \text{ ppm}$$

MLT:

$$42 \mu\text{L Malation} \left(\frac{1.23 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{48.6 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 502.14 \text{ ppm} \approx 500 \text{ ppm}$$

Solución madre:

$$500 \text{ ppm} \left(\frac{2 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \right) = 40 \text{ ppm}$$

- 4 ppm:

$$40 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 4 \text{ ppm}$$

- 12 ppm:

$$40 \text{ ppm} \left(\frac{3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 12 \text{ ppm}$$

- 20 ppm:

$$40 \text{ ppm} \left(\frac{5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 20 \text{ ppm}$$

- CC de estándares secundarios:
 - Preparación de soluciones stock:

$$\underline{\text{ATZ}} - 14 \text{ mg Gesaprim} \left(\frac{90 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 504 \text{ ppm}$$

$$\approx 500 \text{ ppm (Sol. E)}$$

$$\underline{\text{MLT}} - 21 \mu\text{L Malation} 500 \left(\frac{1.23 \text{ mg}}{\mu\text{L}} \right) \left(\frac{48.6 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.025 \text{ L}} \right) = 502.14 \text{ ppm}$$

$$\approx 500 \text{ ppm (Sol. F)}$$

Sol. Madre –

$$500 \text{ ppm ATZ, MLT} \left(\frac{2 \text{ mL Sol. E} + 2 \text{ mL Sol. F}}{25 \text{ mL}} \right) = 40 \text{ ppm (Sol. G)}$$

$$\underline{\text{EI}} - 12 \text{ mg de cafeína} \left(\frac{99 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 237.6 \text{ ppm}$$

$$\approx 240 \text{ ppm (Sol. H)}$$

- Concentración del EI en cada sistema:

$$240 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 24 \text{ ppm de cafeína}$$

- Preparación de sistemas de la CC:

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{0.5 \text{ mL Sol. G} + 2 \text{ mL Sol. H}}{20 \text{ mL}} \right)$

- $= 1 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. I, Sol. I}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{0.5 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 2 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. J, Sol. J}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{1 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 4 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. K, Sol. K}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{2 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 8 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. L, Sol. L}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{3 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 12 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. M, Sol. M}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{4 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 16 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. N, Sol. N}' \right)$

- $40 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\frac{5 \text{ mL Sol. G} + 1 \text{ mL Sol. H}}{10 \text{ mL}} \right)$

- $= 20 \text{ ppm ATZ, } MLT \left(\text{Sol. O, Sol. O}' \right)$

- 3° CC (ESTÁNDARES PRIMARIOS):

- Preparación de soluciones stock:

ATZ - 1 mL, 100 ppm en acetonitrilo

$$100 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} \right) = 50 \text{ ppm (Sol. STD A)}$$

MLT - 1 mL, 1,000 ppm en acetona

$$1,000 \text{ ppm} \left(\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \right) = 100 \text{ ppm (Sol STD. B)}$$

$$\underline{\text{EI}} - 12 \text{ mg de cafeína} \left(\frac{99 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \right) \left(\frac{1}{0.05 \text{ L}} \right) = 237.6 \text{ ppm}$$

$$\approx 240 \text{ ppm (Sol. H)}$$

- Concentración del EI en cada sistema:

$$240 \text{ ppm} \left(\frac{0.1 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \right) = 24 \text{ ppm de cafeína}$$

- Preparación de sistemas de la CC:

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.02 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.01 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 1 \text{ ppm ATZ, } 1 \text{ ppm MLT (Sol. P, Sol. P')}$$

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.04 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.02 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 2 \text{ ppm ATZ, } 2 \text{ ppm MLT (Sol. Q, Sol. Q')}$$

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.16 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.08 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 8 \text{ ppm ATZ, } 8 \text{ ppm MLT (Sol. S, Sol. S')}$$

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.24 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.12 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 12 \text{ ppm ATZ, } 12 \text{ ppm MLT (Sol. T, Sol. T')}$$

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.32 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.16 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 16 \text{ ppm ATZ, } 16 \text{ ppm MLT (Sol. U, Sol. U')}$$

- $50 \text{ ppm ATZ, } 100 \text{ ppm MLT} \left(\frac{0.4 \text{ mL Sol. STD. A, } 0.2 \text{ mL Sol. STD. B} + 0.1 \text{ mL Sol. H}}{1 \text{ mL}} \right)$

$$= 20 \text{ ppm ATZ, } 20 \text{ ppm MLT (Sol. V, Sol. V')}$$

9.2 Características de especímenes obtenidos para jitomate

Tabla 9.1. Datos para el control de los especímenes de jitomate cosechados.

Número de lote	Ejemplar de jitomate	Diámetro de jitomate (cm)	Altura de jitomate (cm)
Lote 1	1	7	3.5
	2	6	3.5
	3	6	3.5
	4	4.5	3.5
	5	4.5	4.5
	6	4	4.5
	7	4	3.5
	8	3.5	5
	9	2.5	2.5
	10	3.5	3.5
	Promedio	4.55	3.75
Lote 2	1	5.5	3.5
	2	5.5	3.5
	3	5.5	3
	4	4.5	3
	5	5.5	4
	6	5.5	4
	7	5	3
	8	4.5	5
	9	3.5	4.5
	10	3.5	4.5
	11	3	5
	12	4	5

	13	3	5
	14	3.5	5
	15	4	4
	16	4	3.5
	17	4	4
	Promedio	4.35	4.09
Lote 3	1	5	3.5
	2	5	4
	3	4	3.5
	4	4	5
	5	4.5	4.5
	6	3.5	4.5
	7	3.5	5.5
	8	3.5	5
	9	4	3.5
	10	3	3.5
	Promedio	4	4.25

Lote 4	1	3	2.5
	2	4	3
	3	3	2.5
	4	3	2.5
	5	5	2.5
	6	3	5
	7	3	5
	8	3.5	5.5
	9	3	5
	10	2	4.5
	11	2.5	5
	12	3.5	3.5
	13	2.5	5.5
	14	2.5	4.5
	15	3.5	3
	16	3.5	2.5
	17	4	2.5
	18	3.5	3
	Promedio	3.22	3.75

Lote 5	1	3.5	3.5
	2	4	3.5
	3	4	4
	4	3.5	4
	5	4	3.5
	6	3.5	3
	7	5	4
	8	4	4
	9	4.5	3.5
	10	3.5	2
	11	3.5	3.5
	12	3.5	3.5
	13	4	3.5
	14	4.5	3.5
	15	4	3.5
	16	3	3
	17	3	3
	18	3	3
	19	4	3.5
	20	4	4
	Promedio	3.8	3.45

Lote 6	1	4	3.5
	2	5	3
	3	4	4
	4	3.5	3.5
	5	3	2
	6	3	2
	7	3	2
	8	3	2
	9	2.5	3.5
	10	3.5	2.5
	11	3.5	3
	12	2.5	5
	13	2.5	4.5
	14	2.5	3.5
	Promedio	3.25	3.14
Lote 7	1	5	3.5
	2	5.5	4
	3	4.5	4
	4	5	3
	5	6	4
	6	4.5	3.5
	7	4.5	3
	8	5	4
	9	4	5
	10	4	5
	11	3.5	5
	12	3	4.5

	13	3	4.5
	14	2.5	4.5
	15	3.5	4.5
	Promedio	4.23	4.13
Lote 8	1	4	5.5
	2	4.5	6.5
	3	4.5	3.5
	4	4	6
	5	4	3
	6	4.5	5
	7	4	4
	Promedio	4.21	4.79
Lote 9	1	5.5	3.5
	2	5.5	4
	3	5.5	3.5
	4	5.5	3.5
	5	6	3.5
	6	3	5
	7	3	5.5
	8	3	4
	9	3	3.5
	10	3	2.5
	11	3	2.5
	12	3	2.5
	13	3	2.5
	Promedio	4	3.54

Lote control 1	1	3.5	5
	2	3.5	4.5
	3	4.5	3
	4	3.5	3
	5	3	3
	6	3	4
	7	4	3.5
	8	4	6
	9	3.5	6
	10	3	3
	11	2	1.5
	12	3	2.5
	13	3.5	2.5
	14	3.5	3
	15	4	3
	Promedio	3.43	3.57

Lote control 2	1	2.5	3.5
	2	2.5	3
	3	2.5	3
	4	3	4
	5	2	3.5
	6	3	3.5
	7	2.5	3
	8	2	2.5
	9	2.5	3.5
	10	4.5	4.5
	11	2.5	3.5
	12	2.5	3.5
	13	2.5	3.5
	14	4	5.5
	15	2.5	3.5
	16	3.5	3.5
	17	2.5	3
	18	3	3.5
	19	4	4.5
	20	2.5	3
	21	2	2.5
	22	2.5	2.5
	23	2.5	2.5
	Promedio	2.76	3.41

Lote control 3	1	4	2.5
	2	3.5	3
	3	3.5	3.5
	4	3.5	3
	Promedio	3.63	3

9.3 Características de especímenes obtenidos para zanahoria

Tabla 9.2. Datos para el control de los especímenes de zanahoria cosechados.

Número de lote	Ejemplar de zanahoria	Altura de zanahoria (cm)	Ancho de zanahoria (cm)	Largo de hoja de zanahoria (cm)
Lote 1	1	6	2	41
	2	14.5	4	49
	3	9.5	3	44
	4	15	3	38
	5	14.5	2	44.5
	6	11	3	46
	7	14	2	46.5
	8	13.5	2.5	46
	9	14.5	2.5	41
	10	12	2	36
	11	8	2	38
	12	12	2.5	54
	13	16	3.5	46.5
	Promedio	12.35	2.62	43.89

Lote 2	1	15	2.5	39
	2	14.5	2.5	50
	3	7	1.5	41
	4	14.5	2.5	47
	5	17.5	3	43.5
	6	19.5	3.5	40.5
	7	15	2.5	45.5
	8	15.5	3	40
	9	12.5	2	46.5
	10	8.5	1	33
	11	14	2.5	44.5
	Promedio	13.96	2.41	42.77
	Lote 3	1	13.5	3
2		10.5	4	48
3		14.5	2.5	28
4		15.5	3	44
5		16.5	4	41
6		16.5	3	49.5
7		16.5	2	40.5
8		12	2.5	47
Promedio		14.44	3	42.5

Lote control	1	12.5	3.5	44
	2	3.5	2	38
	3	16	4.5	45
	4	14.5	3.5	45
	5	14	3.5	51
	6	11	3	47.5
	7	15.5	4	42
	8	11.5	2.5	44
	9	13	3	49
	10	15.5	4	44
	11	7.5	2.5	39
	12	14	3	49
	Promedio	12.38	3.25	44.79