



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE
SEDIMENTO**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

PIOTR VÍCTOR ÁLVAREZ POREBSKI



TUTOR: Francisco Rojo Callejas AÑO:2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio 102 del Departamento de Química Analítica, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM.

Parte de los resultados de este trabajo fueron presentados en:

- Simposio sobre Sistemas de Monitoreo Ambiental en Zonas Tropicales llevado a cabo del 22 al 26 de febrero de 2010 en la Estación Chajul, Selva Lacandona, Chiapas, México.
- 44° Congreso Mexicano de Química llevado a cabo del 23 al 30 de septiembre de 2009 en Puebla, Puebla, México.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por la formación académica que me ha brindado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la estancia en el programa de Maestría en Ciencias Químicas en el periodo de febrero de 2008 a enero de 2010.

A mi Familia por el apoyo incondicional que me ha brindado en cada una de las etapas de mi vida.

A Humberto Gómez Ruiz por el apoyo y consejos que recibí durante mi formación académica y personal, y por haberme brindado la oportunidad de participar en este proyecto.

A Lucía Hernández Garciadiego por sus consejos y apoyo durante mi formación académica.

A María del Pilar Cañizares Macías por el apoyo para la realización de este proyecto y por los consejos recibidos durante mi formación.

A la Estación Chajul por el apoyo en transportación, alimentación y hospedaje durante las estancias en la selva Lacandona.

Al "Programa de Ordenamiento y Restauración Ecológica de los Tributarios del Río Lacantún, Localizados Frente a la Porción Sur de la Reserva del Biosfera de Montes Azules", Clave: A2-04-024; Operado por el Centro Interdisciplinario de Biodiversidad y Ambiente, A.C. y financiado por Natura y Ecosistemas Mexicanos, A.C. y el Fondo Mexicano para la Conservación de la Naturaleza; por el apoyo económico.

Al Centro de Investigación en Geografía y Geomática Ing. Jorge L. Tamayo, A.C. CENTROGEO por proporcionar los mapas de la región de muestreo.

A los miembros del jurado por sus consejos y observaciones.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
ABREVIATURAS	4
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVOS	10
3. ANTECEDENTES	11
3.1 Hidrocarburos aromáticos policíclicos	12
3.1.1 Propiedades fisicoquímicas	12
3.1.2 Toxicidad de los HAP's	15
3.1.3 Degradación de los HAP's	16
3.1.4 Distribución y destino de los HAP's en el ambiente	16
3.2 Plaguicidas	17
3.2.3 Insecticidas organoclorados	20
3.2.2 Insecticidas organofosforados	21
3.3.3 Piretroides	22
3.3 Técnicas de extracción de contaminantes orgánicos de sedimentos	23
3.4 Microondas	25
3.5 Ultrasonido	26
3.6 Sedimento	28
4. PARTE EXPERIMENTAL	29
4.0.1 Reactivos, material, equipo e instrumentación	29
4.0.2 Metodología	32
4.1 Tratamiento previo a la extracción	32
4.1.1 Muestras de sedimento para el estudio de las metodologías de extracción	32

4.1.2 Muestras de sedimento para análisis de calidad del agua	32
4.2 Fortificación de los sedimentos	34
4.3 Establecimiento de las condiciones de extracción y optimización	34
4.3.1 EAMFPA	34
4.3.2 EBU	34
4.3.3 Extracción Soxhlet	36
4.4 Concentración de los extractos	36
4.5 Limpieza de los extractos	36
4.5.1 Filtrado	36
4.5.2 Remoción de azufre	36
4.5.3 Limpieza con silicato de magnesio (Fluorisil)	36
4.6 Tratamiento de las muestras de agua	37
4.7 Condiciones cromatográficas	37
4.8 Control de calidad	38
4.8.1 Porcentaje de recobro del subrogado	38
4.8.2 Reactividad del inyector	39
4.8.3 Calibración	39
4.9 Evaluación de parámetros de validación	39
4.9.1 Linealidad del sistema	39
4.9.2 Linealidad del método (muestras de sedimento)	39
4.9.3 Evaluación del efecto matriz (muestras de sedimento)	40
4.9.4 Límite de detección (LD) y cuantificación (LC), instrumental y de método	40
4.9.5 Porcentaje de recobro en muestras de agua	40
4.10 Comparación de las técnicas de extracción	40
4.11 Muestreo	40
5. RESULTADOS	43
5.1 Separación cromatográfica	43

5.2 Curvas de calibración instrumentales	46
5.3 Desarrollo y optimización de la EAMFPA	48
5.4 Desarrollo y optimización de la EBU	58
5.5 Linealidad de los métodos y evaluación del efecto matriz en muestras de sedimento	60
5.6 Límites de detección y cuantificación instrumentales y de método	62
5.7 Comparación de la técnicas de extracción	66
5.8 Porcentajes de recobro en muestras de agua	70
5.9 Análisis de muestras de agua y sedimento en cuencas de río Lacantún	71
6. CONCLUSIONES	74
ANEXOS	77
A. Iones de cuantificación e identificación de los analitos para su detección por monitoreo selectivo de iones en el espectrómetro de masas	78
B. Espectros de masa	79
C. Gráficos con las curvas de método y la curva de calibración instrumental	85
D. Ecuaciones para la evaluación de la linealidad y parámetros de estadística descriptiva	90
E. Pruebas estadísticas para la evaluación de la homoscedasticidad	91
F. Pruebas estadísticas para comparar medias	92
G. Resultados de las pruebas estadísticas para la comparación de las medias en la evaluación de las técnicas de extracción	94
H. Concentración de los analitos detectados en muestras de sedimento de la cuenca del río Lacantún	99
I. Cromatogramas representativos de las muestras de sedimento y agua de los sitios de muestreo de la cuenca del río Lacantún	102
J. Concentraciones máximas permisibles de algunos analitos en sedimentos de cuerpos de agua dulce.....	115
K. Cartas control de reactividad del inyector y porcentaje de recobro del subrogado	116
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117

ABREVIATURAS

AcEst	Acetilcolinesterasa	HCB	Hexaclorobenceno
ADN	Ácido desoxirribonucleico	Hz	Hercio
ANOVA	Análisis de varianza*	KHz	Kilohercio
ASNM	Altura sobre el nivel del mar	LC	Límite de cuantificación
ASTDR	Agencia de registro de sustancias tóxicas y enfermedades*	LD	Límite de detección
Atm	Atmosferas	LN	Latitud norte*
CG-EM	Cromatografía de gases-espectrometría de masas	Log P	Logaritmo del coeficiente partición (octanol/agua)
DDD	1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano	LSD	Diferencia mínima significativa*
DDE	1,1-Dicloro-2,2-Bis(p-clorofenil)etileno	LW	Longitud Oeste*
DDT	1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano	MAB-UNESCO	El hombre y la biósfera-Organización de las Naciones Unidas para la educación, la ciencia y la cultura*
EAM	Extracción asistida por microondas	MHz	Megahercio
EAMFPA	Extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica	p.eb.	Punto de ebullición
EAU	Extracción asistida por ultrasonido	p.f.	Punto de fusión
EBU	Extracción por baño de ultrasonido	Pa	Pascal
EFS	Extracción en fase sólida	PM	Peso molecular
ELP	Extracción por líquidos presurizados	REBIMA	Reserva de la Biósfera de Montes Azules
EPA	Agencia de protección ambiental*	SCAN	Monitoreo completo del espectro de masas
GABA	Ácido γ -aminobutírico	SFE	Extracción por fluidos supercríticos*
GHz	Gigahercio	SIM	Monitoreo selectivo de iones*
HAP's	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	t₅₀	Tiempo de vida media
		UV	Ultravioleta
		W	Watt/Vatio

*Por sus siglas en inglés

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló y optimizó la extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica (EAMFPA) y la extracción por baño de ultrasonido (EBU) para la extracción en conjunto de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) y plaguicidas pertenecientes a los grupos de los compuestos organoclorados, organofosforados y piretroides de muestras de sedimento. El desarrollo y la optimización se llevó a cabo mediante el uso de herramientas quimiométricas, las cuales permiten determinar las condiciones adecuadas de los factores influyentes en la extracción con un ahorro en tiempo y recursos. La detección de los analitos se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas. Se evaluaron algunos parámetros de validación para asegurar la calidad de los resultados y subsecuentemente se compararon las eficiencias de extracción de las técnicas optimizadas con la de la extracción Soxhlet propuesta por el método EPA-3540C-1996.

Con base en los resultados analíticos, la facilidad de manejo, el costo de adquisición del equipo y tiempo requerido, la técnica de extracción más versátil resultó ser la EBU. Mediante esta técnica se analizaron muestras de sedimento provenientes de la cuenca del río Lacantún ubicado en la selva Lacandona en el estado de Chiapas, con la finalidad de evaluar la calidad del agua, la cual pudiese estar en riesgo por el desarrollo de actividades como la agricultura y la ganadería en regiones aledañas y adicionalmente se analizaron muestras de agua empleando extracción en fase sólida. Los resultados muestran que actualmente el río se encuentra bajo condiciones sanas; no obstante, es necesario implementar ciertas medidas para preservar la cuenca, ya que existe un riesgo de ruptura del equilibrio ecológico por el incremento de los asentamientos humanos en regiones aledañas a este cuerpo de agua.

1. INTRODUCCIÓN

La reserva de la Biosfera de Montes Azules (REBIMA), ubicada en la región de la selva Lacandona, al oriente de Chiapas, es la zona de mayor diversidad biológica en México y Norte América y es considerada como zona prioritaria para la conservación. Pertenece desde 1979 al programa MAB-UNESCO “El Hombre y la Biosfera” [1]. Uno de los principales cuerpos de agua de esta región es el río Lacantún, en el desembocan ríos y arroyos provenientes del interior de REBIMA así como de regiones aledañas donde existe la presencia de asentamientos humanos y actividad agropecuaria. El río funge como un límite natural entre la región sur de REBIMA y los asentamientos humanos. Se han detectado campos agrícolas que colindan con la orilla del río en ciertas secciones, incrementando así los factores de transporte de contaminantes, ya que estos pueden llegar al río directamente por una inadecuada disposición y manejo de plaguicidas por parte de los agricultores y directamente por filtración a través del subsuelo; estos procesos son más rápidos e inmediatos, ya que el transporte a través de los afluentes puede ser afectado por numerosos mecanismos que lo retrasan y que disminuyen en mayor medida la concentración de los contaminantes. Cabe mencionar que el río actualmente no presenta indicios notorios de contaminación; no obstante, es necesario tomar medidas para preservar sus condiciones ambientales ya que existe un riesgo potencial de ruptura del equilibrio ecológico debido al desarrollo de actividades como la agricultura y la ganadería en regiones aledañas a este cuerpo de agua [2]. El desarrollo de un estudio basal para evaluar los impactos sobre este cuerpo de agua abarca el monitoreo de plaguicidas y productos derivados de la quema de pastos y bosques. En la región de estudio, los plaguicidas son ampliamente utilizados para el control de plagas en el cultivo de pastos ganaderos, sorgo (*Sorghum sp.*), café (*Coffea sp.*), chile (*Capsicum sp.*) y maíz (*Zea mays*); también son empleados para el control y la erradicación de ectoparásitos en el ganado. El uso de los plaguicidas ha mostrado un impacto desfavorable sobre el ambiente debido a su toxicidad aguda y/o crónica derivada del proceso de biomagnificación, su persistencia en el ambiente y organismos y su movilidad [3-12]. Por otro lado, durante la quema de pastos y bosques para la limpieza y/o generación de campos ganaderos y de cultivo, se forman los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's); algunos de estos compuestos han sido identificados como carcinógenos, mutágenos y teratógenos potenciales, además muestran una elevada persistencia en el ambiente y tienen una elevada movilidad ya que durante su formación se adhieren fácilmente a partículas de polvo y cenizas suspendidas en el aire [11-15].

Existen distintas maneras de abordar dicho estudio basal, las más relevantes se orientan al monitoreo de muestras de agua, biota y sedimento. Los procedimientos tradicionales se enfocan en la

determinación de estos contaminantes directamente en las muestras de agua; sin embargo, por las condiciones aun preservadas en las cuales se encuentra el río, los niveles de concentración esperados se encontrarán por debajo de los límites máximos permisibles en aguas superficiales [16], por lo que se requiere que cada muestra sea concentrada en un orden de por lo menos 100:1 para ser detectados. Esto complica el análisis ya que un monitoreo en muestras de agua requiere de muestreos frecuentes y constantes en intervalos de tiempo cortos para observar las tendencias de concentración de estos compuestos a lo largo de las estaciones del año. Por otro lado, el monitoreo en biota es conveniente para determinar la presencia de estos compuestos en el cuerpo de agua, ya que tienden a bioconcentrarse y a presentar bajas tasas de degradación; esto permite realizar muestreos menos frecuentes en intervalos de tiempo prolongados, facilitando el estudio por largos periodos en zonas cuyo acceso es complicado. Algunas de las desventajas de emplear biota para este estudio son: una compleja toma de muestra, el requerimiento de condiciones especiales para el transporte y el desplazamiento en los puntos de muestreo con las estaciones del año por migración de las especies. Los sedimentos al igual que la biota, muestran ser un medio adecuado para determinar la contaminación del río por este tipo de compuestos, ya que debido a su elevado contenido en materia orgánica, favorecen su adsorción y concentración. Esto permite generar un perfil de la calidad del agua que desemboca al río, así como identificar las regiones contaminantes que más impacto tendrán sobre el cuerpo de agua. Además, los sedimentos no muestran las limitantes sobre la toma de muestra y el transporte que se presenta en el monitoreo de contaminantes en biota. Con base en los aspectos antes descritos y a las dificultades de acceso a la zona, se decidió realizar el monitoreo de la calidad del agua a través de las muestras de sedimento, adicionalmente se realizó un muestreo compuesto de agua en dos sitios cuya localización y disponibilidad de personal permite que se lleve a cabo. Los muestreos compuestos no son recomendables ya que existen pérdidas de los analitos ya sea por volatilización y/o degradación; no obstante, por las limitaciones en la región de estudio resultan ser adecuados para realizar una estimación de las condiciones en las cuales se encuentra el agua del río Lacantún.

El análisis de las muestras de sedimento se subdivide en dos etapas: el análisis instrumental y la preparación de la muestra. Esta última abarca la extracción de los analitos y la remoción de algunas impurezas de los extractos. Actualmente, las técnicas disponibles para realizar el análisis instrumental son suficientemente sensibles y específicas para realizar análisis multicomponentes en matrices complejas. Por otra parte, la extracción de este tipo de compuestos de sedimentos es la etapa de mayor consumo de tiempo y recursos, además de ser la etapa de mayor contribución de fuentes de error en este tipo de análisis. La extracción se ha realizado principalmente por técnicas sólido-líquido empleado disolventes

orgánicos. La extracción Soxhlet fue una de las técnicas más utilizadas hace algunas décadas; sin embargo, presenta la desventaja de los largos periodos de extracción que pueden llegar a ser desde 4 horas hasta días [19-22]. Actualmente la extracción Soxhlet se sigue empleando en varios análisis; sin embargo, ha sido desplazada por técnicas mucho más eficientes. Por costumbre, la extracción Soxhlet se ha posicionado como una técnica de referencia, contra la cual, la mayoría de las técnicas nuevas o modificadas son comparadas a pesar de las limitaciones que ésta presenta; esto además se debe a que el costo de adquisición y operación de esta técnica es accesible para todos los laboratorios especializados en este tipo de análisis. Las técnicas modernas de extracción se enfocan en la disminución del tiempo de extracción, en la generación de menor cantidad de residuos y el empleo de pequeños volúmenes de disolventes orgánicos; algunas de estas técnicas como la extracción por fluidos supercríticos (SFE, por sus siglas en Inglés) [19-22] y la extracción por líquidos presurizados (ELP) [17, 19, 23-25], requieren de equipos cuyo costo de adquisición, mantenimiento y operación resulta ser elevado.

Energías como las microondas y el ultrasonido, permiten reducir el tiempo y el volumen de disolventes en una extracción, además de incrementar la eficiencia de extracción al facilitar la solubilización de los analitos que se encuentran adheridos en el interior de los poros de las partículas de sedimento o formando complejos de inclusión interna con los ácidos húmicos. El costo de adquisición y operación de los equipos que emplean este tipo de energías, comparado con la ELP y SFE, provocan que las técnicas de extracción asistidas por microondas y ultrasonido se popularicen rápidamente. Se han empleado técnicas de extracción asistidas por microondas para plaguicidas [17, 19, 26-27] y HAP's [17, 19], así como extracciones por ultrasonido para cada uno de los grupos de compuestos [25, 28-31].

Debido al gran número de variables que afectan a cada una de las técnicas de extracción y los parámetros particulares para cada grupo de compuestos, el desarrollo y la optimización requieren del uso de herramientas quimiométricas para establecer las condiciones óptimas de la extracción en conjunto de los analitos y para evaluar la interacción de los distintos factores. El uso de este tipo de herramientas estadísticas facilita el desarrollo de metodologías analíticas, incrementando la resolución entre los valores asignados a cada parámetro, disminuyendo costos y tiempo, además de evaluar de manera simultánea la robustez del método.

El presente trabajo comprende el desarrollo y la optimización de la extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica (EAMFPA) y la extracción por baño ultrasonido (EBU) en muestras de sedimento de 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) y 14 plaguicidas pertenecientes a los grupos de los compuestos organoclorados, organofosforados y piretroides. Estas técnicas de extracción

se compararon con la extracción Soxhlet del método EPA-3540C-1996 [32]. El análisis se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Finalmente, empleando la EBU, se realizó un estudio periódico a muestras de sedimento provenientes de cuencas del río Lacantún con la finalidad de evaluar la calidad del agua.

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la extracción en conjunto de 16 HAP's, 8 plaguicidas organoclorados, 5 organofosforados y un piretroide de muestras de sedimento mediante extracción por baño de ultrasonido (EBU), extracción Soxhlet y extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica (EAMFPA).

Objetivos Particulares

- Establecer y optimizar las condiciones para la extracción en conjunto de HAP'S y plaguicidas organofosforados, organoclorados y piretroides mediante EBU y EAMFPA en muestras de sedimento.
- Establecer las condiciones cromatográficas para la separación y la detección de los HAP's y los plaguicidas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
- Comparar las eficiencias de extracción de la EBU y EAMFPA con la extracción Soxhlet (EPA-3540C-1996) para identificar el método más adecuado para el monitoreo de los analitos en muestras ambientales.
- Evaluar el efecto matriz mediante el uso de muestras de sedimento fortificadas.
- Implementar una metodología mediante extracción en fase sólida para la cuantificación de los analitos en muestras de agua.
- Determinar los límites de detección y cuantificación instrumentales así como del método para los analitos estudiados.
- Realizar un estudio periódico a muestras de agua y sedimento provenientes de cuencas de río Lacantún para determinar la calidad del agua de la región y el impacto de la presencia de asentamientos humanos en regiones aledañas a la reserva de la Biosfera de Montes Azules, Chiapas, México.
- Evaluar parámetros de validación y establecer un programa de control de calidad para asegurar la confiabilidad de los resultados a lo largo del periodo de estudio.

3. ANTECEDENTES

3.1 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's) son un grupo de compuestos orgánicos persistentes formados por dos o más anillos aromáticos conjugados. Pueden formarse de manera natural por reacciones a bajas temperaturas (<150 °C) y/o a elevadas presiones, motivo por el cual constituyen una fracción importante en los hidrocarburos provenientes del petróleo; también pueden ser emitidos de fuentes naturales y petrogénicas como las emisiones volcánicas y los incendios forestales [12, 13]. La combustión incompleta de la materia orgánica, como madera y productos derivados del petróleo, son una de las fuentes de mayor generación de este grupo de compuestos; las tasas más importantes de emisión resultan de procesos industriales y actividades humanas [35].

En el ambiente los HAP's se encuentran como mezclas complejas y no como compuestos simples. La presencia y/o proporciones de los compuestos individuales que los constituyen varían considerablemente en función de la materia de origen. Debido a esto se han podido clasificar con base en su procedencia en 3 grandes grupos:

- Petrogénicos: relacionados con el petróleo crudo y los productos refinados de este. Como ejemplos representativos se encuentran: los compuestos homólogos del naftaleno, fluoreno, fenantreno dibenzotiofeno, entre otros.
- Pirogénicos: aquellos generados por la combustión de combustibles fósiles o materia orgánica, como la madera. Son representativos los compuestos de 3, 4 y 5 anillos, el perileno y el fluoranteno son por lo general los más abundantes.
- Biogénicos: son los generados por los procesos biológicos a partir de algunos precursores como los terpenos de plantas, algunos de estos principales HAP'S formados son el fenantreno y el criseno [36].

La presencia de ciertos tipos de HAP's es utilizada como marcador químico indicativo de la quema de bosques, derrames petroleros y combustión de combustibles fósiles pudiendo denotar algunas industrias, carreteras o rutas de navegación. Dada la variedad de orígenes que pueden tener los HAP'S en la naturaleza, se han establecido relaciones de cocientes de algunos HAP's como indicadores de procedencia. La tabla

3.1.1 muestra algunos valores de relaciones de concentración de HAP's para identificar la posible fuente de origen. [13]. Algunos HAP's heterocíclicos como el dibenzofurano y el dibenzotiofeno, tienen primordialmente un origen petrogénico; sin embargo, también se pueden formar a través procesos pirogénicos y biogénicos. Es común encontrar dibenzotiofeno en sedimentos maduros que contienen azufre; su formación ocurre a través de precursores como terpenos, ácidos húmicos e hidrocarburos aromáticos (ej. bifenilo), por lo que su presencia se ha correlacionado con el grado de madurez de un sedimento [37, 38].

Relación	Pirogénico	Petrogénico
Fluoranteno/Fluoranteno+Pireno	Valor ≤ 0.5	Valor > 0.5
Fluoranteno /Pireno	Valor < 1	Valor ≥ 1
Fenantreno/Antraceno	Valor ≥ 10	Valor < 10
Naftaleno/Fenantreno	Valor ≤ 1	Valor > 1

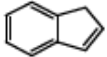
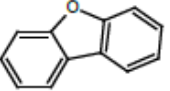
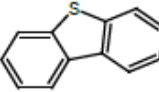
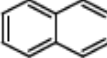
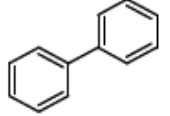
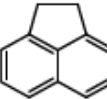
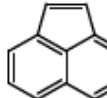
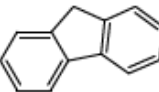
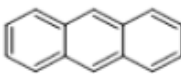
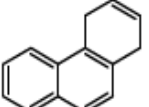
Tabla 3.1.1 Valores de las relaciones de HAP's como indicadores de procedencia [13].

3.1.1 Propiedades fisicoquímicas

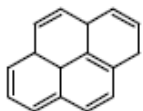
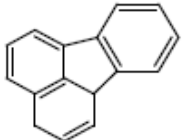
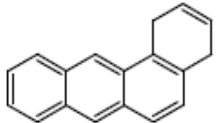
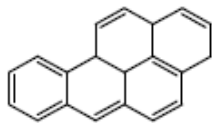
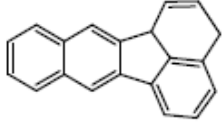
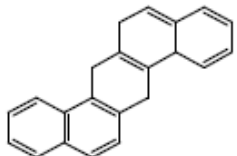
La mayoría de los HAP's están constituidos de 2 a 6 anillos aromáticos; la presión de vapor y la solubilidad son las principales propiedades fisicoquímicas determinantes que controlan su distribución entre los componentes solubles y particulados en la atmósfera, la hidrósfera y la biósfera. Los HAP'S de más bajo peso molecular, son ligeramente solubles en agua (naftaleno, 31 mg/L) y más volátiles, mientras que los de mayor peso molecular llegan a ser insolubles en agua (dibenzo[a,h]antraceno, 0.0005 mg/L) y relativamente no volátiles. Los HAP'S se encuentran en un rango de $\log P$ (coeficiente de partición octanol-agua) entre 2.9 y 6.84 siendo desde moderadamente hasta bastante lipofílicos; ésta es la principal propiedad determinante de su fuerte adsorción a las partículas de materia orgánica y a la bioacumulación a la cual están sujetos.

La tabla 3.1.2 muestra algunas de las propiedades fisicoquímicas de los HAP's estudiados.

Tabla 3.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los HAP's estudiados.

Estructura	Nombre	PM (g/mol)	P.f. (°C)	P. eb. (°C)	Densidad (g/mL)	Solubilidad en agua (mg/L) a 25 °C	Presión de Vapor (Pa) a 25 °C	LogP (octanol/agua)
	Indeno	116	(-)1.8	175	0,98	30	150	2,9
	Dibenzofurano ¹	168	81-85	285	NR	3	2,32	3,18
	Dibenzotiofeno ¹	184	97-100	333	1,2	1,4	NR	NR
	Naftaleno ²	128	80	218	1,2	31	11	3,3
	Bifenilo	154	70,5	256	1.014	6,94	1.2	3,98
	Acenafteno ²	154	95	279	1,19	1,93	0.59	3,98
	Acenaftileno ²	152	78	280	0,9	3,93	3.86	4,07
	Fluoreno ²	166	116	295	1,2	1,98	0,04	4,18
	Antraceno ²	178	218	342	1,25	0,76	2.26x10 ⁻³	4,45
	Fenantreno ²	178	99	336	1,06	1,2	0.09	4,45

Continuación Tabla 3.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los HAP's estudiados.

Estructura	Nombre	PM (g/mol)	P.f. (°C)	P. eb. (°C)	Densidad (g/mL)	Solubilidad en agua (mg/L) a 25 °C	Presión de Vapor (Pa) a 25 °C	LogP (octanol/agua)
	Pireno ²	202	156	404	1,27	0,77	3,3x10 ⁻⁴	4,88
	Fluoranteno ²	202	107	384	1,25	0,26	6.66x10 ⁻⁴	4,9
	Benzo[a]antraceno ²	228	155	438	NR	0,01	2.93x10 ⁻⁶	5,61
	Benzo[a]pireno ²	252	179	310	1,4	2x10 ⁻³	7.46x10 ⁻⁷	6,05
	Benzo[k]fluoranteno ²	252	215	480	NR	7x10 ⁻⁴	1.28x10 ⁻⁸	6,06
	Dibenzo[a,h]antraceno ²	278	267	524	1,28	5x10 ⁻⁴	1.33x10 ⁻⁸	6,84

NR: No reportado

1. HAP's Heterocíclicos

2. HAP's prioritarios para la EPA

Referencias: 11, 38,39

3.1.2 Toxicidad de los HAP'S

Por sí solos los HAP's son poco reactivos y prácticamente no tóxicos. Su toxicidad es consecuencia de su transformación/activación a productos más reactivos a través de procesos químicos o bioquímicos. Los HAP'S son clasificados como posibles carcinógenos, algunos de ellos son considerados como carcinógenos completos ya que actúan como iniciadores y promotores de tumores (ej. Benzo[a]pireno y dibenzo[a,h]antraceno). El metabolismo de los HAP's (figura 3.1.1) se limita básicamente a la oxidación catalizada por las enzimas del grupo *P-450* llevando a la formación de varios epóxidos; bajo condiciones celulares, algunos de ellos forman aductos con el ADN, pudiendo adicionalmente producir mutaciones en los oncogenes y genes supresores de tumores favoreciendo así la promoción de un tumor [12, 13, 15].

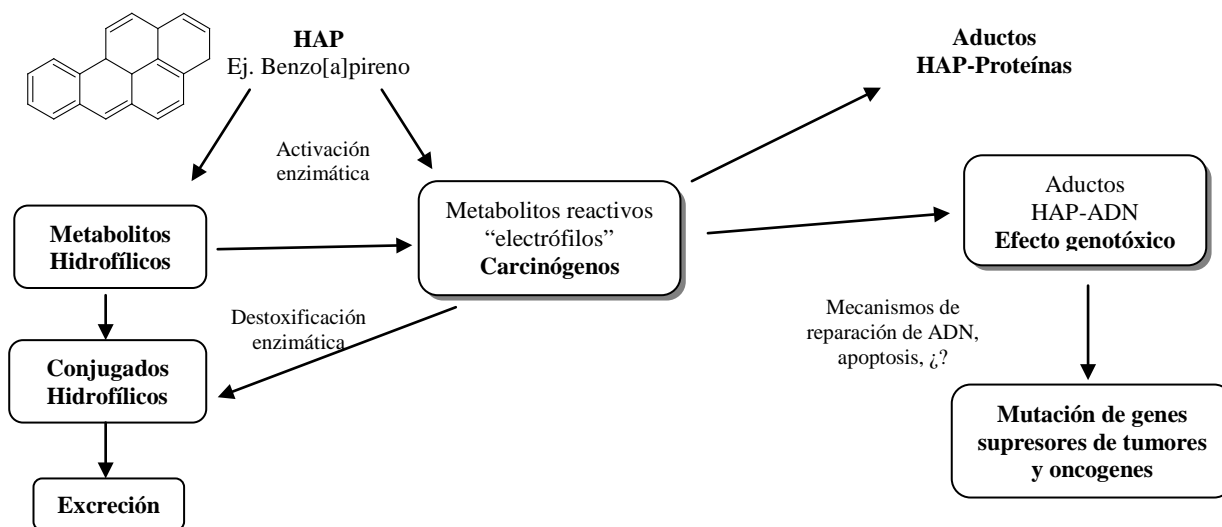


Figura 3.1.1 Metabolismo de los HAP's, etapas previas a la carcinogénesis [13].

La ASTDR (Agency of Toxic Substances & Disease Registry) ha identificado a 17 HAP's (*naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno*] y *benzo[e]pireno*) cuyo potencial cancerígeno ha sido demostrado e implican riesgos sobre la salud humana y el ambiente; sin embargo, no se descarta que otros compuestos de este grupo tengan propiedades carcinogénicas [41, 42].

Se ha observado que la intensidad de su toxicidad en organismos acuáticos es afectada por los niveles de radiación UV a los cuales han sido expuestos; los HAP's incrementan su toxicidad en presencia de radiación UV debido a reacciones de fotooxidación que los transforman en productos oxidantes muy reactivos [13, 43, 44].

3.1.3 Degradación de HAP's

Numerosas especies de bacterias, levaduras, hongos y algas son capaces de degradar a los HAP's. Las bacterias son el principal grupo de microorganismos involucrados en la degradación de los HAP's en suelos y sedimentos. La degradación aeróbica ha sido la más estudiada y ha demostrado que resulta ser más abundante y eficiente respecto a la degradación anaerobia [45, 46]. La eficiencia de degradación depende en gran medida de la biodisponibilidad del HAP, la cual dependerá de sus propiedades fisicoquímicas, las propiedades fisicoquímicas del suelo/sedimento, el/los tipo(s) de microorganismos, entre otros factores como: la temperatura, las corrientes y el contenido de oxígeno. El tiempo de vida media de los HAP's en suelos/sedimentos muy reactivos es por lo general <10 días para HAP's de dos anillos, <100 días para HAP's de 3 anillos y mayor a 100 días para HAP's de 4 ó más anillos [47, 48].

La figura 3.1.2 muestra los procesos más significativos que ocurren durante la introducción de los HAP's de origen petrogénico y pirogénico a sistemas acuáticos. Los HAP's de origen pirogénico muestran mayor persistencia y menor susceptibilidad a la degradación microbiana y la fotooxidación comparados con los HAP's petrogénicos; esto es debido a que desde su formación y emisión al ambiente se asocian a partículas de cenizas, carbono orgánico y hollín [13, 49].

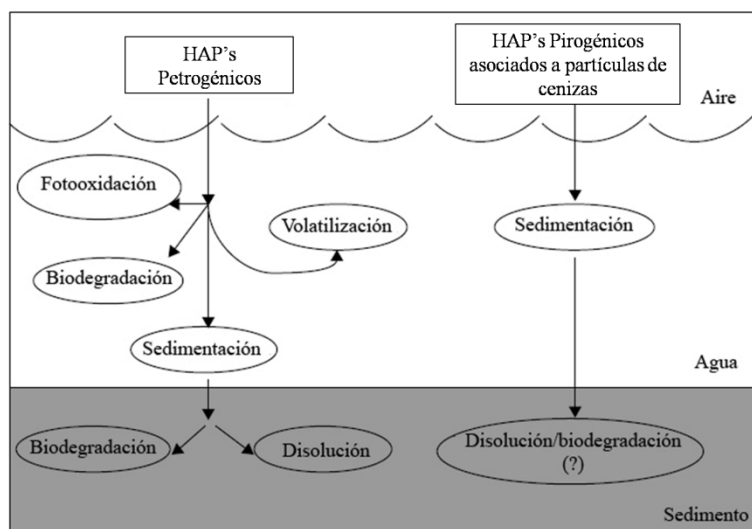


Figura 3.1.2 Principales procesos que afectan a la distribución y destino de los HAP's de origen petrogénico y pirogénico en sistemas acuáticos [13].

3.1.4 Distribución y destino de los HAP's en el ambiente

A nivel global, la mayor emisión de HAP's es hacia la atmósfera, originándose por la combustión incompleta de la materia orgánica. Los HAP's en la atmósfera se adsorben a partículas de polvo o ceniza y

eventualmente se depositan sobre cuerpos de agua superficiales debido a la precipitación o difusión de las partículas; una vez ahí, debido a su lipofilicidad, se adsorben sobre la materia orgánica presente en los sedimentos, pudiendo posteriormente absorberse por los organismos acuáticos. De manera similar los HAP's suspendidos en la atmósfera se pueden adsorber sobre complejos coloidales de ácidos húmicos en el suelo y posteriormente ser absorbidos por organismos que en él habitan. Aparte de los mecanismos de distribución aéreos, se pueden liberar al ambiente de manera directa hacia los cuerpos de agua y el suelo mediante derrames de crudo y desechos industriales.

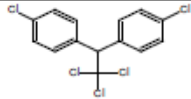
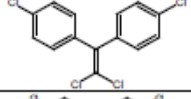
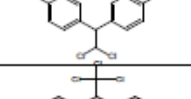
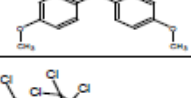
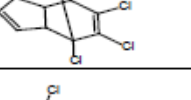
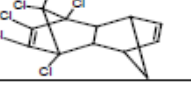
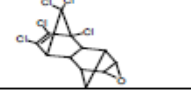
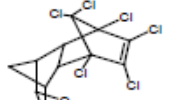
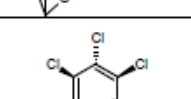
Los HAP's pueden bioacumularse en algunos organismos acuáticos invertebrados que carecen de un metabolismo efectivo, como los moluscos y las pulgas de agua (*Daphnia ssp.*); la tasa de bioconcentración depende significativamente de la biodisponibilidad del los HAP's [12, 13, 15, 50]. Por otro lado, los peces y otros organismos vertebrados los metabolizan adecuadamente interrumpiendo así el proceso de biomagnificación. Los moluscos y la mayoría de organismos acuáticos invertebrados rara vez expresan monooxigenasas del grupo *P-450*, las cuales, resultan ser el principal mecanismo efectivo de biotransformación de los HAP's. Cabe recordar que un metabolismo efectivo favorecerá la desintoxicación; sin embargo, se producirá de manera simultánea su activación, motivo por el cual se ha observado la mayor toxicidad sobre organismos secundarios de la cadena trófica [12, 15].

3.2 PLAGUICIDAS


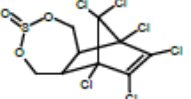
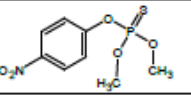
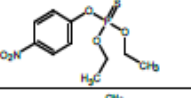
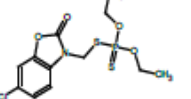
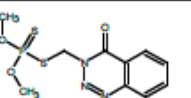
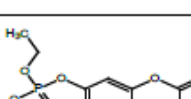
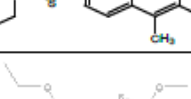
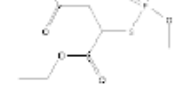
Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, controlar, repeler o destruir cualquier plaga, incluyendo los vectores de organismos causantes de enfermedades humanas o de los animales, plantas no deseadas (hierbas), hongos, microorganismos y virus. La definición también abarca las sustancias reguladoras del crecimiento de plantas, desfoliantes y desecantes [7, 10, 51, 52].

Los plaguicidas pueden clasificarse en función del organismo blanco (ej. insecticidas, herbicidas, fungicidas, etc.), de su estructura química y de su estado físico. Basados en la estructura química se pueden distinguir 4 grandes grupos que incluyen a los organoclorados, los organofosforados, los carbamatos y los piretroides. Estos cuatro grupos de compuestos se emplean primordialmente como insecticidas cuyo uso se extiende desde el agro-industrial al doméstico [7, 10, 52]. Algunas de las propiedades fisicoquímicas de los insecticidas estudiados se muestran en la tabla 3.2.1.

Tabla 3.2.1. Propiedades fisicoquímicas de los insecticidas estudiados.

Estructura	Nombre	PM (g/mol)	P.f. (°C)	P. eb. (°C)	Densidad (g/mL)	Solubilidad en agua (mg/L) a 25 °C	Presión de Vapor (Pa) a 25 °C	LogP (octanol/agua)
	p,p-DDT	354.5	109	185	0.99	0.006	2.5×10^{-5}	6.91
	p,p-DDE	318.03	86	336	NR	0.12	8×10^{-4}	6,51
	p,p-DDD	320.04	110	350	1.39	0.09	0.18	6.02
	Metoxicloro	345.7	89	NR	1.41	0.1	8×10^{-5}	5.83
	Heptacloro	373.5	95	145	1.57	0.056	4×10^{-2}	5.44
	Aldrin	364.9	104	145	1.6	0.027	3×10^{-3}	6.5
	Dieldrin	380.9	177	385	1.75	0.14	2.4×10^{-5}	3.7
	Endrin	380.9	200	Se descompone por encima de 245 °C	1.84	0.24	2.67×10^{-5}	3.2
	Lindano	290.8	113	323	1.85	7.3	5.6×10^{-3}	3.3

Continuación Tabla 3.2.1. Propiedades fisicoquímicas de los insecticidas estudiados.

Estructura	Nombre	PM (g/mol)	P.f. (°C)	P. eb. (°C)	Densidad (g/mL)	Solubilidad en agua (mg/L) a 25 °C	Presión de Vapor (Pa) a 25 °C	LogP (octanol/agua)
	Mirex	545.5	485	NR	NR	0.085	NR	5.28
	Endosulfan	406.9	80	NR	1.18	0.32	8.3×10^{-4}	3.13
	Metil-paration	263.2	35.5	NR	1.36	55	2×10^{-4}	3
	Paratión	291.2	6.1	NR	1.26	12.4	8.9×10^{-4}	3.83
	Fosalona	367.8	46.9	Se descompone por encima de 175 °C	1.49	1.4	1.5×10^{-5}	4.01
	Metil-azinfos	317.3	73	Se descompone por encima de 200 °C	2.52	28	5×10^{-7}	2.96
	Cumafos	362.7	95	NR	1.38	1.5	1.3×10^{-5}	3.86
	Malatión	330.3	-20	Se descompone por encima de 174 °C	1.23	148	3.1×10^{-3}	2.75
	Permetrina	391.3	34.5	NR	1.29	0.2	2×10^{-3}	6.1

NR: No reportado

Referencias: 11, 38,39, 52

3.2.1 Insecticidas Organoclorados

Los insecticidas organoclorados están constituidos primordialmente por moléculas de carbono hidrógeno y cloro. Se caracterizan por su elevada persistencia en el ambiente y en los organismos. Se subdividen con base en su estructura química en tres grandes grupos; el DDT y compuestos relacionados, los ciclodienos y los isómeros del hexaclorobenceno [10, 12].

El DDT se comercializó en 1939 para el control de la malaria y la tifoidea; posteriormente se extendieron sus usos para el control de plagas en la agricultura y en los bosques. En la década de los 60s se prohibió su uso al descubrir sus propiedades de persistencia en el ambiente y los efectos toxicológicos secundarios que lo acompañaban. El isómero p,p-DDT muestra la mayor toxicidad y persistencia en el ambiente y organismos. Sus principales productos de degradación son la descloración (p,p-DDE) y la descloración reductora (p,p-DDD), dichos productos siguen presentando una elevada persistencia y toxicidad. La degradación del DDT en suelos y sedimentos por los microorganismos ocurre de manera lenta, presentando un tiempo de vida media aproximado de 17 años [4, 12]. Otros compuestos análogos, como el metoxicloro tienen una menor persistencia (t_{50} = 120 días); sin embargo, su uso decayó debido a su toxicidad [10]. Los ciclodienos (ej. *Aldrin*, *dieldrín*, *endrín*, *heptacloro*, *endosulfan*, *mirex*, etc.) fueron comercializados en la década de los años 50, se utilizaron para el control de numerosas plagas y vectores de transmisión. Años más tarde se demostró su elevada toxicidad y persistencia en vertebrados, limitando su uso hacia los 80s [7, 12]. El hexaclorobenceno (HCB) fue descubierto en la década de los 40s, se utilizó ampliamente para el control de plagas de cultivos y ectoparásitos en ganado. Actualmente el γ -HCB comúnmente conocido como *Lindano* es utilizado para el tratamiento de ectoparásitos en ganado y humanos [7, 10, 12].

Los insecticidas organoclorados, con excepción del HCB y sus derivados, son antagonistas de los canales de Na^+ en la membrana neuronal, lo que induce una prolongación del mecanismo de despolarización de la neurona después de un potencial de acción, manteniendo una polarización constante y llevando a una sobreexcitación del sistema nervioso central, provocando la disrupción de la termorregulación, parálisis, convulsiones, paro respiratorio y cardíaco. El HCB presenta un mecanismo similar; sin embargo, actúa como antagonista del receptor GABA (ácido γ -aminobutírico), el cual cumple con la misma función que los canales de Na^+ en la membrana neuronal [3, 7, 12].

Los insecticidas organoclorados son muy susceptibles a procesos de bioacumulación por presentar una elevada lipofilidad (tabla 3.2.1) y se biomagnifican fácilmente a través de las cadenas tróficas. El impacto ambiental en sistemas acuáticos se extiende desde los invertebrados hasta los vertebrados que dependen de la fauna del río. Se absorben principalmente en el tejido adiposo y tienen una baja tasa de degradación metabólica por lo que están asociados a varias enfermedades crónicas. Se han correlacionado con varias clases de cáncer, daños neurológicos, el mal de Parkinson, defectos de nacimiento, enfermedades respiratorias y anomalías en el sistema inmune. Los principales efectos carcinogénicos se observan a nivel hepático ya que llegan a manifestar sus efectos ya sea con o sin activación metabólica, siendo algunos metabolitos similarmente o más tóxicos e igual de persistentes [4, 6, 8, 12, 53-54].

3.2.2 Insecticidas Organofosforados

Los insecticidas organofosforados mantienen en común el mecanismo de acción al ser inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AcEst), manifestándose efectos agudos similares a los que presentan los insecticidas organoclorados sobre la neurotransmisión. A diferencia de los insecticidas organoclorados, no tienen tiempos de vida media biológicos tan largos, por lo que no se biomagnifican a través de los eslabones de la cadena trófica. Este tipo de insecticidas sustituyó a los organoclorados por tener un impacto ambiental menos severo al biodegradarse más rápidamente y ser menos persistentes en el ambiente; sin embargo, no presentan la misma eficiencia en el control de plagas como los insecticidas organoclorados. A pesar de la ausencia de efectos crónicos severos, algunos de ellos poseen la desventaja de tener una toxicidad aguda muy elevada [6, 10, 12]. Los insecticidas organofosforados presentan cualquiera de las siguientes estructuras generales:



Figura 3.2.1. Estructuras químicas generales de los insecticidas organofosforados. a) Insecticidas del tipo oxón; b) insecticidas del tipo tión [10, 12].

Los insecticidas que mantienen una estructura en donde el fósforo está unido al oxígeno (figura 3.2.1 a.) se denominan “oxones”, mientras los que tienen el fósforo unido a una molécula de azufre (figura 3.2.1 b.) se denominan “tiones”. El grupo X es denominado el grupo saliente por ser susceptible a un ataque hidrolítico ya sea bajo condiciones químicas o bioquímicas. Los insecticidas del tipo oxón son mucho más reactivos e inestables que los del tipo tión, además de ser un mejor sustrato para la AcEst. Esto es

debido a que el oxígeno es más electronegativo que el azufre, por lo que los oxones están más polarizados y por ende más susceptibles a la hidrólisis. Los tiones no son inhibidores efectivos de la *AcEst* por si solos, por lo que necesitan ser convertidos a oxones por monooxigenasas de grupo *P-450* antes de expresar su toxicidad; no obstante, son más estables ambientalmente, por lo que existe una gran variedad de estos [7, 10, 12]. Se hidrolizan con relativa facilidad en suelos, sedimentos y agua, su tasa de hidrólisis depende del pH e incrementa conforme éste lo hace. Son susceptibles a la fotodescomposición y a pesar de su volatilidad, no sufren gran transporte; es por eso que sus efectos se ven limitados en tiempo y espacio y por lo general manifiestan sus efectos en sitios cercanos a su aplicación [57, 58]. Debido a esto, son formulados en presentaciones de liberación prolongada para mantener una mayor persistencia. En sistemas acuáticos se adsorben primordialmente sobre la materia orgánica del sedimento, donde se degradan por los microorganismos; una pequeña proporción llega a ser absorbida por invertebrados, en donde, casi en su totalidad se metabolizan y rara vez llegan a los vertebrados [4-6, 8, 12, 57].

3.2.3 Piretroides

Los piretroides son un grupo de insecticidas sintéticos que poseen una estructura química similar a las piretrinas (figura 3.2.2).

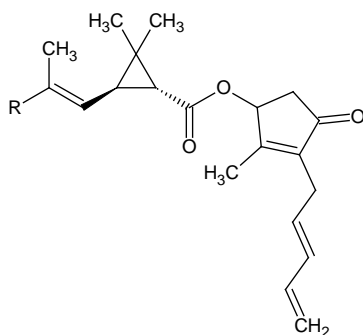


Figura 3.2.2. Estructura química de las piretrinas. Piretrina I: $R=CH_3$; piretrina II: $R=CO_2CH_3$ [10].

Las piretrinas son un grupo de compuestos orgánicos que se encuentran de manera natural en plantas del género *Chrysanthemum sp.* Las piretrinas se degradan rápidamente en el ambiente por efecto de la luz y del calor; además, en medios acuosos se hidrolizan fácilmente en productos no tóxicos, presentando en este medio un tiempo de vida media aproximado de 2 horas [7]. Su modificación química dio lugar a los piretroides, los cuales a pesar de no ser considerados de elevada persistencia, presentan tiempos de vida media en el ambiente entre 30 y 60 días. Actúan sobre los canales de Na^+ de la misma manera que los insecticidas organoclorados y debido a su elevada lipofilidad ($\log P$ entre 4.5-6.5) se adsorben fácilmente en suelos y sedimentos favoreciendo su persistencia. Aunque los organismos también los absorben, no se biomagnifican ya que los metabolizan con relativa facilidad las monooxigenasas del

grupo *P-450*. Actualmente son los más utilizados al ser amigables con el ambiente [5, 8, 12]. Su toxicidad sobre sistemas acuáticos es bastante elevada, afectando principalmente a los invertebrados, por lo que se han implementado varias restricciones y medidas de control sobre su uso en regiones que implican un riesgo de contaminación de cuerpos de agua [5-7, 12].

La permetrina es uno de los piretroides representativos, se utiliza ampliamente como acaricida e insecticida agro-doméstico. Muestra poca toxicidad sobre los mamíferos, presentándose sólo reacciones de hipersensibilidad en la mayoría de los casos [10, 12]. No se ha demostrado, pero se sugiere una exposición crónica a la permetrina y otros piretroides pueden producir cáncer y afectar la capacidad de reproducción en algunos animales [53].

3.3 TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS DE SEDIMENTOS

La extracción de los analitos de una matriz forma parte del proceso de preparación de la muestra, el cual es indispensable para su análisis por alguna técnica instrumental. La extracción, ha sido una de las partes menos evolucionadas en varios de los métodos analíticos; actualmente, la extracción Soxhlet, descubierta en 1879, es utilizada en varios laboratorios de rutina. En la última década, la investigación en nuevas técnicas de extracción que facilitaran la automatización, la reducción de los tiempos de extracción y la disminución de los volúmenes de disolventes orgánicos para la reducción de la generación de contaminantes y disminución de los costos de preparación de muestra ha incrementado drásticamente. Se han desarrollado técnicas como la extracción por fluidos supercríticos (SFE), extracción asistida por microondas (EAM), extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica (EAMFPA), extracción por líquidos presurizados (ELP) y la extracción asistida por ultrasonido (EAU). Estas técnicas han permitido una drástica reducción en los tiempos de extracción. La tabla 3.3.1 muestra la comparación entre algunas técnicas recientes de extracción y su comparación con la extracción Soxhlet.

Algunas de estas técnicas se han estudiado para grupos individuales de los analitos incluidos en el presente trabajo; sin embargo, no es posible extrapolar parámetros para realizar una extracción en conjunto debido a que cada grupo de analitos interactúa de manera distinta con la matriz, por lo que se requiere la optimización de parámetros para favorecer la extracción en conjunto y no emplear parámetros para extracciones selectivas a los grupos de los compuestos estudiados.

Tabla 3.3.1. Comparación entre técnicas de extracción recientes con la extracción Soxhlet.

	Técnica de extracción					
	Soxhlet ^a	ELP ^b	SFE ^c	EAM ^d	EAMFPA ^e	EAU ^f
Descripción general	La muestra es colocada en un cartucho poroso y mediante un extractor Soxhlet, es percolada repetidas veces con los vapores condensados del disolvente.	La muestra y el disolvente son calentados y presurizados en un compartimento para extracción. Cuando la extracción termina, el extracto es transferido automáticamente a un vial.	La muestra es colocada en un vial de alta presión y es extraída con un fluido supercrítico (el más común es CO ₂ a presiones entre 150-450 bar y temperaturas entre 40-150 °C). Los analitos son recolectados en un pequeño volumen de algún disolvente o en un adsorbente en estado sólido, el cual, es posteriormente lavado con algún disolvente.	La muestra es sumergida en un disolvente capaz de absorber las microondas. La mezcla es colocada en un contenedor que se sella y éste es irradiado con microondas.	La muestra es sumergida en un disolvente capaz de absorber las microondas. La mezcla es colocada en un vial abierto y éste es irradiado con microondas.	La muestra es sumergida en un disolvente y depositada en un recipiente; éste se coloca en un baño de ultrasonido o se le introduce una sonda ultrasónica.
Tiempo de extracción	3-48 h	5-30 min	10-60 min	3-30 min	10-60 min	3-60 min
Tamaño de la muestra	1-30 g	1-30 g	1-5 g	1-10 g	1-30 g	1-30 g
Volumen de disolvente	50-100 mL	10-100 mL	1-5 mL (trampa sólida) 5-20 mL (trampa líquida)	10-40 mL	10-150 mL	30-200 mL
Inversión	Baja	Elevada	Elevada	Moderada	Moderada	Baja
Ventajas	- No se requiere filtración	-Extracción rápida - Pequeños volúmenes de disolventes -Elevadas temperaturas -No requiere filtración -Automatizable	-Extracción rápida -Mínimos volúmenes de disolventes -Elevadas temperaturas -Selectividad respecto a las interferencias de la matriz -No requiere filtración -No es necesaria la limpieza de la muestra -Los extractos no requieren concentración -Automatizable	-Extracción rápida -Múltiples extracciones -Pequeños volúmenes de disolventes -Elevadas temperaturas	-Extracción rápida -Pequeños volúmenes de disolventes	- Extracción rápida -Múltiples extracciones
Limitantes	-Largos periodos de extracción -Elevados volúmenes de disolvente -Se requiere de limpieza y concentración de la muestra	-Se requiere limpieza de la muestra	-Muchos parámetros a optimizar	-El disolvente debe absorber las microondas -Se requiere limpieza de la muestra -Es necesario esperar al enfriamiento de las muestras	-El disolvente debe absorber las microondas -Se requiere limpieza de la muestra -Es necesario esperar al enfriamiento de las muestras	-Elevados volúmenes de disolvente -Se requieren extracciones sucesivas -Se requiere de limpieza y concentración de la muestra

a) Ref: [16-19, 59-60]. b) Extracción por líquidos presurizados, Ref: [16, 18, 22-24]. c) Extracción por fluidos supercríticos, Ref: [18-21], d) Extracción asistida por microondas, Ref: [16, 18, 25, 26, 58-62]. e) Extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica, Ref: [58, 59, 62]. f) Extracción asistida por ultrasonido, Ref: [24, 27-30].

3.4 MICROONDAS

Las microondas son un tipo de radiación que se sitúan en la región de transición entre la radiación infrarroja y la de radiofrecuencia, a frecuencias entre 300 GHz y 300 MHz ($1 \text{ Hz} = 10^6 \text{ MHz}$, 10^9 GHz) (Figura 3.4.1). Las microondas viajan de manera similar que las ondas de luz; se refractan al variar la densidad del medio, son reflejadas por objetos metálicos, las absorben por algunos materiales dieléctricos y son capaces de atravesar algunos materiales dieléctricos sin una absorción significativa (cerámica y plásticos) [63, 64]. Los equipos convencionales de microondas operan a 2450 MHz, siendo esta frecuencia adecuada para el calentamiento del agua y principalmente para evitar interferencias entre ondas de radio y radares [59, 64].

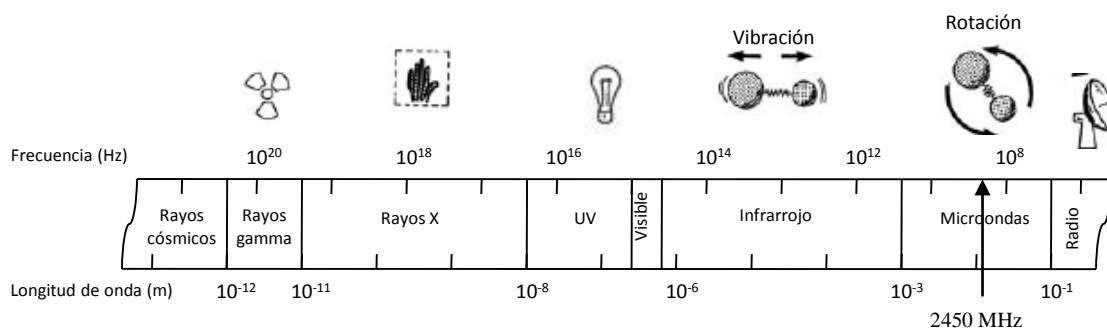


Figura 3.4.1. Espectro electromagnético [63].

El calentamiento producido por las microondas ocurre por efecto directo sobre las moléculas a través de la migración iónica y la rotación dipolar. La migración iónica no es más que la migración electroforética de los iones en presencia de un campo electromagnético; la resistencia a este flujo opuesta por el disolvente genera fricción, la cual contribuye al calentamiento de la disolución. La rotación dipolar se refiere al reordenamiento de los dipolos en presencia de un campo electromagnético; este movimiento molecular forzado resulta en el calentamiento del disolvente. La capacidad de absorción de microondas por un disolvente y su conversión en calor depende del factor de disipación ($\tan \delta$) definido por la siguiente ecuación:

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'}$$

en donde ϵ'' es el factor de transferencia dieléctrica (medida de la eficiencia de conversión de energía en forma de microondas a calor) y ϵ' es la constante dieléctrica (medida de la polarizabilidad de la molécula en presencia de un campo eléctrico). Las moléculas polares y las soluciones iónicas absorberán las microondas eficientemente por poseer un momento dipolar permanente; por otro lado, las moléculas no polares como el hexano, no generarán calor al no ser perturbadas por las microondas. Valores de distintos factores para

algunos disolventes pueden encontrarse en las referencias: [59, 63]. En presencia de medios estructuralmente no homogéneos que contienen moléculas con distintas propiedades dieléctricas, las microondas pueden producir un calentamiento selectivo sobre ciertas áreas o componentes de la mezcla; este fenómeno también conocido como supercalentamiento, el cual se refiere a puntos donde la temperatura local es muy mayor que la temperatura medida en el medio [59].

El calentamiento por microondas ocurre de manera homogénea y se puede controlar y reproducir fácilmente a diferencia del calentamiento por conducción y convección. El mecanismo de extracción es debido al calentamiento, pudiéndose diferenciar en 3 distintos mecanismos:

- a) La muestra es sumergida en un disolvente o una mezcla de éstos, ambos son capaces de absorber las microondas eficientemente.
- b) La muestra es sumergida en una mezcla de disolventes, en los cuales se realizan combinaciones de distintas proporciones de disolventes con elevados, bajos o nulos factores de disipación.
- c) La muestra es sumergida en un disolvente incapaz de absorber las microondas; en este caso, la muestra debe ser capaz de hacerlo.

La partición de los analitos ocurre por cualquiera de los mecanismos de calentamiento antes mencionados o por la combinación de éstos, dependiendo en gran parte de la naturaleza de la muestra, el tratamiento previo a su extracción y de las propiedades de los analitos a estudiar [63, 59].

3.5 ULTRASONIDO

El ultrasonido es una onda acústica cuya frecuencia está por encima del límite perceptible por el oído humano, situada en el rango de los 20 KHz hasta los GHz [65-67]. La figura 3.5.1 muestra los rangos de frecuencia de los principales campos en los cuales es empleado el ultrasonido [65, 66]. La región de más baja frecuencia (20-40 KHz) es comúnmente empleada en los equipos de laboratorio químico para diversos fines, en esta región, la energía ultrasónica es capaz de producir la cavitación fácilmente. Se ha podido producir cavitación a frecuencias cercanas a los 2 MHz; sin embargo, las aplicaciones son limitadas por la elevada energía requerida [65, 68]. Los usos del ultrasonido dividen en dos grandes grupos:

- a) El que se utiliza para la medición sin alterar el medio (ultrasonido diagnóstico) y se caracteriza por elevadas frecuencias y baja energía (amplitud).

- b) El utilizado para producir cambios físicos y químicos en el medio, caracterizado por emplear bajas frecuencias y elevada energía (amplitud).

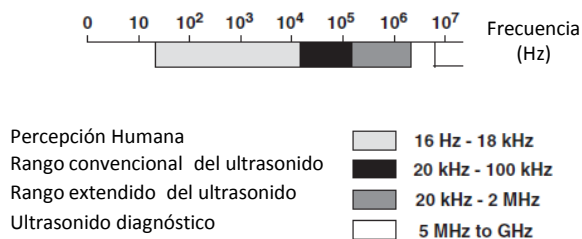


Figura 3.5.1. Rango de frecuencias del sonido y el ultrasonido [65, 66].

Por ser una onda acústica, el ultrasonido puede ser transmitido por cualquier sustancia sólida, líquida o gaseosa que posea propiedades elásticas. La onda ultrasónica produce una perturbación en el medio provocando ciclos de expansión-compresión. Los ciclos de compresión agrupan a las moléculas, mientras que los ciclos de expansión tienden a separarlas. En un líquido, el ciclo de expansión genera una presión negativa que separa las moléculas unas de otras. Si la intensidad del ultrasonido es suficientemente fuerte, el ciclo de expansión puede provocar burbujas o cavidades en el líquido. Esto ocurre cuando la presión negativa ejercida excede la fuerza de tensión local del líquido. El proceso durante el cual las burbujas se forman, crecen y colapsan de manera implosiva, es conocido como cavitación (Figura 3.5.2). La utilidad de la cavitación en procesos fisicoquímicos es debida únicamente al colapso de la burbuja y éste ocurre en el momento en el cual la burbuja no puede absorber más energía ultrasónica eficientemente; esta rápida compresión adiabática de los gases y vapores dentro de la burbuja produce temperaturas y presiones del orden de $5000\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 2000 atm . El tamaño de las burbujas es muy pequeño comparado con el volumen del líquido, por lo que el calor producido es rápidamente disipado sin producir cambios aparentes en las condiciones del medio [65-67]. Se ha estimado que la tasa de enfriamiento después de la implosión es del orden de $10^{10}\text{ }^{\circ}\text{C/s}$ [67].

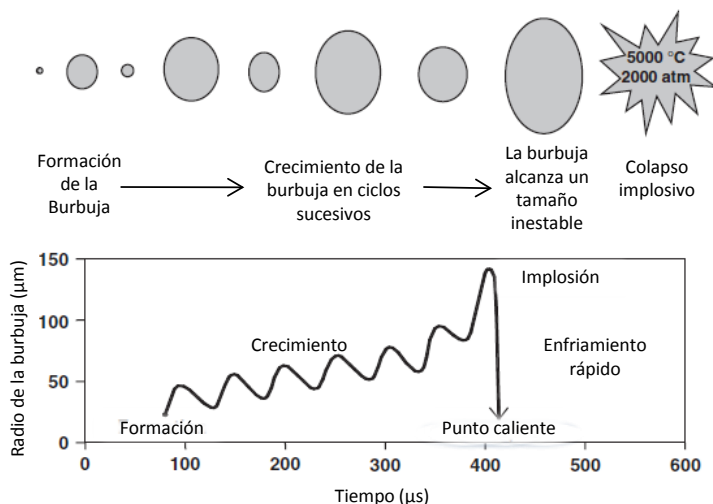


Figura 3.5.2. Representación del proceso de cavitación [65].

Cuando la cavitación ocurre cerca de una superficie sólida, la dinámica del colapso cambia drásticamente. En líquidos puros, la burbuja mantiene una forma esférica durante su colapso debido a la uniformidad del medio que la rodea; en cambio, cerca de una superficie sólida, la burbuja colapsa de manera asimétrica produciendo flujos de líquido que se impactan contra la superficie a velocidades aproximadas de 400 km/h [65, 67]. Este fenómeno favorece el impacto entre partículas, beneficiando en ciertos casos su agregación/disgregación [67, 69].

El mecanismo de extracción de compuestos de matrices sólidas por ultrasonido, se puede generalizar a manera de un proceso de ultra-agitación, facilitando la difusión de los analitos al medio [65, 66]. La elevada presión y temperatura formadas durante la cavitación, producen la formación de radicales libres entre otras especies, lo cual, puede favorecer la oxidación de ciertos analitos y por consecuencia, la disminución en recobros cuando el medio es irradiado en exceso; esta es una de las razones por las cuales se deben buscar las condiciones adecuadas entre la selección del periodo y la potencia de irradiación con ultrasonido [65, 66].

3.6 SEDIMENTO

Un sedimento es cualquier partícula de materia que puede ser transportada por el flujo de fluidos y que eventualmente puede ser depositada. Los sedimentos son transportados principalmente por agua, viento y glaciares [70]. La depositación de las partículas dependerá de varios factores como: tamaño, forma, composición y dinámica de flujo del medio de transporte. Cada uno de los factores es particular para cada zona de estudio, la depositación por otro lado, depende fuertemente de las condiciones climáticas y ambientales. La composición de un sedimento es variable, suele ser descrita en función de sus orígenes geológicos, la composición mineral y la materia orgánica [71, 72]. Algunos sedimentos de ríos y arroyos de llanuras aluviales con pendiente muy escasa, suelen contener cantidades elevadas de materia orgánica (>20 %), la cual favorece la adsorción de contaminantes orgánicos, por lo que pueden actuar como concentradores y en algunos casos incrementar la persistencia de algunos contaminantes [8, 72]. Debido a eso, los sedimentos son un medio adecuado para el estudio de la contaminación de varios cuerpos de agua ya que permiten obtener perfiles a largo plazo cuando un muestreo constante no se puede llevar a cabo.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.0.1 REACTIVOS, MATERIAL, EQUIPO E INSTRUMENTACIÓN

Instrumentación y equipos

- Cromatógrafo de gases, *Hewlet Packard 6890* acoplado a un detector selectivo de masas *Hewlet Packard 5973*.
- Baño de ultrasonido, *Sper Scientific-100005*, potencia de 50 W operando a una frecuencia 43 KHz.
- Sistema de microondas focalizadas a presión atmosférica, *Prolabo-Maxidigest 350*, con una potencia máxima de 300 W.
- Rotaevaporador.
- Balanza analítica, *Onhaus*, precisión 0.0001 g.
- Balanza digital con precisión de 0.1 g, *Kern*.
- Pipeta de 2-10 mL, *Labsystems 4500*.
- Micropipeta de 200-1000 μL , *Labopette*.
- Micropipeta de 50-200 μL , *Pipetman-Gilson*.
- Horno, 50-250 $^{\circ}\text{C}$.
- Extractor Soxhlet, capacidad de 25 mL.
- Vortex

Reactivos y material

- Metanol, grado HPLC, *J.T. Baker*.
- Acetona, grado para análisis de residuos de pesticidas, *J.T. Baker*.
- Hexano 95%, grado HPLC, *J.T. Baker*.
- Cloruro de metileno, grado para análisis de residuos de pesticidas, *J.T. Baker*
- Agua destilada
- Discos para extracción en fase sólida, C-18, *Speedisk[®], J.T. Baker*.
- Helio, grado cromatográfico. *Alltech*.

- Nitrógeno, grado cromatográfico, Alltech.
- Columna capilar ZB-5, 25m x 250µm x 0.25µm, 95 % metil-fenil polisiloxano.
- Silicato de magnesio activado, *Fluorisil*® J.T. Baker.
- Sulfato de sodio anhidro, J.T. Baker.
- Cobre micronizado.
- Algodón libre de grasa.
- Papel filtro de celulosa, 80 µm de diámetro de poro.
- Papel filtro de celulosa, 0.45 µm de diámetro de poro, *Millipore*®.
- Matraces volumétricos 10 mL ± 0.02 mL, *Pirex*.
- Matraces volumétricos 5 mL ± 0.02 mL, *Pirex*.
- Matraces volumétricos 1 mL ± 0.02 mL, *Kimax*.
- 4,4 dibromobifenilo, 98 %, Aldrich. (Surrogado)
- Benzo[a]antraceno d-12, 98 %, Cambridge Isotope Laboratories. (Estándar Interno)
- Ácido laurico, 99.5 %, Fluka.
- Hexametildisilano, SIGMA.
- Fluorisil, silicato de magnesio activado, malla 60-100, J.T. Baker
- Ácido nítrico 99.9 %, J.T. Baker
- Acido clorhídrico 36.5 %, J.T. Baker.
- Hidróxido de sodio, 99.9 %, J.T. Baker.
- Sidesterina, Merck.
- Tamices malla 10, 175 y 325.
- Termómetro -10-400 °C.

Estándares

HAP's

- Acenafteno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Acenaftileno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Antraceno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Benzo[a]antraceno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Benzo[a]pireno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Bifenilo >98% de *Sigma Aldrich*.

4. Parte experimental: reactivos, material, equipo e instrumentación

- Dibenzo[a,h]antraceno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Dibenzofurano >98% de *Sigma Aldrich*.
- Dibenzotiofeno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Fenantreno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Fluoranteno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Fluoreno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Indeno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Naftaleno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Pireno >98% de *Sigma Aldrich*.
- Benzo[k]fluoranteno 98 % de *Chem Service*.
- p,p-DDT >98% de *Altech*.
- Dieldrin >98% de *Altech*.
- Endrin >98% de *Altech*.
- Mirex >98% de *Altech*.
- Metoxicloro >98% de *Altech*.
- Endosulfan (96 % de endosulfan I y 4 % de endosulfan II) de *Altech*.

Plaguicidas organofosforados:

- Metil-paration >98% de *Altech*.
- Paration >98% de *Altech*.
- Malatión >98% de *Altech*.
- Fosadona >98% de *Altech*.
- Metil-azinfos >98% de *Altech*.
- Cumafos >98% de *Altech*.

Plaguicidas organoclorados:

- Lindano >98% de *Altech*.
- Heptacloro >98% de *Altech*.
- Aldrin >98% de *Altech*.
- p,p-DDE >98% de *Altech*.
- p,p-DDD >98% de *Altech*.

Plaguicida piretroide:

- Permetrina (78% Cis-permetrina y 20% Trans-permetrina) de *Chem Service*.

NOTA: los métodos EPA establecen que si el estándar cuenta con una pureza superior al 98% y el rango de concentraciones de trabajo se encuentra en el orden de partes por billón (ng/mL) se puede prescindir de la corrección por peso en la preparación de las disoluciones.

4.0.2 METODOLOGÍA

El desarrollo del presente trabajo se subdivide en dos rubros: el principal se enfoca en el desarrollo, la optimización y la evaluación de parámetros de validación de las técnicas de EAMFPA y de EBU y su comparación con la extracción Soxhlet; la parte secundaria realizada de manera simultánea consistió en llevar a cabo el monitoreo de la calidad de agua en cuencas del río Lacantún a través del análisis de muestras de agua y sedimento. Parte de las muestras de sedimento se analizaron mediante el método *EPA-3540C-1996*, mientras que no se establecieron las condiciones óptimas de extracción mediante el baño de ultrasonido; posterior a eso, las muestras fueron analizadas mediante dicha técnica de extracción.

El diagrama de la figura 4.0 muestra el proceso general de análisis de las muestras, cada paso se describe con las respectivas variantes que pudiesen llevar ya sea que se tratase de muestras para monitoreo de la calidad de agua o para el estudio de las técnicas de extracción.

4.1 TRATAMIENTO PREVIO A LA EXTRACCIÓN

4.1.1 Muestras de sedimento para el estudio de las metodologías de extracción: las muestras de sedimento se secaron a 105 °C durante 24 h y se tamizaron con una maya de 2 mm. Se emplearon muestras de sedimento provenientes de la región de muestreo cuyo origen procura la ausencia de plaguicidas y HAP's; no obstante, se analizaron mediante el método *EPA-3540C-1996* para garantizar su ausencia y/o conocer la concentración para realizar las correcciones correspondientes.

4.1.2 Muestras de sedimento para análisis de calidad del agua: se colocó y extendió la muestra de sedimento sobre papel absorbente, se removieron restos de hojas, ramas, piedras y cualquier otro objeto extraño. La muestra se homogeneizó y se pesaron aproximadamente 20 g \pm 0.1 g de la muestra húmeda (dicha pesada es para asegurar una masa de por lo menos 10 g de muestra en base seca considerando que la cantidad de agua oscila entre el 50 % y 20 %) y se colocaron en el recipiente de extracción; a su vez, otra porción de la misma muestra pesada bajo la misma precisión se colocó en un vaso de precipitados y se introdujo en un horno a 105 °C durante 24 h con la finalidad de determinar el porcentaje de humedad y realizar las correcciones pertinentes. La porción para análisis se mezcló con una cantidad suficiente de sulfato de sodio anhidro para que la muestra adquiriese una consistencia arenosa.

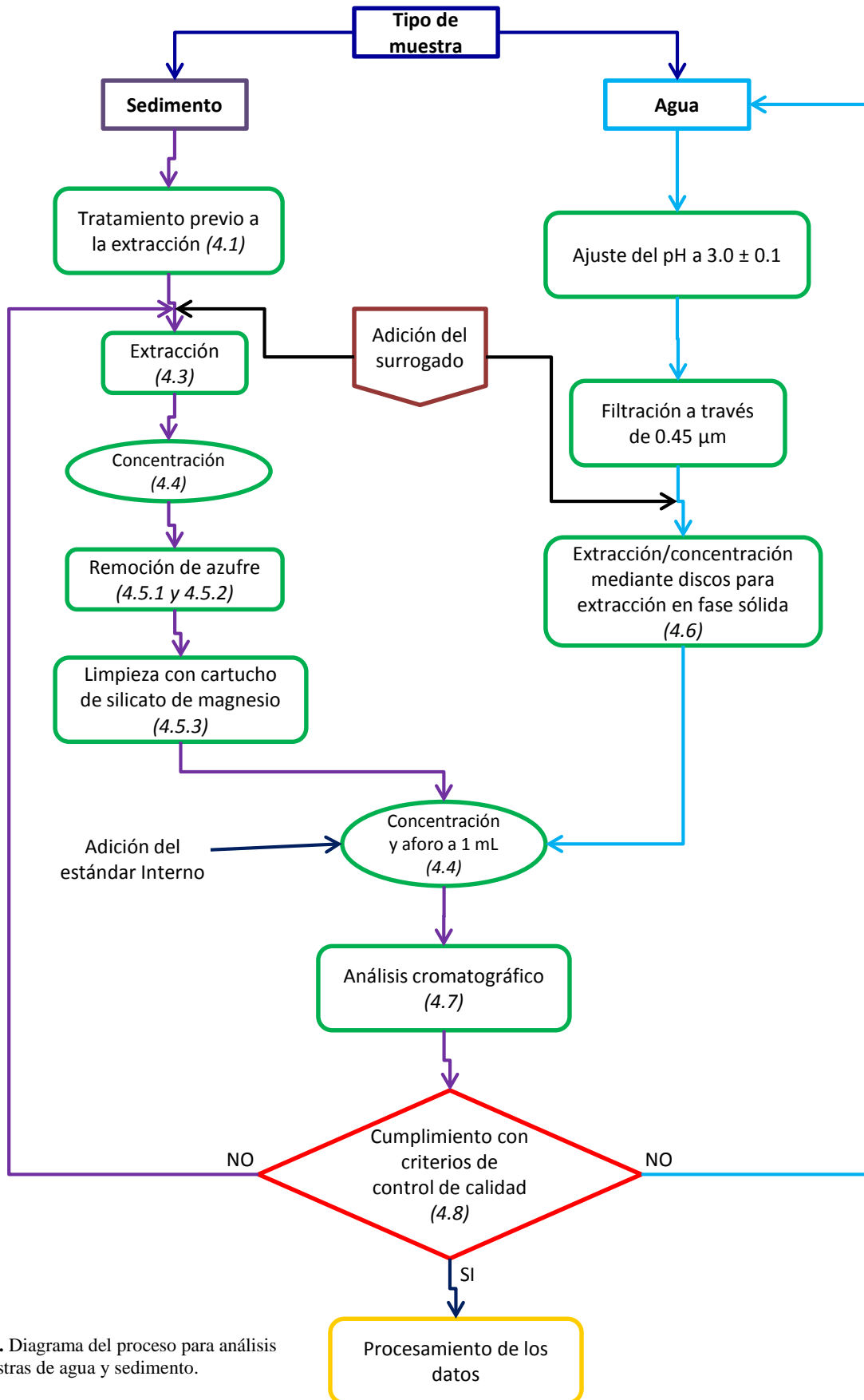


Figura 4.0. Diagrama del proceso para análisis de las muestras de agua y sedimento.

4.2 FORTIFICACIÓN DE LOS SEDIMENTOS

Se pesó una cantidad no mayor a $300 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$ de sedimento previamente tratado y se colocó en un matraz redondo de 1 L para rotaevaporador; se vertió al matraz un volumen suficiente para cubrir el sedimento de una disolución de metanol/acetona (1:1) conteniendo a los analitos a una concentración adecuada para fortificar al sedimento a una concentración aproximada de 50 ng/g . La mezcla se llevó a sequedad mediante el rotaevaporador manteniendo la temperatura del baño a $60 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$; se mantuvo una velocidad intensa de rotación del matraz para favorecer una adecuada homogeneización y adsorción de los analitos con las partículas de sedimento. Este proceso llega a tardar entre 3-5 h.

Después de la fortificación, los sedimentos se almacenaron por un periodo de 15 días a temperatura ambiente antes de ser empleados en los estudios de optimización y validación.

4.3 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN Y OPTIMIZACIÓN

Para la optimización de las técnicas de EAMFPA y EBU se emplearon diseños factoriales fraccionados con la finalidad de identificar los factores influyentes y seleccionar las condiciones óptimas para la extracción en conjunto de los HAP's, los plaguicidas organoclorados, organofosforados y la permetrina de muestras de sedimento realizando el menor número de experimentos. Las mezclas de disolventes de extracción estudiadas así como su proporción (ver sec. 4.3.1 y 4.3.2), muestran ser las más adecuadas para la extracción de este tipo de compuestos, como lo indican estudios previos y algunas normas [17-31, 34].

4.3.1 EAMFPA

Los factores evaluados fueron:

- Mezcla extractante: acetona-hexano (1:1), acetona-cloruro de metileno (1:1).
- Volumen de la mezcla extractante: 20-40mL.
- Número de extracciones: 1-3.
- Tiempo total de irradiación: 2-12 min.
- Periodo entre los ciclos de irradiación: 1-6 min.

Diez gramos de muestra se empacaron con papel filtro y se colocaron en el tubo de extracción (figura 4.3). Se adicionó la mezcla extractante y se programó el equipo para realizar los ciclos respectivos. La potencia inicial de irradiación se mantuvo constante a 60 W durante 1 minuto, con la finalidad de elevar

la temperatura de la mezcla de disolventes cerca del punto ebullición (49 °C acetona/cloruro de metileno y 52 °C acetona/hexano). Los demás ciclos de irradiación se mantuvieron constantes a 30 W por un minuto, siendo esto suficiente para llevar nuevamente a ebullición a la mezcla extractante incluso después del periodo máximo de no irradiación. El volumen mínimo de extracción para dicho tamaño de muestra es de 20mL considerando que el área de irradiación debe estar cubierta por el disolvente y la muestra debe estar sumergida en su totalidad. Los demás rangos de los factores fueron seleccionados bajo observaciones llevadas a cabo durante el desarrollo del experimento empleando en todo momento el criterio de disminuir lo más posible el tiempo de extracción.

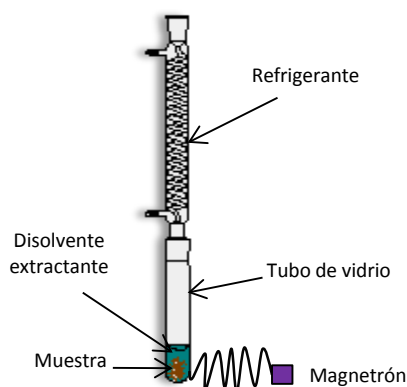


Figura 4.3. Esquema del sistema de extracción asistido por microondas focalizadas a presión atmosférica.

4.3.2 EBU

Los factores evaluados fueron:

- Volumen de la mezcla extractante: 15-30mL.
- Mezcla extractante: acetona-hexano (1:1), acetona-cloruro de metileno (1:1).
- Número de extracciones: 1-4.
- Tiempo de irradiación: 3-15 min.

Diez gramos de muestra se depositaron en un vaso de precipitados de 100 mL, se adicionó el disolvente extractante y se colocó en el baño de ultrasonido. Se agregó suficiente agua al baño para cubrir una tercera parte del vaso, esta condición se mantuvo constante durante todos los experimentos al ser un factor que afecta la transmisión de la energía ultrasónica desde el transductor hacia la muestra. Los rangos de los factores se seleccionaron bajo criterios similares a los de la EAMFPA.

4.3.3 Extracción Soxhlet

Fue implementada a partir de los criterios del método EPA-3540C-1996. Diez gramos de muestra se empacaron con papel filtro y se colocaron en un extractor Soxhlet de 25 mL de capacidad. 40 mL de la mezcla extractante fueron depositados en un matraz redondo. Se utilizó sidesterina para controlar la ebullición. Se extrajo la muestra por un periodo de 6 h manteniendo un ciclo de 10-12 descargas por hora.

4.4 CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los extractos se pusieron en baño maría a una temperatura de 40 °C y se colocaron bajo un flujo delicado de nitrógeno. Manteniendo dichas condiciones se garantizó la menor pérdida de los analitos.

4.5 LIMPIEZA DE LOS EXTRACTOS

4.5.1 Filtrado: los extractos se filtraron por gravedad a través de un filtro de celulosa con un diámetro de poro de 80 µm.

4.5.2 Remoción de azufre: se realizó mediante la adición aproximada de 2 g de cobre micronizado y activado. La activación del cobre se realizó mediante su inmersión en una disolución de ácido nítrico al 20 %; la activación se debe realizar justo antes de la remoción de azufre. El extracto se agita por un minuto formándose el sulfuro de cobre.

4.5.3 Limpieza con silicato de magnesio (Fluorisil): la activación del *Fluorisil* se realizó colocándolo en el horno a 105 °C durante 48 h. El cartucho preparado consiste de una capa de algodón libre de grasa, encima de ésta una capa de 1 cm de sulfato de sodio anhidro y una capa de aproximadamente 4 cm de *Fluorisil* (equivalente a 2 g ± 0.1 g con un valor de ácido láurico de 93.5, evaluado por el método EPA-3620B-1996). El procedimiento de limpieza de los extractos se ilustra en la figura 4.5; el acondicionamiento se llevó a cabo con 10 mL de la mezcla extractante permitiendo el contacto de ésta con el adsorbente por un minuto con la finalidad de remover impurezas; antes de permitir la entrada de aire al adsorbente se colocó el extracto y se permitió su contacto con el adsorbente por 1 minuto, posteriormente, la elución se realizó con 15 mL de la mezcla extractante a un flujo aproximado de 5 mL/min. Los extractos se concentraron y aforaron a 1 mL con la adición del estándar interno *benzo[a]antraceno-d12* para obtener una concentración de 500 ng/mL.

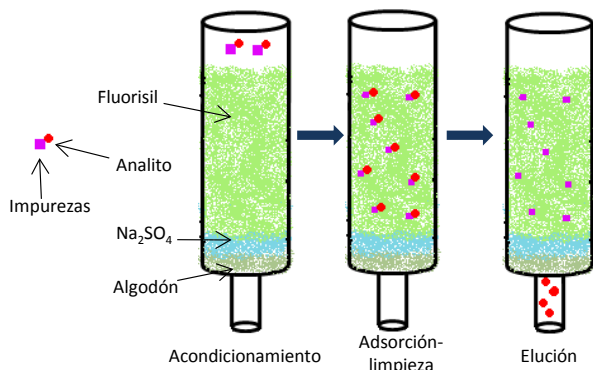


Figura 4.5. Proceso generalizado de limpieza de los extractos con cartucho de Fluorisil. Se representa el arreglo de empaque del cartucho y el mecanismo de remoción de impurezas; en este proceso las impurezas son adsorbidas y lo eluido son los analitos.

4.6 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE AGUA

A un volumen de 1 L de agua se le ajustó el pH a 3.0 ± 0.1 con ácido clorhídrico concentrado y se adicionó el subrogado (4,4-dibromobifenilo). La extracción se llevó a cabo mediante discos para extracción en fase sólida de fase C-18 (*Speedisk®*, *J.T. Baker Barkerbond*). El acondicionamiento del disco se realizó haciendo pasar 10 mL de metanol seguidos de 20 mL de agua destilada a un flujo aproximado de 10 mL/min, justo antes de eluir el agua destilada se vertió la muestra y se eluyó a un flujo aproximado de 35 mL/min. La desadsorción de los compuestos se llevó a cabo con 15 mililitros de una mezcla de acetona/cloruro de metileno (1:1) divididos en porciones de 5 mL permitiendo su contacto con el adsorbente por 1 minuto. Finalmente los extractos se concentraron a 1 mL con la adición del estándar interno y se inyectaron en el cromatógrafo. El factor de concentración para este tipo de muestras fué de 1000:1.

4.7 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Se utilizó helio como gas acarreador, la dinámica de flujo se mantuvo en el modo de flujo constante a 1 mL/min. La inyección de la muestra se realizó en el modo sin división de flujo (splitless) con las siguientes condiciones:

- Volumen de inyección: 1 μL .
- Tiempo de splitless: 0.5 min.

- Temperatura del inyector: 270 °C.

La temperatura del detector y la interface entre el cromatógrafo y el detector fueron respectivamente 150 °C y 280 °C. Se realizó una elución por gradiente de temperatura empleando el siguiente programa: 60 °C 1min, (30 °C/min)-150 °C 1min, (10 °C/min)-220 °C 1min, (10 °C/min)-300 °C 5 min dicho programa se muestra en la *figura 4.7*; el tiempo total de corrida es de 25 minutos, donde los últimos 5 minutos se emplean para la limpieza de la columna. La detección se realizó mediante un monitoreo selectivo de iones (SIM, por sus siglas en inglés); los iones para la cuantificación y la confirmación se seleccionaron de acuerdo con el método *EPA-3540C-1996* para la mayoría de los analitos. Los iones seleccionados para cada compuesto se muestran en la tabla del *anexo A*. Adicionalmente, cada muestra se inyectó nuevamente para realizar un detección por escaneo completo del espectro de masas (SCAN) y así poder identificar algunos compuestos no incluidos en el estudio. La cámara de ionización se mantuvo apagada por 3 minutos después de la inyección con la finalidad de permitir la elución del disolvente.

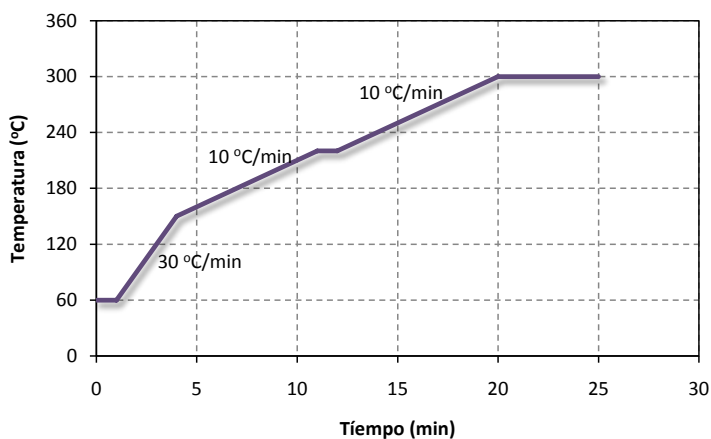


Figura 4.7. Programa de temperatura empleado para la separación de los analitos en el cromatógrafo de gases.

4.8 CONTROL DE CALIDAD

Los criterios para controlar la calidad de los resultados fueron basados en el método *EPA-3540C-1996*.

4.8.1 Porcentaje de recobro del subrogado: cada muestra fue adicionada con 500 ng del subrogado 4,4-dibromobifenilo, una disolución control de subrogado fue preparada simultáneamente por cada lote de muestras analizadas con la finalidad de evaluar el porcentaje de recuperación y así realizar las correcciones pertinentes sobre la concentración de los analitos. Las muestras que presentasen un recobro inferior al 70 % fueron descartadas y se volvieron a preparar.

4.8.2 Reactividad del inyector: antes de cada inyección de las muestras en el cromatógrafo y por cada periodo de 12 h en el caso de inyecciones continuas, se inyectó una disolución de DDT con la finalidad de evaluar el porcentaje de degradación de este compuesto en sus respectivos productos. Para esto se empleó la siguientes ecuación:

$$\% \text{ de degradación de DDT} = \left(\frac{\text{Área de } \langle \text{DDD} \rangle + \langle \text{DDE} \rangle}{\text{Área de } \langle \text{DDT} \rangle + \langle \text{DDD} \rangle + \langle \text{DDE} \rangle} \right) \cdot 100 \quad (4.1)$$

Cada vez que se observó un porcentaje de degradación mayor al 15 %, se tomaron medidas correctivas sobre el “liner” (cambiar la lana de vidrio, lavar, silanizar, etc.) y se volvieron a inyectar las muestras.

4.8.3 Calibración: se inyectó bimestralmente una disolución control de los analitos a una concentración correspondiente al punto central de la curva de calibración; se estableció como límite una variación máxima del 10 % en la respuesta como criterio para recalibración del instrumento; adicionalmente, cada año se prepararon nuevamente las disoluciones estándar de los analitos y se recalibró el instrumento.

4.9 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

4.9.1 Linealidad del sistema: se evaluó para cada compuesto efectuando una curva de calibración de 7 puntos, realizados por triplicado en un intervalo de concentraciones de 50 a 1000 ng/mL empleando el método del estándar interno para corregir la variabilidad del sistema de inyección. Se calcularon los respectivos intervalos de confianza para la ecuación de la recta así como el coeficiente de correlación.

4.9.2 Linealidad del método (muestras de sedimento): se prepararon muestras de sedimento mezclando el sedimento fortificado con los analitos a 50 ng/g con sedimento libre de éstos a proporciones que permitiesen generar una curva de método en un intervalo de concentraciones de 500 a 5 ng/mL, basado en la concentración de los extractos y no de la muestra. Se mantuvo un peso de muestra a extraer similar en todos los casos. El punto de mayor concentración en la curva correspondió a la extracción de 10 g del sedimento fortificado, mientras que el punto de menor concentración a una pesada aproximada de 0.1 g del sedimento fortificado y 9.9 g del sedimento sin fortificar. Se realizaron las correcciones por pesada pertinentes en cada caso para poder comparar las curvas. Para la EAMFPA y EBU se realizaron 8 puntos en un rango de concentración de 5 a 500 ng/mL, mientras que para la extracción Soxhlet solo se evaluaron 3

puntos a concentraciones equivalentes a 125, 250 y 500 ng/mL. Cada punto se realizó por triplicado mediante pesadas independientes. Se realizó el análisis estadístico para evaluar correlación.

4.9.3 Evaluación del efecto matriz (muestras de sedimento): se compararon estadísticamente las curvas de calibración de método con la curva de calibración instrumental para descartar un efecto positivo de la matriz. Las pendientes de las curvas de calibración de método deben ser estadísticamente iguales o menores que las de las curvas de calibración instrumentales.

4.9.4 Límites de detección (LD) y de cuantificación (LC), instrumental y de método: se calcularon estadísticamente mediante una extrapolación de curvas de calibración instrumentales. El LD se calculó siguiendo la fórmula $y_0 + 3S_0$, mientras que el LC mediante la relación $y_0 + 10S_0$; donde y_0 corresponde a la ordenada al origen y S_0 a su desviación estándar, en las respectivas curvas de calibración. Para evaluar el LD y LC de método se realizó el análisis de una muestra de sedimento fortificada a una concentración similar a la mínima concentración detectable y cuantificable calculada considerando el factor de concentración para corroborar la detección y cuantificación de los analitos.

4.9.5 Porcentaje de recobro en muestras de agua: se adicionaron los analitos a un volumen de 1 L de agua destilada para tener una concentración aproximada de 0.5 ng/mL. Tres muestras fueron analizadas y la concentración obtenida se comparó con una disolución estándar a una concentración 1000 veces mayor para establecer el porcentaje de recobro de cada uno de los analitos.

4.10 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

Cinco muestras de sedimento fortificadas (50 ng/g) se analizaron por cada técnica de extracción optimizada y la extracción Soxhlet. Las áreas obtenidas para cada analito se corrigieron por el porcentaje de recobro del subrogado y el peso de la muestra, finalmente se ajustaron a un peso definido para poder realizar una comparación entre las eficiencias de extracción de las técnicas estudiadas.

4.11 MUESTREO

El muestreo de los sedimentos se llevó a cabo en la desembocadura hacia el río Lacantún de los ríos y arroyos provenientes de las regiones con asentamientos humanos, actividad agropecuaria y de los provenientes del interior de REBIMA. Los puntos de muestreo se referenciaron geográficamente para realizar la recolección en la misma zona de manera mensual/bimestral; las coordenadas de cada uno de los puntos muestreados se presentan en la *tabla 4.11*. Se establecieron un total de 11 puntos de muestreo en la zona, los sitios y el sentido de flujo del río Lacantún se muestran en el mapa de la *figura 4.11*. Los sitios de

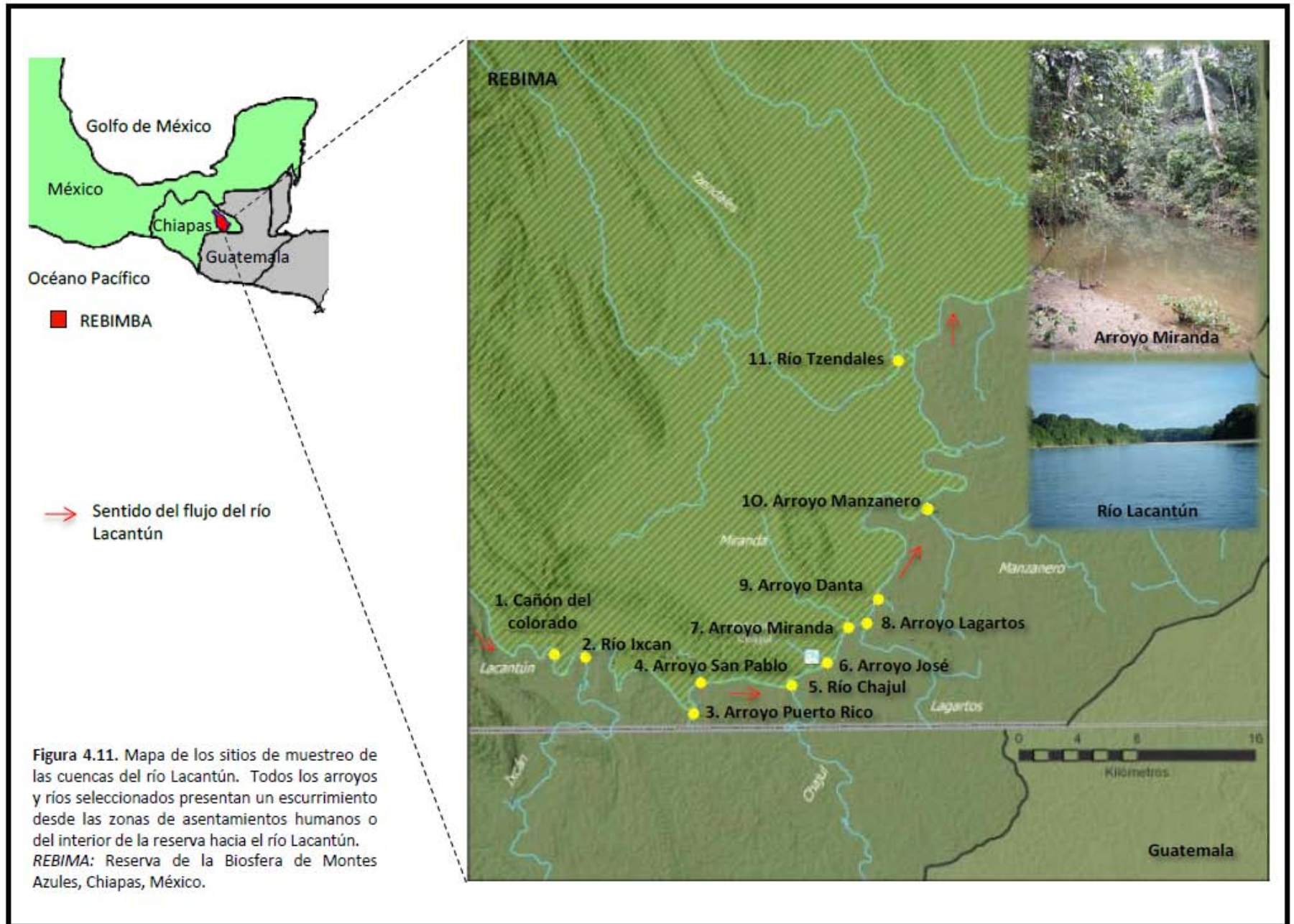
muestreo numerados como: 2, 3, 5, 8, 9 y 10 corresponden a cuerpos de agua provenientes de la región con asentamientos humanos, mientras que los restantes de cuerpos de agua provenientes de REBIMA.

Los sedimentos se colocaron en una bolsa de plástico grado alimenticio para evitar la contaminación por ftalatos. Debido a las dificultades de accesibilidad a la región de muestreo, los sedimentos se almacenaron en obscuridad a temperatura ambiente y se extrajeron en un periodo no mayor a 12 días desde su recolección. Una vez realizada la extracción, los extractos pueden permanecer por un periodo de hasta 40 días antes de ser analizados mediante una técnica instrumental [32].

El agua se colectó mediante un muestreo compuesto, diariamente se tomó un volumen de 5 L y se depositó en un contenedor de 300 L, por lo que mensualmente o bimestralmente se analizó un volumen de 1 L de cada contenedor. Únicamente se tomó agua de dos regiones, una en el río Lacantún cerca del punto #6 y otra en el punto #11 por la cercanía de las estaciones de monitoreo ambiental y la disponibilidad del personal encargado de esta actividad. Las muestras se almacenaron en botellas de plástico grado alimenticio y se procedió de manera similar que con las muestras de sedimento.

# de sitio	Nombre	LN	LW	ASNM (metros)	# de sitio	Nombre	LN	LW	ASNM (metros)
1	Cañón del colorado	16°07'19.1"	91°06'24.1"	183	7	Arroyo Miranda	16°08'06.9"	90°55'12.4"	138
2	Río Ixcan	16°07'16.6"	91°05'19.8"	171	8	Arroyo Lagartos	16°08'19.5"	90°54'30.9"	142
3	Arroyo Puerto Rico	16°05'04.6"	91°01'11.6"	156	9	Arroyo Danta	16°09'08.0"	90°54'06.5"	144
4	Arroyo San Pablo	16°06'09.1"	91°00'52.3"	157	10	Arroyo Manzanero	16°12'27.2"	90°52'14.3"	137
5	Río Chajul	16°05'58.3"	90°57'24.1"	151	11	Río Tzendales	16°17'54.6"	90°53'12.7"	129
6	Arroyo José	16°06'49.8"	90°56'03.1"	144	LN: Latitud norte; LW: longitud oeste; ASNM: altura sobre el nivel del mar.				

Tabla 4.11. Coordenadas geográficas de los sitios de muestreo.



5. RESULTADOS

5.1 SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA

La figura 5.1.1 muestra el cromatograma obtenido a partir de una disolución estándar de los analitos a una concentración de 1 µg/mL. Los parámetros cromatográficos de los compuestos se presentan en la tabla 5.1.1. La eficiencia de la columna se sitúa en el orden de 10⁶ platos teóricos, el cual es un valor elevado que refleja el buen estado de la columna cromatográfica, por lo que se decidió disminuir el tiempo de corrida para la separación de los analitos a un tiempo menor a los 25 minutos, lográndose la adecuada separación entre la mayoría de los compuestos. Para lograr una separación entre los analitos de por lo menos 99.9 %, es necesario obtener factores de resolución superiores a 1.5 y factores de selectividad (α) superiores a la unidad, esto no se logró en algunos casos, presentándose coelución entre los compuestos: lindano/dibenzotiofeno, pireno/endosulfan I, fosadona/metil-azinfos y trans-permetrina/cumafos. Esta coelución no interfiere en la detección individual de los compuestos y la generación de los resultados ya que el modo de detección fue por SIM y los iones seleccionados (*anexo A*) son únicos y característicos para cada uno de los analitos.

Compuesto	Tr (min)	w _{1/2}	α	N	Rs	Compuesto	Tr (min)	w _{1/2}	α	N	Rs
Indeno	3.4	0.019		177723		DDE	12.01	0.025	1.04	1280852	15.9
Naftaleno	4.21	0.029	1.24	116966	33.8	Dieldrin	12.07	0.034	1.00	699439	2.0
Bifenilo	5.31	0.032	1.26	152821	36.1	Endrin	12.53	0.039	1.04	572883	12.6
Acenaftileno	5.83	0.033	1.10	173222	16.0	Endosulfan II	12.83	0.043	1.02	494094	7.3
Acenafteno	6.06	0.035	1.04	166380	6.8	DDD	12.97	0.048	1.01	405220	3.1
Dibenzofurano	6.31	0.032	1.04	215800	7.5	DDT	13.79	0.035	1.06	861560	19.8
Fluoreno	6.84	0.032	1.08	253574	16.6	Benzo[a]antraceno	14.82	0.044	1.07	629628	26.1
Lindano	8.29	0.04	1.21	238387	40.3	Metoxicloro	15.09	0.033	1.02	1160496	8.2
Dibenzotiofeno	8.29	***	1	***	0.0	Fosadona	15.65	0.052	1.04	502707	13.2
Fenantreno	8.53	0.018	1.03	1246367	13.3	Metil-azinfos	15.72	0.055	1.00	453391	1.3
Antraceno	8.63	0.035	1.01	337426	3.8	Mirex	15.88	0.036	1.01	1079914	3.5
Metil-Paration	9.4	0.019	1.09	1358443	28.5	Permetrina (cis)	16.83	0.042	1.06	891174	24.4
Heptacloro	9.51	0.033	1.01	460921	4.2	Permetrina (trans)	17.05	0.043	1.01	872579	5.2
Malation	10.03	0.028	1.05	712162	17.0	Cumafos	17.05	***	1	***	0.0
Aldrin	10.13	0.037	1.01	416014	3.1	Benzo[k]fluoranteno	17.46	0.047	1.02	765924	8.7
Paration	10.28	0.031	1.01	610318	4.4	Bezo[a]pireno	18.06	0.052	1.03	669456	12.1
4,4-dibromobifenilo	10.49	0.031	1.02	635507	6.8	Dibenzo[a,h]antraceno	20.39	0.067	1.13	514017	39.2
Fluoranteno	11.04	0.035	1.05	552198	16.7						
Pireno	11.52	0.04	1.04	460339	12.8						
Endosulfan I	11.55	0.033	1.00	679875	0.8						

Tr: tiempo de retención; w_{1/2}: ancho del pico a la mitad de su altura; α : factor de selectividad; N: eficiencia; Rs: resolución.

Tabla 5.1.1. Parámetros cromatográficos de los analitos estudiados. Rs<1.5 (amarillo) indica coelución entre los compuestos.

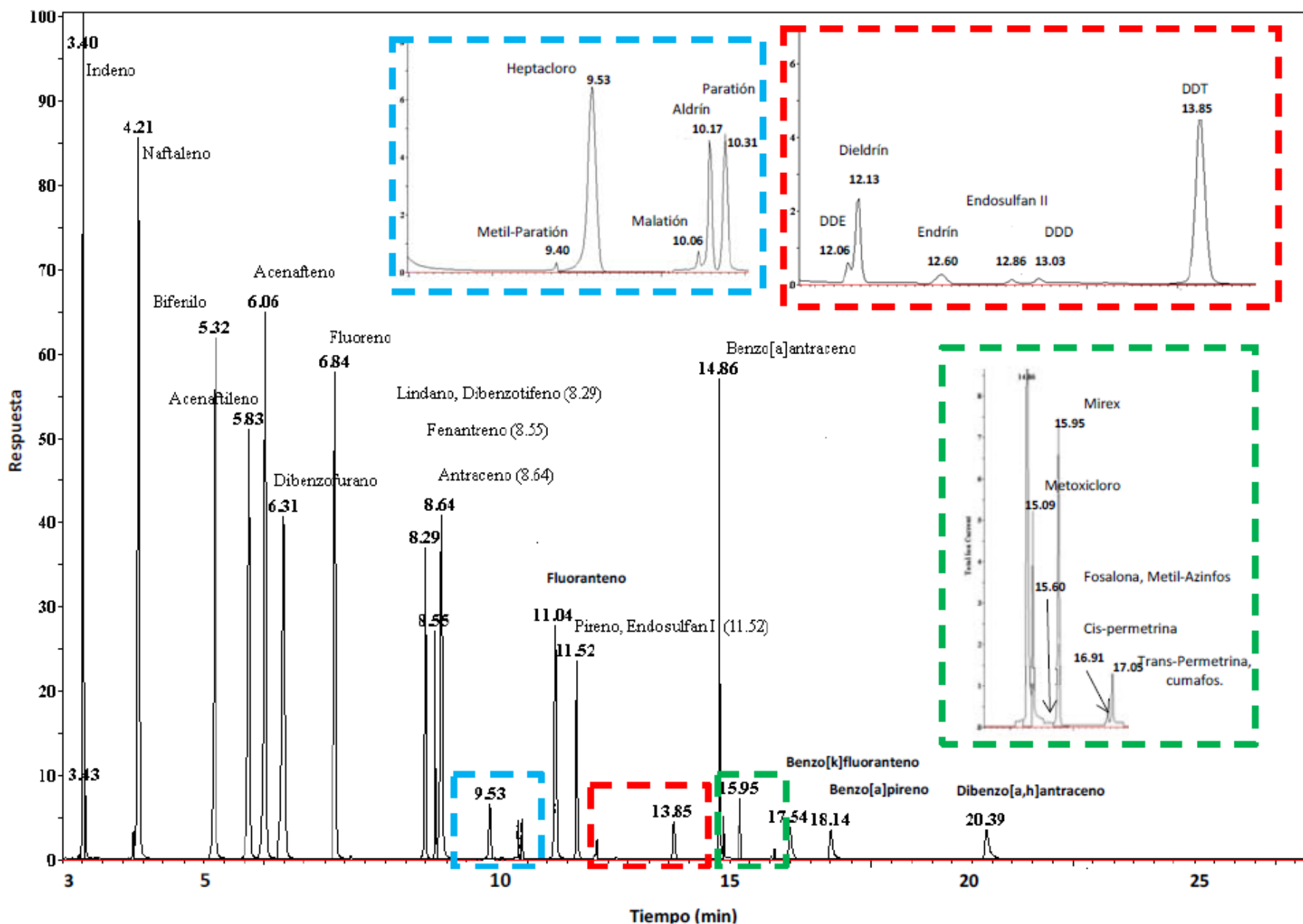


Figura 5.1.1. Cromatograma de una disolución estándar de los analitos a una concentración aproximada de 1 µg/mL. Detección por monitoreo selectivo de iones (ver anexo A para los iones seleccionados).

La figura 5.1.2 muestra los cromatogramas extraídos por el ión de cuantificación para los compuestos coeluyentes al realizar la detección por modo SIM. Los analitos se encuentran a concentraciones similares, pudiéndose observar una diferencia significativa en los factores de respuesta, motivo por el cual se corroboró una adecuada discriminación entre los compuestos al realizar variaciones en las proporciones de las concentraciones en factores de 100/1 y 1/100, demostrando así la ausencia de una interferencia en la detección de un compuesto sobre otro a pesar de una diferencia significativa entre sus concentraciones. En el caso del Benzo[a]antraceno/Metoxicloro, ambos analitos tienen en común algunos de los iones seleccionados para su detección individual, pero con distinta abundancia relativa; en este caso se puede observar una adecuada resolución, por lo que la selección de estos iones no representa un factor de error en la cuantificación individual.

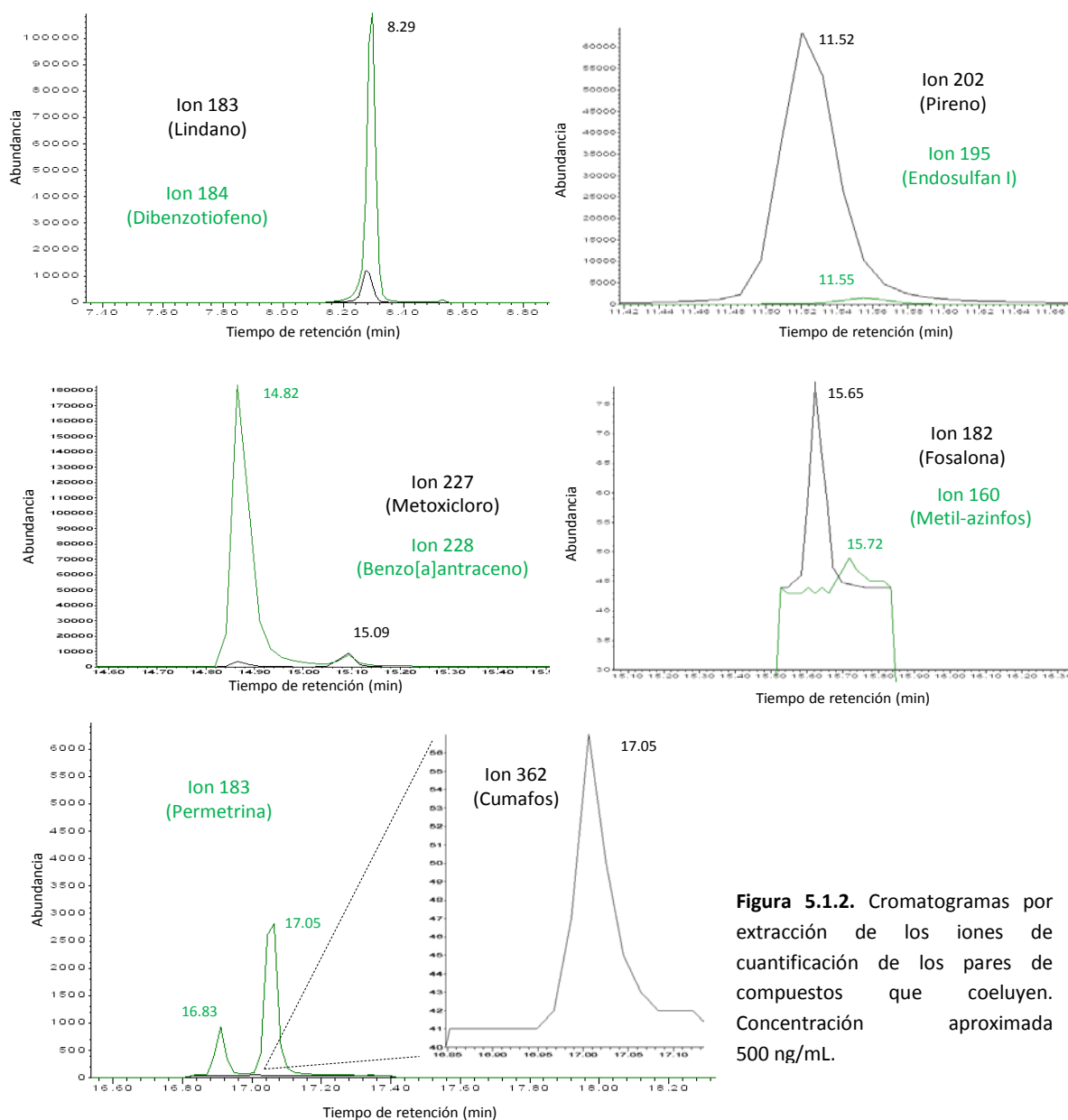


Figura 5.1.2. Cromatogramas por extracción de los iones de cuantificación de los pares de compuestos que coeluyen. Concentración aproximada 500 ng/mL.

En el *anexo B* se presentan los espectros de masa de cada uno de los analitos indicándose el ion de cuantificación empleado.

5.2 CURVAS DE CALIBRACIÓN INSTRUMENTALES

Las figuras 5.2.1, 5.2.2 y 5.2.3 presentan las curvas de calibración de los analitos subdivididos por grupos de compuestos. Las tablas 5.2.1, 5.2.2 y 5.2.3 contienen los principales parámetros del análisis de regresión lineal. Las disoluciones estándar de cada concentración se prepararon y analizaron por triplicado en el instrumento mediante el método del estándar interno. Los rangos de concentraciones parten de los 20 ng/mL y considerando el factor de concentración de las muestras durante el pre-tratamiento que es de 10g a 1mL (10:1), las concentraciones mínimas de la curva de calibración se sitúan por debajo de los límites máximos permisibles (*anexo J*), cubriendo perfectamente los objetivos de estudio para el cual se desarrolla. A pesar del amplio intervalo en las concentraciones, la linealidad en todos los casos es satisfactoria, reflejándose en los valores superiores a 0.99 del coeficiente de correlación. Para el DDT, la permetrina y el endosulfan, se sumó su área con la de sus respectivos isómeros y/o productos de degradación de tal manera que el resultado estuviese basado sobre un solo compuesto; por ejemplo para la cuantificación de DDT, se realizó la suma de las áreas del DDT, DDE y DDD, reportándose como concentración total de DDT. Este procedimiento se realizó porque dichos analitos se degradan en el ambiente y en el inyector; adicionalmente, sólo son formados a partir del compuesto principal, por lo que es más conveniente cuantificar en función del compuesto de origen para el manejo de la información que tener datos de cada uno de los productos, dado que además su concentración variará según las condiciones en las que se encuentre el inyector cromatográfico.

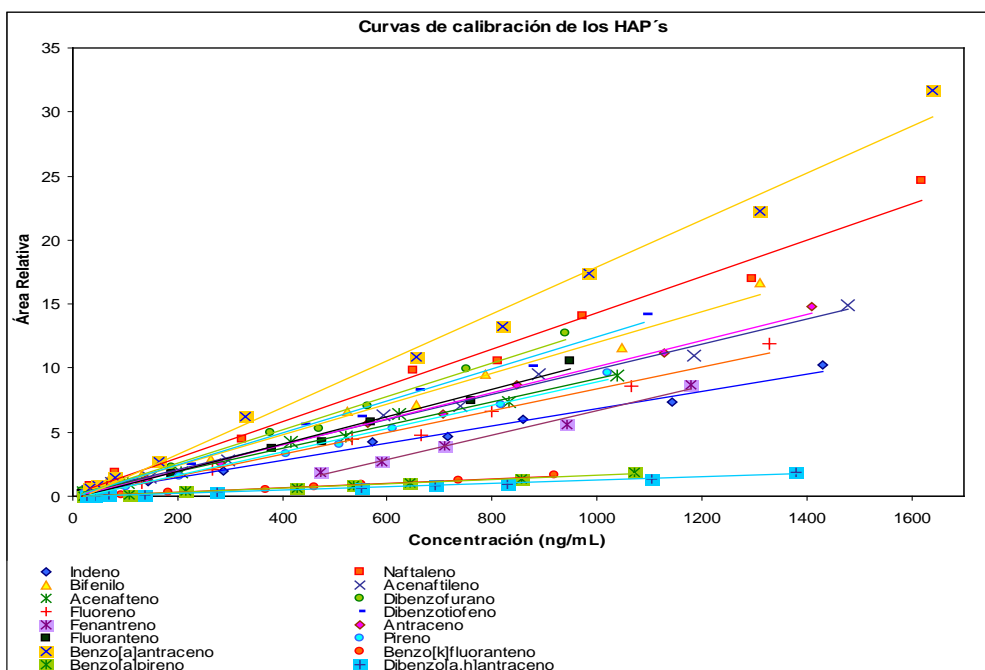


Figura 5.2.1.

Curvas de calibración de los HAP's.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de correlación	Rango de concentración (ng/mL)	n
Indeno	0,0067 ± 0,0005	0,14 ± 0,32	0,9965	1430 – 28,6	10
Naftaleno	0,014 ± 0,0012	0,17 ± 0,99	0,9943	1620 – 32,4	10
Bifenilo	0,0119 ± 0,0009	0,015 ± 0,631	0,9951	1310 – 26,2	10
Acenaftileno	0,0098 ± 0,0006	0,13 ± 0,46	0,9968	1480 – 29,6	10
Acenafteno	0,0090 ± 0,0006	0,15 ± 0,33	0,9963	1040 – 20,8	10
Dobenzofurano	0,0131 ± 0,0009	-0,066 ± 0,424	0,9964	940 – 18,8	10
Fluoreno	0,0085 ± 0,0007	-0,097 ± 0,455	0,9951	1330 – 26,6	10
Dibenzotiofeno	0,0124 ± 0,0008	-0,043 ± 0,442	0,9967	1090 – 21,8	10
Fenantreno	0,0059 ± 0,0006	0,033 ± 0,395	0,9906	1180 – 23,6	8
Antraceno	0,0102 ± 0,0006	-0,089 ± 0,399	0,9978	1410 – 28,2	10
Fluranteno	0,0106 ± 0,0008	-0,18 ± 0,39	0,9954	950 – 19,0	10
Pireno	0,0092 ± 0,0006	-0,20 ± 0,32	0,9963	1020 – 20,4	10
Benzo[a]antraceno	0,018 ± 0,001	-0,37 ± 1,18	0,9953	1640 – 32,8	10
Bezo[k]fluoranteno	0,00174 ± 0,00008	-0,020 ± 0,038	0,9982	920 – 18,4	10
Benzo[a]pireno	0,0017 ± 0,0001	-0,030 ± 0,058	0,9966	1070 – 21,4	10
Dibenzo[a,h]antraceno	0,00132 ± 0,00009	-0,052 ± 0,065	0,9961	1380 – 27,6	10

Tabla 5.2.1. Datos del análisis de regresión lineal de los HAP's. Los intervalos de confianza se determinaron a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$). n = número de puntos en de la curva de calibración

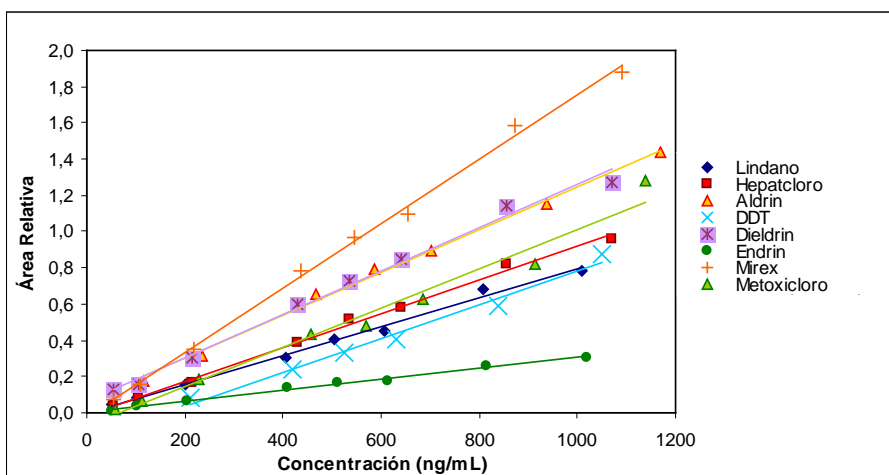


Figura 5.2.2.

Curvas de calibración de los plaguicidas organoclorados.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de correlación	Rango de concentración (ng/mL)	n
Lindano	0,00079 ± 0,00007	0,0010 ± 0,038	0,9962	1010 – 50,5	8
Heptacloro	0,00093 ± 0,00006	-0,016 ± 0,035	0,9980	1070 – 53,5	8
Aldrin	0,00118 ± 0,00009	0,062 ± 0,060	0,9979	1170 – 117,0	7
DDT	0,00092 ± 0,00017	-0,15 ± 0,12	0,9910	1050 – 210,0	6
Dieldrin	0,0011 ± 0,0001	0,063 ± 0,064	0,9959	1070 – 53,5	8
Endrin	0,00030 ± 0,00005	0,0030 ± 0,0142	0,9966	1020 – 51,0	8
Mirex	0,0018 ± 0,0001	-0,026 ± 0,059	0,9984	1090 – 54,5	8
Metoxicloro	0,0010 ± 0,0002	-0,076 ± 0,11	0,9876	1140 – 57,0	8

Tabla 5.2.2. Datos del análisis de regresión lineal de los plaguicidas organoclorados. Los intervalos de confianza se determinaron a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$). n = número de puntos en de la curva de calibración.

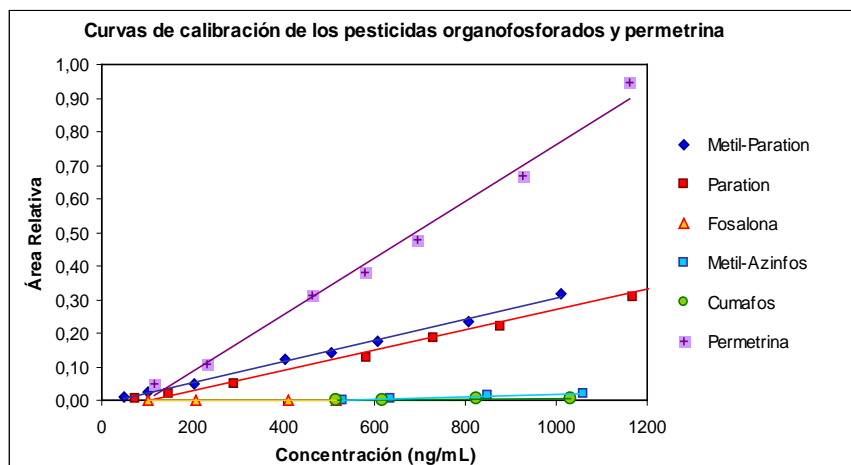


Figura 5.2.3.

Curvas de calibración de los plaguicidas organofosforados y permetrina.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de correlación	Rango de concentración (ng/mL)	n
Metil-paratión	$0,00031 \pm 0,00002$	$-0,011 \pm 0,011$	0,9978	1010 – 50,5	8
Paratión	$0,00030 \pm 0,00003$	$-0,033 \pm 0,036$	0,9943	1460 – 73	8
Fosalona	$0,000004 \pm 0,000001$	$0,00006 \pm 0,00043$	0,9944	515 – 103	4
Metil-azinfos	$0,00004 \pm 0,00001$	$-0,019 \pm 0,029$	0,9950	1060 – 530	4
Cumafos	$0,000009 \pm 0,000003$	$-0,0034 \pm 0,0035$	0,9937	1030 – 515	4
Permetrina	$0,0008 \pm 0,0001$	$-0,083 \pm 0,096$	0,9951	1160 - 116	7

Tabla 5.2.3. Datos del análisis de regresión lineal de los plaguicidas organofosforados y permetrina. Los intervalos de confianza se determinaron a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$). n = número de puntos de la curva de calibración.

Es posible notar que varias de las ordenadas al origen presentan valores negativos, no obstante se encuentran relativamente cercanas al cero, además si se observa el intervalo de confianza, se puede demostrar estadísticamente que todos las intercepciones no son diferentes de cero. Mediante las pendientes de las curvas de calibración, es posible estimar que compuestos tendrán menores límites de detección en cada grupo; esto se visualiza de manera clara en las curvas de calibración, cuyos factores de respuesta son diferentes para cada uno de los analitos.

5.3 DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE LA EAMFPA

Una vez definidos los factores que afectan el rendimiento de extracción en la EAMFPA (sección 4.3.1), se procede con la realización de los diseños factoriales. Los cinco factores a estudiar en un solo diseño factorial de dos niveles (2^5), resultan en la realización de 32 experimentos, con lo que se obtendría

un diseño de resolución superior a V y en el cual se estudiarían los efectos principales y las interacciones de orden superior sin la confusión entre los efectos de las interacciones y factores principales. Sin embargo, al desconocerse el rango adecuado de los niveles de un factor, es necesario emplear rangos más pequeños e ir ajustando las condiciones a los resultados esperados, implicando repetir el diseño sin la garantía de encontrar el óptimo en el siguiente diseño. Por ejemplo, el tiempo máximo de irradiación propuesto fue de 4 minutos, por lo que realizando un diseño de máxima resolución se hubiesen realizado 32 experimentos con la finalidad de concluir que dicho tiempo de extracción no es el óptimo. Bajo estas circunstancias lo más conveniente resulta en la disminución de la resolución del diseño, economizando así recursos y tiempo de investigación.

El primer diseño realizado, de fracción $\frac{1}{4}$ con una resolución III, es suficiente para estimar el efecto principal de los factores y mediante éstos establecer relaciones de identidad para el estudio de las interacciones de los efectos principales con interacciones de dos factores. Mediante un diseño 2^{5-2} se reduce el número de experimentos de 32 a 8.

Denominando a los factores con letras (A, B, C, D, E) y a los niveles altos y bajos de factores con los signos (+, -), se establecerán las combinaciones de tratamientos. Sean los factores: **A**: tiempo total de irradiación; **B**: periodo entre ciclos de irradiación, **C**: tipo de mezcla extractante; **D**: volumen de la mezcla extractante; **E**: número de extracciones. Al ser un diseño de fracción $\frac{1}{4}$ se definen dos generadores de identidad (*I*) cuyo producto de signos de los niveles del respectivo factor deberá siempre resultar positivo para garantizar la validez del diseño, sea *I*: $I = ABD = ACE$

Para que este hecho ocurra los generadores del diseño para los factores *D* y *E* deberán estar definidos por las siguientes interacciones: $D=AB$ y $E=AC$

Con lo que la combinación de los tratamientos para la construcción del diseño será:

# de experimento	Factores					<i>I</i>	<i>I</i>
	A	B	C	D =AB	E=AC	ABD	ACE
1	-	-	-	+	+	+	+
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	+	+
4	+	+	-	+	-	+	+
5	-	-	+	+	-	+	+
6	+	-	+	-	+	+	+
7	-	+	+	-	-	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+

Tabla 5.3.1. Construcción del diseño 2^{5-2} con los generadores de identidad $I = ABD = ACE$

Como el cuadrado de cualquier columna resulta en un signo positivo, por lo que es igual a I , se establece que:

$$A \cdot I = A^2BD; \quad A^2 = I; \quad A \cdot I = IBD;$$

$$A = BD$$

Al haber otro generador de identidad, se establece de manera similar que el factor A esta confundido con la interacción CE :

$$A = CE$$

Basado en el algoritmo anterior se establecen las siguientes relaciones para los factores principales: $B=AD$; $C=AE$. Esto indica que en la estimación de los efectos de los factores A , B , C , D y E , en realidad se están estimando los efectos de $A+BD+CE$, $B+AD$, $C+AE$, $D+AB$ y $E+AC$.

En un diseño factorial 2^5 con grados de libertad 32-1 (g.l.), se atribuyen 5 g.l. para la estimación de los factores principales y 10 g.l. para la estimación de las interacciones de 2 factores y el resto para interacciones de tres o más factores. En este tipo de diseño (2^{5-2}) se cuenta con 7 g.l., cinco de los cuales se emplean para la estimación de los factores principales, permitiendo dos para la estimación de la interacción entre dos factores; para que esto se cumpla, los efectos principales están confundidos con los efectos de las interacciones de dos factores, describiendo 6 de las 10 interacciones, por lo que los efectos restantes se establecen mediante las igualdades $BC=DE$ y $BE=CD$ cuyo producto de los signos puede verificarse en la tabla 5.3.1. De esta manera se estiman los efectos de los factores principales y las interacciones de dos factores con 8 experimentos.

Basándose en la tabla 5.3.1 las combinaciones de los tratamientos para este primer diseño se muestran en la tabla 5.3.2

Número de experimento	"A" Tiempo total de irradiación (min)	"B" Periodo entre ciclos de irradiación (min)	"C" Tipo de mezcla extractante	"D" Volumen de la mezcla extractante (mL)	"E" Número de extracciones
1	2	1	Acetona/ CHCl_2	40	2
2	4	1	Acetona/ CHCl_2	20	1
3	2	3	Acetona/ CHCl_2	20	2
4	4	3	Acetona/ CHCl_2	40	1
5	2	1	Acetona/Hexano	40	1
6	4	1	Acetona/Hexano	20	2
7	2	3	Acetona/Hexano	20	1
8	4	3	Acetona/Hexano	40	2

Tabla 5.3.2. Combinación de los tratamientos para el diseño 2^{5-2} .

Se calculó la concentración de los analitos en la muestra empleada en cada uno de los experimentos, se realizaron las correcciones pertinentes por peso de la muestra y por el porcentaje de recobro del subrogado. Para cada analito se calcularon los efectos de los factores. El efecto de un factor está definido como el cambio en la respuesta producido por el cambio en el nivel de un factor [72]. Tomando como ejemplo los valores de concentración del metoxicloro (tabla 5.3.3), el efecto del factor A se calcula como la diferencia en la respuesta promedio del nivel bajo y la respuesta promedio del nivel alto tomando como referencia los signos del respectivo factor A en la tabla 5.3.1.

Número de experimento	Concentración (ng/g)
1	27.5
2	41.1
3	61.4
4	67.9
5	50.1
6	55.5
7	30.3
8	53.6

Tabla 5.3.3. Concentración del metoxicloro obtenida en los distintos experimentos del diseño 2^{5-2} .

$$\text{Efecto del factor A} = \frac{41.1 + 67.9 + 55.5 + 53.6}{4} - \frac{27.5 + 61.4 + 50.1 + 30.3}{4} = 12.21$$

Empleando el mismo algoritmo se calculan los efectos de los demás factores e interacciones, la figura 5.3.1 presenta el gráfico de Pareto con los efectos de los factores para el metoxicloro.

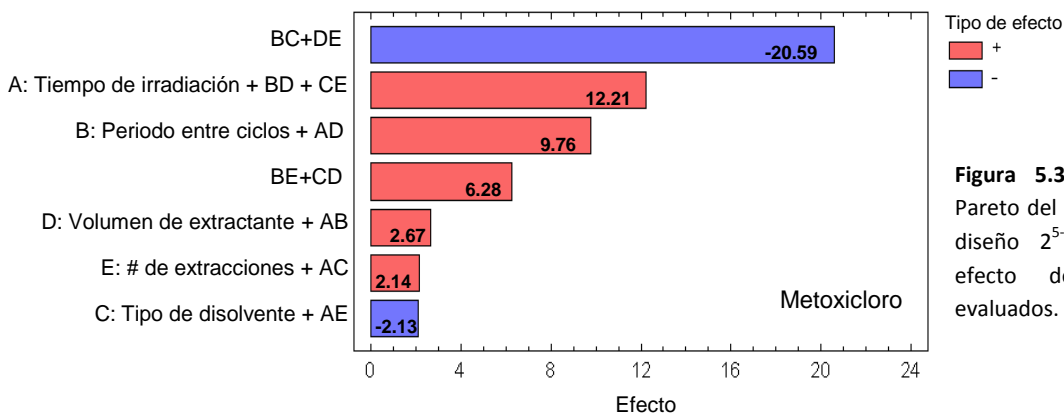


Figura 5.3.1. Diagrama de Pareto del metoxicloro en el diseño 2^{5-2} . Se grafica el efecto de los factores evaluados.

Evaluando los efectos de los factores sobre cada analito es posible distinguir los factores influyentes sobre la extracción, no obstante, para el estudio en conjunto de todos los compuestos, cuyos efectos suelen ser variados (ej. figura 5.3.2 gráfico de Pareto para el Bifenilo) y dependientes de las propiedades fisicoquímicas de cada grupo, el estudio llega a ser bastante complejo requiriéndose solución por computadora.

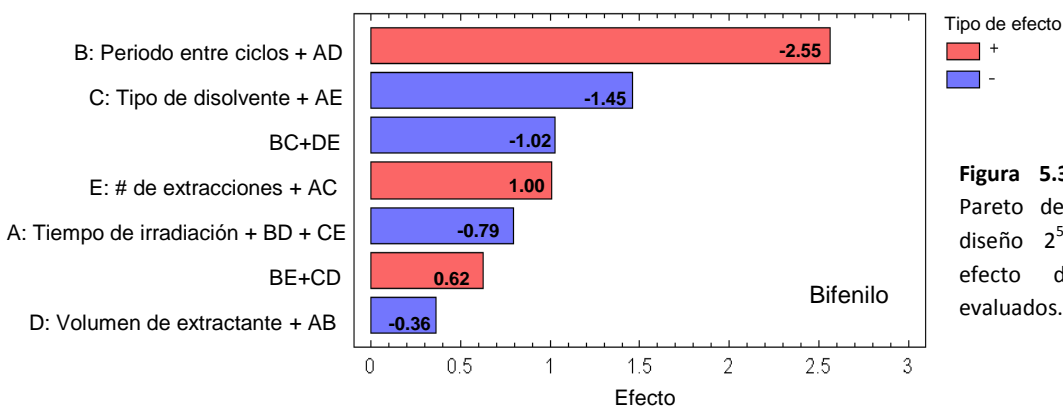


Figura 5.3.2. Diagrama de Pareto del Bifenilo en el diseño 2^{5-2} . Se grafica el efecto de los factores evaluados.

Los cálculos fueron realizados mediante el software *Statgraphics*, el cual emplea la función de condición deseable (deseabilidad). El enfoque general de esta función consiste en convertir cada respuesta y_i en una función con condición deseable individual d_i que varía en un rango de $0 \leq d_i \leq 1$; siendo $d_i = 1$ cuando la respuesta se encuentra en su condición deseable y $d_i = 0$ en la región no aceptable. En este estudio el programa de cómputo seleccionará las variables del diseño para maximizar la condición deseable global (extraer la mayor cantidad de los analitos, por lo tanto obtener la mayor concentración) donde hay m número de respuestas:

$$D = (d_1 \cdot d_2 \cdot \dots \cdot d_m)^{1/m}$$

La mezcla de acetona/hexano es menos eficiente para la extracción de los analitos al compararse con la mezcla de acetona/ CH_2Cl_2 como puede observarse en las superficies de respuesta de la figuras 5.3.3 y 5.3.4, donde la deseabilidad utilizando hexano no alcanza el máximo incluso empleando un tiempo de extracción de 4 minutos. Este hecho es debido principalmente al momento dipolar del hexano (0.08 D) mientras que el del CH_2Cl_2 es de 1.14 D, facilitando la extracción principalmente de los analitos de menor peso molecular. Un periodo de irradiación de 4 minutos permite una adecuada extracción de los analitos al emplear la mezcla de acetona/ CH_2Cl_2 ; no obstante, no es posible asegurar que mayores tiempos de

irradiación no favorecerán la extracción de los analitos incluso con un menor volumen de extracción, ya que la función deseabilidad se ajusta de manera relativa a los valores máximos y mínimos de concentración obtenidos en el diseño.

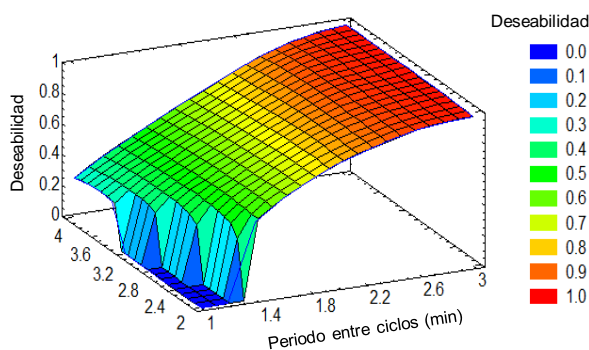


Figura 5.3.3. Superficie de respuesta para los HAP's y plaguicidas por EAMFPA generada a partir del diseño 2^{5-2} y manteniendo constante el volumen de extracción en 40 mL de una mezcla acetona/ CH_2Cl_2 y dos extracciones consecutivas.

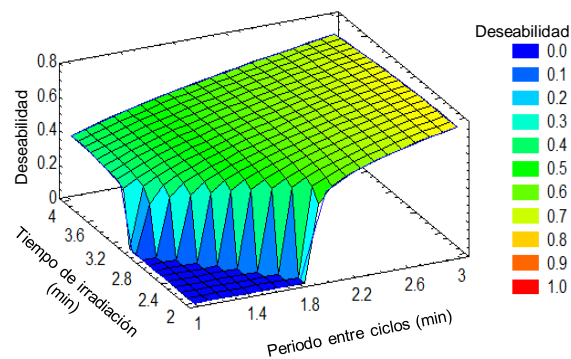


Figura 5.3.4. Superficie de respuesta para los HAP's y plaguicidas por EAMFPA generada a partir del diseño 2^{5-2} y manteniendo constante el volumen de extracción en 40 mL de una mezcla acetona/hexano (1:1) y dos extracciones consecutivas.

Un diseño secundario de mayor resolución fue realizado evaluando 4 factores, al saber que la mezcla extractante más adecuada para una extracción eficiente y rápida será acetona/ CH_2Cl_2 (1:1) como se demostró en el estudio del diseño 2^{5-2} . Un diseño factorial 2^4 emplea 16 experimentos, por lo que realizar un diseño de fracción $\frac{1}{2}$ (2^{4-1}) permitirá evaluar los factores con 8 experimentos y con una resolución de IV, lo que indica que se evaluarán los factores principales sin confusión con los efectos de las interacciones de dos factores pero, si con las interacciones de 3 factores.

Sean los factores: **A:** tiempo total de irradiación; **B:** periodo entre ciclos de irradiación, **C:** Número de extracciones; **D:** volumen de la mezcla extractante. Por tratarse de un diseño de fracción $\frac{1}{2}$ se define un factor de identidad, sea I :

$$I = ABCD$$

El factor D estará definido por:

$$D=ABC$$

Con lo que la combinación de los tratamientos para la construcción del diseño será:

# de experimento	Factores				I
	A	B	C	D=ABC	ABCD
1	-	-	-	-	+
2	+	-	-	+	+
3	-	+	-	+	+
4	+	+	-	-	+
5	-	-	+	+	+
6	+	-	+	-	+
7	-	+	+	-	+
8	+	+	+	+	+

Tabla 5.3.4. Construcción del diseño 2^{4-1} con el generador de identidad $I=ABCD$.

Como el cuadrado de cualquier columna resulta en un signo positivo, por lo que es igual a I , se establece que:

$$A \cdot I = A^2BCD; \quad A^2 = I; \quad A \cdot I = IBCD;$$

$$A = BCD$$

Basado en el algoritmo anterior se establecen las siguientes relaciones para los factores principales: $B=ACD$; $C=ABD$. Esto indica que en la estimación de los efectos de los factores A , B , C y D , en realidad se está estimando el efecto de $A+BCD$, $B+ACD$, $C+ABD$.

En un diseño 2^4 con grados de libertad 16-1 (g.l.), se atribuyen 4 g.l. para la estimación de los factores principales y 6 g.l. para la estimación de las interacciones de 2 factores y el resto para interacciones de tres o más factores. En este tipo de diseño (2^{4-1}) se cuenta con 7 g.l., cuatro de los cuales se emplean para la estimación de los factores principales, permitiendo tres para la estimación de la interacción entre dos factores. Los efectos restantes se establecen mediante las igualdades $AB=CD$, $AC=BD$ y $AD=BC$ cuyo producto de los signos (siempre positivo) puede verificarse en la tabla 5.3.4. Puede notarse el incremento en la resolución del diseño, al no estar confundidos los efectos de los factores principales con las

interacciones de dos factores. Se exploraron los efectos para el tiempo de irradiación en un rango de 4-8 minutos y de 3 a 6 minutos para el periodo entre los ciclos de irradiación. Fundamentándose en la tabla 5.3.4 las combinaciones de los tratamientos para el diseño 2^{4-1} se presentan en la tabla 5.3.5.

Número de experimento	"A" Tiempo total de irradiación (min)	"B" Periodo entre ciclos de irradiación (min)	"C" Número de extracciones	"D" Volumen de la mezcla extractante (mL)
1	4	3	1	20
2	8	3	1	40
3	4	6	1	40
4	8	6	1	20
5	4	3	2	40
6	8	3	2	20
7	4	6	2	20
8	8	6	2	40

Tabla 5.3.5. Combinación de los tratamientos para el diseño 2^{4-1} . La mezcla extractante es acetona/ CH_2Cl_2 (1:1).

Puede observarse en las figuras 5.3.5-7, que un tiempo de irradiación de 8 minutos mejora los rendimientos de extracción, adicionalmente un periodo de reposo entre los ciclos de irradiación superior a los 3.5 minutos reduce la eficiencia de extracción al permitir la disminución de la temperatura del disolvente por debajo de los 35°C durante cierto periodo de tiempo, lo cual no ocurre con periodos menores ya que la temperatura de la mezcla, a pesar de disminuir desde el punto de ebullición, no es menor a los 40°C en ningún instante durante el ciclo de extracción.

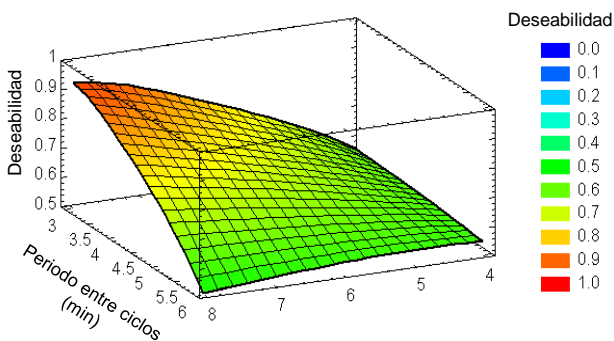


Figura 5.3.5. Superficie de respuesta para los HAP's y los plaguicidas por EAMFPA generada a partir del diseño 2^{4-1} manteniendo constante el volumen de extracción en 40 mL de una mezcla acetona/ CH_2Cl_2 y dos extracciones consecutivas.

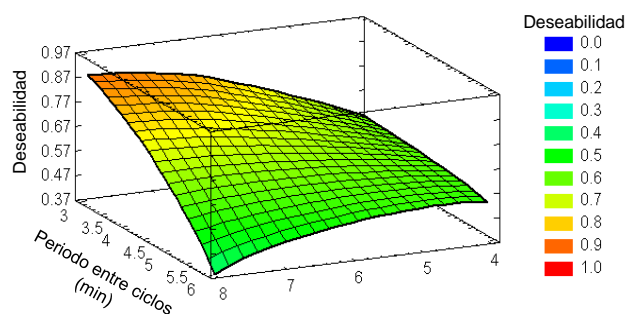


Figura 5.3.6. Superficie de respuesta para los HAP's y los plaguicidas por EAMFPA generada a partir del diseño 2^{4-1} manteniendo constante el volumen de extracción en 20 mL de una mezcla acetona/ CH_2Cl_2 y dos extracciones consecutivas.

Al comparar los gráficos de las figuras 5.3.5 y 5.3.6 donde se varía el volumen de extracción entre 20 y 40 mL, se demuestra que un volumen de extracción de 40 mL no genera una mejora significativa como puede observarse en el factor de deseabilidad, para el cual la diferencia entre estos se encuentra dentro del error estadístico de la prueba, por lo que resulta más práctico emplear 2 extracciones con 20 mL de mezcla extractante. El realizar una sola extracción con un volumen de 40 mL no muestra resultados comparables con los obtenidos al utilizar dos extracciones (figura 5.3.7), lo cual es lógico ya que conforme más extracciones se realicen, se obtienen más estados de equilibrio entre la fase sólida y los disolventes, resultando en una mayor extracción de los analitos de su matriz.

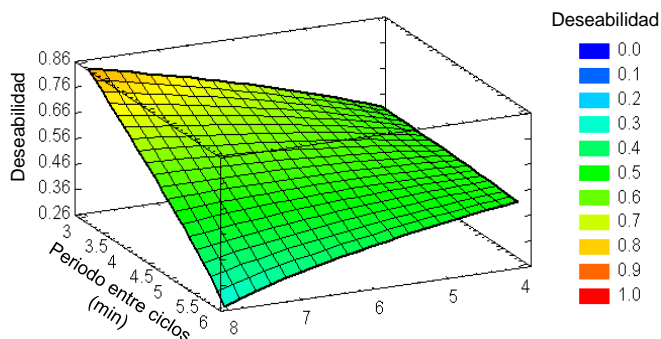


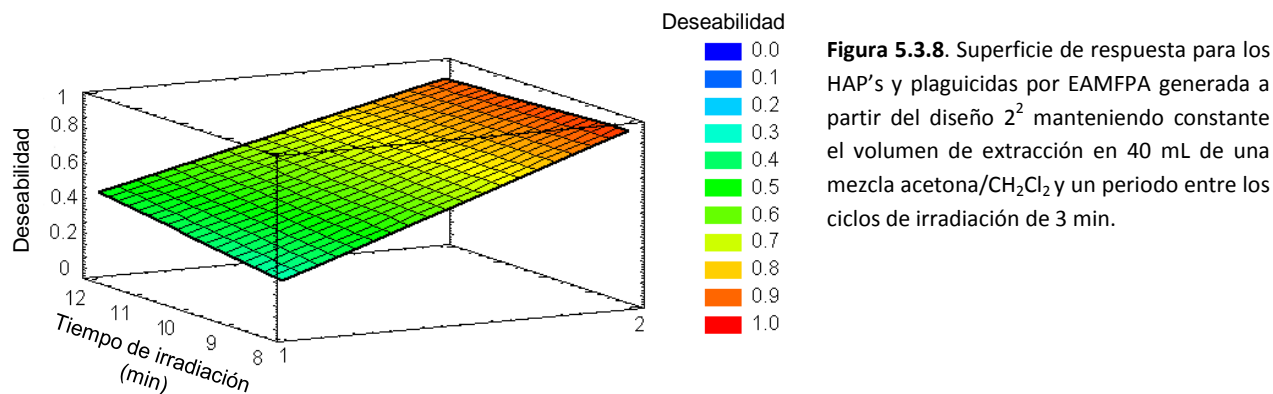
Figura 5.3.7. Superficie de respuesta para los HAP's y plaguicidas por EAMFPA generada a partir del diseño 2^{4-1} manteniendo constante el volumen de extracción en 40 mL de una mezcla acetona/ CH_2Cl_2 y una extracción.

Al establecer las condiciones de 3 de los 5 factores, sólo hace falta el determinar el tiempo de irradiación y evaluar si existe una diferencia significativa al emplear una extracción en lugar de 2 con mayores tiempos de irradiación. Para esto, se realizó un diseño factorial 2^2 , en el cual el tiempo de irradiación se estudio en un rango de 8 a 12 minutos. Para este diseño se realizó una réplica con la finalidad de corroborar un comportamiento similar en los resultados e incluir mayor número de datos al análisis; siendo esto necesario ya que cerca de las condiciones óptimas los cambios en las respuesta son cada vez menos notorios. Al ser observada la misma tendencia no fué requerido incrementar el número de réplicas. Las condiciones de los tratamientos del diseño 2^2 se muestran en la tabla 5.3.6.

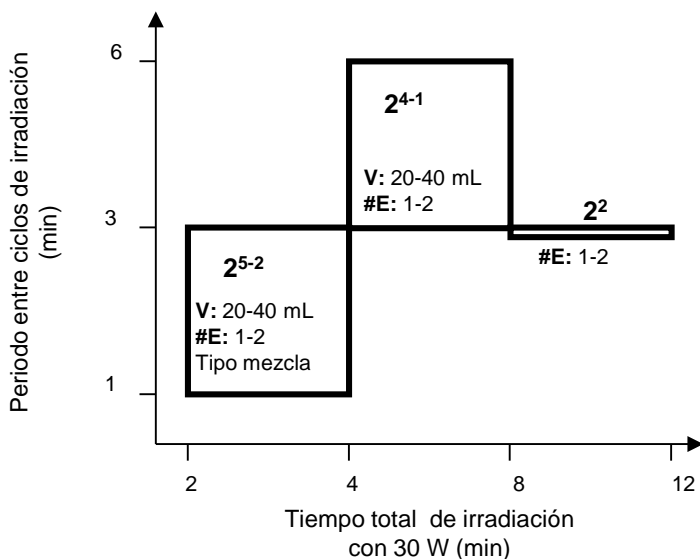
Número de experimento	"A" Tiempo total de irradiación (min)	"B" Número de extracciones
1	8	1
2	12	1
3	8	2
4	12	2

Tabla 5.3.6. Combinación de los tratamientos para el diseño 2^2 . La mezcla extractante es acetona/ CH_2Cl_2 (1:1); el volumen de extracción se mantuvo constante en 20 mL al igual que el periodo de tiempo entre los ciclos de irradiación que fue de 3 min.

El gráfico de la figura 5.3.8 muestra la superficie de respuesta generada por el diseño 2^2 . Un incremento en el tiempo de irradiación a 12 minutos no favorece significativamente la extracción como puede observarse en el valor prácticamente constante en el factor de deseabilidad al modificarse dicho periodo de tiempo. Por otro lado, el uso de 2 extracciones resulta ser necesario al no observarse una mejoría al emplear una sola extracción incluso a mayores tiempos de irradiación.



En la figura 5.3.9 los estudios realizados para encontrar las condiciones óptimas de extracción a través de los diseños factoriales.



Las condiciones óptimas de extracción por esta técnica son: 9 ciclos de irradiación de un minuto, el primero a una potencia de 60 W y los restantes a 30 W; un periodo de reposo entre los ciclos de irradiación de 3 minutos y realizar 2 extracciones consecutivas con 20 mL de una mezcla acetona/ CH_2Cl_2 (1:1).

La figura 5.3.10 muestra el ciclo de extracción y la variación de la temperatura del disolvente a lo largo de éste. La temperatura del disolvente oscila entre 41 °C, y 47 °C, por lo que no llega a su punto de ebullición, evitando así la pérdida de los HAP's de bajo peso molecular, razón por la que no se recomiendan pequeños periodos de tiempo entre los ciclos de irradiación al encontrarse en un sistema abierto. El tiempo total por extracción es de 33 minutos, mientras que el tiempo de proceso por muestra llega a ser de aproximadamente 90 minutos al sumar el tiempo requerido para el enfriamiento y trasvase del disolvente.

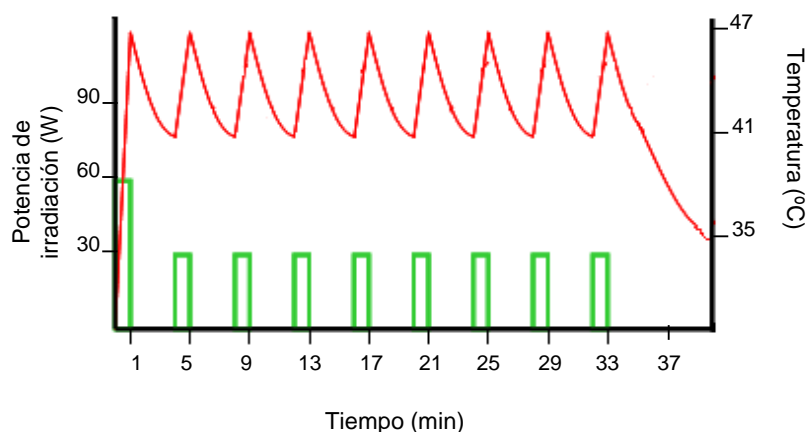


Figura 5.3.10. Ciclo de extracción por microondas focalizadas a presión atmosférica. Se muestra el tiempo de la extracción en función de la potencia de irradiación (verde) y la temperatura (rojo) de la mezcla extractante acetona/CH₂Cl₂ (1:1).

5.4 DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE LA EBU

Partiendo de la información obtenida en el estudio de la EAMFPA, la mezcla extractante utilizada en este estudio fue acetona/CH₂Cl₂ (1:1); los rangos de estudio del tiempo de irradiación y volumen de disolvente se fijaron en un intervalo $\pm 50\%$ respecto a los máximos y mínimos empleados en otros estudios para ciertos grupos de compuestos [25, 28-31], a su vez, se evaluó un máximo de 4 extracciones, los factores evaluados se encuentran en la sección 4.3.2.

Al tener 3 factores, un diseño 2^3 permite su estudio en 8 experimentos. Se adicionaron 4 puntos centrales al diseño para evaluar la desviación estándar de las determinaciones y poder establecer diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de los factores, esto es necesario ya que cerca de las condiciones óptimas los cambios en la respuesta son cada vez menos notorios y pueden encontrarse dentro del error de la prueba; otra alternativa consiste en la realización de réplicas del diseño, no obstante, resulta en una mayor inversión en tiempo de investigación y recursos. El diseño se realizó en 4 bloques de 3

experimentos, con la finalidad de estudiar la variabilidad entre días. Las condiciones de los tratamientos del diseño 2^3 con 4 puntos centrales se presentan en la tabla 5.4.1.

Número de experimento	Bloque	Tiempo de irradiación (min)	Volumen de la mezcla extractante (mL)	Número de extracciones
1*	1	9	22.5	3
2		3	30	4
3		15	15	2
4*	2	9	22.5	3
5		15	30	2
6		3	15	4
7	3	3	30	2
8*		9	22.5	3
9		15	15	4
10	4	3	15	2
11		15	30	4
12*		9	22.5	3

Tabla 5.4.1. Combinación de los tratamientos para el diseño 2^3 con cuatro puntos centrales. El estudio se aleatorizó y subdividió en 4 bloques. La mezcla extractante es acetona/ CH_2Cl_2 (1:1). *Experimentos correspondientes a los puntos centrales del diseño.

Las figuras 5.4.1 y 5.4.2 muestran las superficies de respuesta empleando 2 y 4 extracciones respectivamente. Las condiciones óptimas generadas por computadora a partir del modelo son: tiempo de irradiación de 10 minutos, 4 extracciones y un volumen de 30mL de la mezcla extractante. Dichas condiciones se indican en la figura 5.4.2; puede observarse que el rango para estas condiciones puede oscilar ente los 3 y 15 minutos de irradiación y entre un volumen de 25 y 30 mL de la mezcla extractante sin haber cambios significativos en la respuesta. Esto demuestra la posibilidad del estudio de la robustez en ciertas condiciones de extracción.

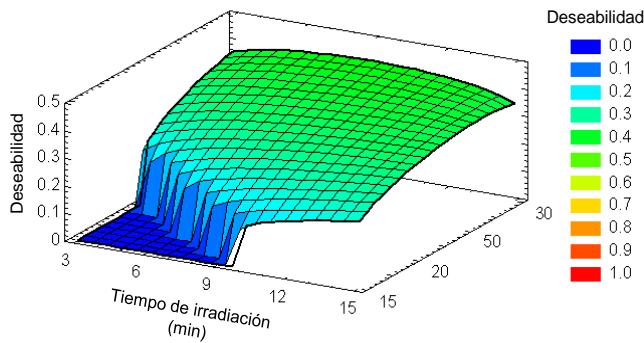


Figura 5.4.1. Superficie de respuesta para los HAP's y plaguicidas por EBU generada a partir del diseño 2^3 manteniendo dos extracciones consecutivas con una mezcla de acetona/ CH_2Cl_2 (1:1).

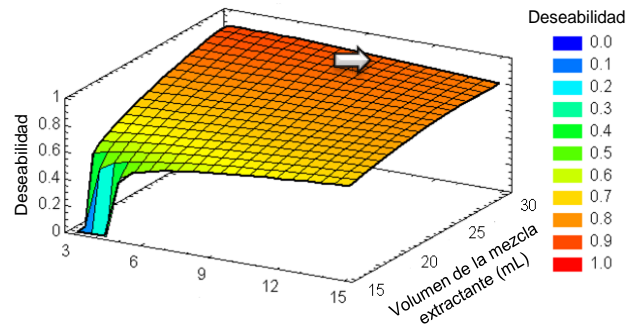


Figura 5.4.2. Superficie de respuesta para los HAP's y plaguicidas por EBU generada a partir del diseño 2^3 manteniendo cuatro extracciones consecutivas con una mezcla de acetona/ CH_2Cl_2 (1:1). Se marca el punto con las condiciones óptimas de extracción.

5.5 LINEALIDAD DE LOS MÉTODOS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO MATRIZ EN MUESTRAS DE SEDIMENTO

La tabla 5.5.1 contiene los datos del análisis de regresión lineal de cada una de las curvas de los métodos de extracción optimizados y de la extracción Soxhlet. La concentración de cada uno de los puntos se colocó en función de la concentración del extracto para poder realizar una comparación con las curvas de calibración instrumentales. Para los analitos Cumafos y metil-azinfos, se emplearon muestras de suelo fortificadas a 100 ng/g para poder comparar con la curva de calibración instrumental cuyo rango está ente 500-1000 ng/mL. Los coeficientes de correlación para todos los casos son superiores a 0.7, indicando que existe una relación lineal entre la concentración y la respuesta del método con un error no mayor al 30 %, el cual es permisible debido a problemas de homogeneidad en la muestra, el error atribuido al tratamiento de la muestra y al intervalo de concentración de trabajo; no obstante, para la mayoría de los analitos se obtuvo un coeficiente de correlación superior a 0.98. En cada caso se realizó un análisis de los residuales para verificar una distribución normal de los datos y un ajuste correcto al modelo de regresión lineal, siendo éste satisfactorio para todos los casos. Se muestran como ejemplo los gráficos de las figuras 5.5.1 y 5.5.2 en las cuales se grafican los residuales y la curva de ajuste a una distribución normal para los datos de la curva de método de la EAMFPA para el metil-paratión; se puede distinguir que los residuos se distribuyen de manera homogénea mientras que los datos se ajustan adecuadamente a una distribución normal.

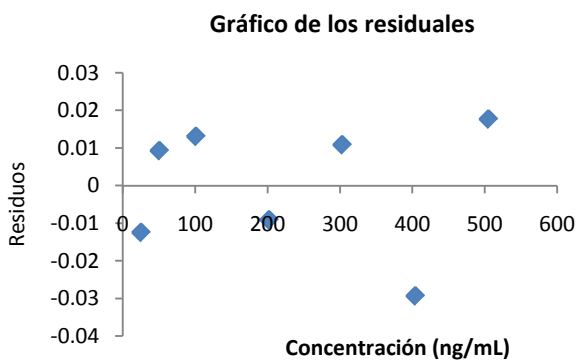


Figura 5.5.1. Gráfico de los residuales de la curva de método de la EAMFPA para el metil-paratión.

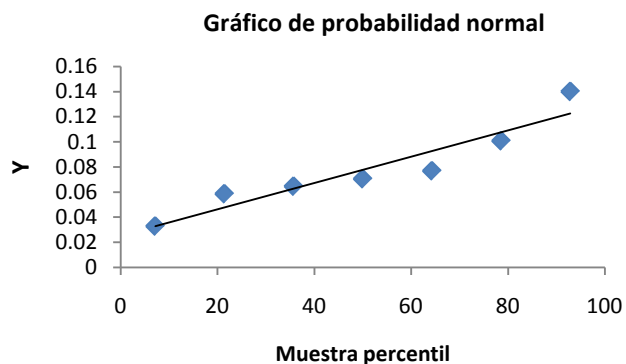


Figura 5.5.2. Gráfico de ajuste a una distribución normal de los datos de la curva de método de la EAMFPA para el metil-paratión.

Las curvas de método graficadas en conjunto con la curva de calibración instrumental por compuesto se encuentran en el *anexo C*. La detección de la mayoría de los analitos no es afectada por compuestos interferentes provenientes de la matriz, esto puede observarse al obtener curvas de método cuya respuesta es similar o menor a la obtenida por la curva de calibración instrumental, tal es el caso del benzo[a]antraceno (figura C-12) o del dibenzotiofeno (figura C-8) tomados como ejemplo.

Compuesto	EAMFPA			EBU			Extracción Soxhlet		
	m	b	R	m	B	R	m	b	R
Indeno	0.0048 ± 0.0016	0.1163 ± 0.52	0.9584	0.0064 ± 0.0032	-0.208 ± 0.56	0.8926	0.0056 ± 0.003	-0.050 ± 1.1	0.9989
Naftaleno	2.2344 ± 2.9853	0.8456 ± 0.61	0.9156	0.0093 ± 0.0105	-0.103 ± 3.87	0.7771	0.0092 ± 0.021	-0.050 ± 7.8	0.9845
Bifenilo	0.0061 ± 0.0065	0.2981 ± 0.79	0.9434	0.0057 ± 0.0032	-0.105 ± 0.68	0.8696	0.0083 ± 0.007	-0.300 ± 1.9	0.9977
Acenaftileno	0.0017 ± 0.001	0.0852 ± 0.28	0.9562	0.0068 ± 0.0021	-0.271 ± 0.16	0.9651	0.0083 ± 0.007	-0.300 ± 1.9	0.9977
Acenafteno	0.0015 ± 0.0008	-0.0654 ± 0.09	0.9296	0.0049 ± 0.0017	-0.148 ± 0.19	0.9590	0.0065 ± 0.013	0.215 ± 4.5	0.9874
Dibenzofurano	0.0091 ± 0.0008	0.0030 ± 0.21	0.9990	0.0141 ± 0.0032	-0.383 ± 0.24	0.9816	0.0065 ± 0.013	0.215 ± 4.5	0.9874
Fluoreno	0.0064 ± 0.0007	-0.0731 ± 0.07	0.9952	0.0018 ± 0.0017	0.000 ± 0.50	0.7703	0.0091 ± 0.015	-0.855 ± 3.5	0.9920
Dibenzotiofeno	0.0028 ± 0.0025	0.0805 ± 0.78	0.7869	0.0069 ± 0.0003	-0.053 ± 0.02	0.9991	0.0071 ± 0.002	-0.700 ± 0.6	0.9997
Fenantreno	0.0026 ± 0.0017	0.0628 ± 0.58	0.8658	0.0050 ± 0.0002	-0.018 ± 0.03	0.9991	0.0054 ± 0.003	-0.450 ± 0.3	0.9989
Antraceno	0.0044 ± 0.0021	-0.0388 ± 0.58	0.9249	0.0042 ± 0.0004	0.066 ± 0.12	0.9968	0.0047 ± 0.004	-0.160 ± 1.3	0.9974
Fluoranteno	0.0084 ± 0.0015	-0.1644 ± 0.15	0.9884	0.0057 ± 0.0003	0.006 ± 0.10	0.9983	0.0071 ± 0.009	-0.384 ± 2.7	0.9949
Pireno	0.0099 ± 0.002	-0.1819 ± 0.22	0.9845	0.0062 ± 0.0003	0.010 ± 0.09	0.9986	0.0085 ± 0.001	-0.595 ± 0.9	1.0000
Benzo[a]antraceno	0.0174 ± 0.0043	-0.3646 ± 0.86	0.9776	0.0175 ± 0.0006	-0.137 ± 0.06	0.9993	0.0115 ± 0.003	0.450 ± 1.2	0.9998
Benzo[k]fluoranteno	0.0015 ± 0.0004	-0.0099 ± 0.11	0.9692	0.0019 ± 0.0002	-0.025 ± 0.00	0.9964	0.0016 ± 0.002	-0.015 ± 0.8	0.9928
Benzo[a]pireno	0.0018 ± 0.0002	-0.0182 ± 0.04	0.9936	0.0014 ± 0.0002	-0.019 ± 0.00	0.9945	0.0013 ± 0.002	-0.045 ± 0.5	0.9945
Dibenzo[a,h]antraceno	0.0009 ± 0.0002	0.0546 ± 0.05	0.9882	0.0017 ± 0.0002	-0.109 ± 0.17	0.9956	0.0011 ± 0.002	0.025 ± 0.6	0.9928
Lindano	0.0006 ± 0.0002	-0.0079 ± 0.0537	0.9426	0.0005 ± 4E-05	0.0017 ± 0.0118	0.9973	0.0004 ± 1E-03	1E-17 ± 0.333	0.9820
Heptacloro	0.0004 ± 0.0001	0.0017 ± 0.0419	0.9505	0.0003 ± 1E-04	0.0337 ± 0.0405	0.9661	0.0005 ± 9E-04	-0.024 ± 0.253	0.9922
Aldrin	0.0006 ± 0.0002	-0.0196 ± 0.0248	0.9652	0.0004 ± 2E-05	0.0041 ± 0.0068	0.9982	0.0003 ± 0.001	-0.007 ± 0.377	0.9724
Dieldrin	0.0009 ± 0.0002	-0.0239 ± 0.026	0.9735	0.001 ± 7E-05	0.0173 ± 0.0186	0.9976	0.0007 ± 3E-04	-0.056 ± -0.01	0.9995
Endrin	0.0002 ± 0.0001	-0.0069 ± 0.017	0.9208	0.0002 ± 4E-05	0.0068 ± 0.0111	0.9725	0.0001 ± 1E-04	-0.001 ± 0.04	0.9975
Mirex	0.0005 ± 0.0003	-0.037 ± 0.0033	0.9011	0.0009 ± 1E-04	0.0207 ± 0.0319	0.9925	0.0007 ± 0.001	-0.043 ± 0.388	0.9889
Metoxicloro	0.0008 ± 0.0002	-0.0405 ± -0.026	0.9794	0.0007 ± 5E-05	0.0032 ± 0.0148	0.9973	0.0004 ± 7E-04	0.0239 ± 0.282	0.9887
DDT	0.0004 ± 8E-05	-0.0086 ± 0.0046	0.9787	0.0008 ± 5E-05	-0.0518 ± 0.087	0.9990	0.0005 ± 1E-03	-0.02 ± 0.293	0.9897
Metil-paratión	0.0002 ± 0.0001	0.0411 ± 0.0306	0.8639	0.0002 ± 4E-05	0.0032 ± 0.0136	0.9943	0.0002 ± 4E-04	-0.005 ± 0.115	0.9820
Paratión	9E-05 ± 6E-05	-0.0034 ± 0.0156	0.9483	0.0003 ± 7E-05	-0.0171 ± 0.009	0.9881	0.0001 ± 5E-04	0.0045 ± 0.212	0.9198
Fosalona	4E-06 ± 2E-06	0.0006 ± 0.0007	0.8750	3E-06 ± 2E-06	2E-05 ± 0.0005	0.9109	3E-06 ± 1E-05	-4E-05 ± 0.004	0.9565
Metil-azinfos	4E-05 ± 9E-06	-0.0172 ± 0.028	0.9967	4E-05 ± 3E-05	-0.0213 ± 0.02	0.9731	3E-05 ± 7E-05	-0.016 ± 0.024	0.9847
Cumafos	1E-05 ± 2E-06	-0.0055 ± 0.009	0.9981	8E-06 ± 9E-06	-0.0038 ± 8E-04	0.9438	1E-05 ± 3E-05	-0.006 ± 0.013	0.9761
Permetrina	0.0007 ± 0.0004	0.0351 ± 0.122	0.9063	0.0004 ± 3E-05	-0.0057 ± 0.002	0.9971	0.0007 ± 0.002	-0.056 ± 0.603	0.9779

Tabla 5.5.1. Datos del análisis de regresión lineal de las curvas de método para 3 técnicas de extracción. m: pendiente; b: ordenada al origen; R: coeficiente de correlación. $\alpha=0.05$, n-2 g.l. EBU: extracción por baño de ultrasonido. EAMFPA: extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica.

Es fácil distinguir que las curvas de método para el benzo[a]antraceno son prácticamente iguales a la curva de calibración instrumental, indicando en este caso que la extracción de los analitos es adecuada. Por otro lado, observado las curvas de método para el dibenzotiofeno cuyas respuestas son menores a la curva de calibración, no precisamente demuestran una extracción ineficiente, ni atenuación de la respuesta por interferencias ya que el sistema de detección es universal. Este comportamiento es esperado ya que puede ocurrir una pérdida de los analitos durante el proceso de fortificación de la muestra, volatilización durante el periodo de almacenamiento de la muestra fortificada (2 semanas) o que durante el mismo proceso de fortificación donde parte de los analitos se adsorbiesen de manera irreversible sobre los componentes de la muestra.

Otro factor que modifica el comportamiento lineal de la respuesta es debido a la homogeneidad de la muestra, en la cual por encontrarse en estado sólido es difícil de garantizar, siendo ésta otra razón para permitir variaciones más elevadas en los resultados. Para varios casos la recta de regresión de una curva de método se sitúa en respuestas inferiores/superiores a la de la curva de calibración (ej. benzo[a]pireno, figura C-15); sin embargo al observar las barras de error para cada punto, éstas se superponen, por lo que no es posible suponer una diferencia a menos de que se realice una prueba estadística que requiere un mayor número de datos.

Una respuesta superior en las curvas de método indica la presencia de compuestos interferentes sobre la detección, tal es el caso para el metil-paration (figura C-25) y la fosadona (figura C-27) en donde únicamente al emplear la EAMFPA se extraen interferencias que incrementan la respuesta del detector, por lo que la respuesta de estos compuestos no será considerada en el estudio de comparación de las técnicas de extracción. En varios casos se observan pendientes mayores para las curvas de método de la EBU respecto a las de la EAMFPA/extracción Soxhlet y viceversa; no obstante, varios intervalos de confianza de los puntos experimentales se superponen, por lo que es requerido emplear una prueba estadística con un mayor número de repeticiones para determinar diferencias significativas entre las eficiencias de extracción.

5.6 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN INSTRUMENTALES Y DE MÉTODO

Se realizó un análisis de regresión lineal a un rango de concentración menor al de las curvas de calibración ya que el error asociado a la determinación del LD y LC incrementa significativamente conforme el intervalo de la variable independiente aumenta. Los parámetros del análisis de regresión para los HAP's y los plaguicidas se encuentran en las tablas 5.6.1 y 5.6.2 respectivamente. Debido a la cercanía del límite de detección y a los bajos factores de respuesta de algunos compuestos, se pueden observar coeficientes de

correlación ligeramente menores respecto a los obtenidos en las curvas de calibración. Para la mayoría de los compuestos el coeficiente de correlación es superior a 0.98, el cual es indicativo de una excelente linealidad; no obstante, algunos compuestos (ej. cumafos, paratión) muestran coeficientes menores pero en ninguno de los casos se obtienen valores menores a 0.90, siendo este valor suficiente para demostrar que existe una relación lineal y el método para el cálculo del LD y LC no carece de validez.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de correlación	$S_{y/x}$	n	Rango de concentración (ng/mL)	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)
Indeno	8588 ± 14811	-372 ± 7004	0,9819	450,1	3	0,73 – 0,18	0,16	0,52
Naftaleno	9330 ± 1761	-682 ± 10417	0,9801	581,8	3	0,81 – 0,20	0,19	0,62
Bifenilo	11943 ± 9059	-1146 ± 3925	0,9964	252,2	3	0,66 – 0,16	0,06	0,21
Acenaftileno	1935 ± 30	76 ± 40	0,9999	65,5	4	7,40 – 0,19	0,07	0,22
Acenafteno	2337 ± 128	66 ± 560	0,9968	37,5	5	10,40 – 0,13	0,05	0,16
Dibenzofurano	2782 ± 140	163 ± 5	0,9997	124,6	4	4,70 – 0,12	0,13	0,45
Fluoreno	3299 ± 1062	-465 ± 2434	0,9829	156,5	3	0,67 – 0,17	0,14	0,47
Dibenzotiofeno	3659 ± 2066	-59 ± 744	0,9980	47,9	3	0,55 – 0,14	0,04	0,13
Fenantreno	9857 ± 5403	1647 ± 2108	0,9981	135,5	3	0,59 – 0,15	0,04	0,13
Antraceno	4965 ± 3013	630 ± 1405	0,9977	90,3	3	0,71 – 0,18	0,05	0,18
Fluoranteno	4385 ± 823	389 ± 3014	0,9712	193,7	3	0,48 – 0,12	0,13	0,44
Pireno	2923 ± 855	283 ± 2061	0,9685	145,3	3	0,51 – 0,13	0,15	0,50
Benzo[a]antraceno	5294 ± 2223	-930 ± 4537	0,9948	291,6	3	0,82 – 0,21	0,11	0,35
Benzo[k]fluoranteno	2211 ± 1680	508 ± 2182	0,9549	78,1	3	0,46 – 0,23	0,11	0,35
Benzo[a]pireno	117 ± 44	384 ± 307	0,9991	25,1	3	10,70 – 0,54	0,64	2,15
Dibenzo[a,h]antraceno	142 ± 103	-383 ± 1892	0,9997	23,8	3	0,69 – 0,17	0,50	1,7

Tabla 5.6.1. Datos del análisis de regresión lineal de los HAP's para la determinación del límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) instrumentales. Los intervalos de confianza se determinaron a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$). n = número de puntos en de la curva de calibración. $S_{y/x}$: estadístico estimador de errores en la variable dependiente.

Compuesto	Pendiente	Ordenada al origen	Coefficiente de correlación	$S_{y/x}$	n	Rango de concentración (ng/mL)	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)
Lindano	0,181 ± 0,024	0,013 ± 0,012	0,9956	0,68	6	103,0 – 5,15	11,0	38,0
Heptacloro	0,341 ± 0,093	-0,002 ± 0,024	0,9892	0,89	5	42,8 – 5,35	7,9	26,2
Aldrin	0,468 ± 0,094	-0,006 ± 0,024	0,9941	0,88	5	41,6 – 5,2	5,6	18,7
Dieldrin	0,457 ± 0,095	0,005 ± 0,024	0,9936	0,89	5	42,8 – 5,5	6,0	20,0
Endrin	0,14 ± 0,1	0,003 ± 0,036	0,9725	0,68	4	51,6 – 12,9	15,0	49,0
Mirex	0,333 ± 0,062	0,028 ± 0,03	0,9871	1,95	7	102,0 – 5,1	17,0	59,0
Metoxicloro	0,2444 ± 0,0099	-0,0062 ± 0,0048	0,9994	0,31	7	103,0 – 5,15	3,9	12,9
DDT	0,382 ± 0,015	0,0187 ± 0,0088	0,9996	0,53	7	127,0 – 6,35	4,2	13,9
DDE	1,19 ± 0,13	-0,008 ± 0,41	0,9968	1,91	7	103,0 – 5,15	4,8	16
DDD	0,554 ± 0,06	0,017 ± 0,035	0,9969	2,05	6	120,0 – 6,0	11,1	37,3
Metil-paratión	0,126 ± 0,043	0,017 ± 0,18	0,9937	0,57	4	108,0 – 32,4	14,0	45,0
Paratión	0,11 ± 0,1	-0,001 ± 0,52	0,9605	0,99	4	71,5 – 14,3	26,0	87,0
Fosalona	0,0303 ± 0,003	-0,0075 ± 0,0022	0,9985	0,07	5	132,0 – 26,4	7,0	23,0
Metil-azinfos	0,0000368 ± 0,0000042	-0,0187 ± 0,0033	0,9872	0,13	4	1060 – 530	110,0	360,0
Cumafos	0,0000093 ± 0,000003	-0,0037 ± 0,0023	0,9116	0,0009	4	1030 - 515	290,0	970,0
Permetrina	0,04 ± 0,047	0,005 ± 0,021	0,9964	0,126	7	96,0 – 4,8	9,5	31,5

Tabla 5.6.2. Datos de análisis de regresión lineal de los plaguicidas organoclorados, organofosforados y permetrina para la determinación del límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) instrumentales. Los intervalos de confianza se determinaron a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha = 0,05$). n número de puntos en de la curva de calibración. $S_{y/x}$: estadístico estimador de errores en la variable dependiente.

El estadístico $S_{y/x}$ es un estimador de errores en la variable dependiente, la ecuación para su cálculo se encuentra en el *anexo D*. Mediante el se puede calcular el LD y el LC empleando el siguiente algoritmo que toma como ejemplo al indeno:

Dado que el LD está definido por: $y_0 + 3S_{y/x}$ donde se atribuyen al menos 3 desviaciones estándar en la variable independiente para disminuir la probabilidad de ocurrencia de los errores tipo I y tipo II, se obtiene que:

$$LD = -372 + 3(450.1) = 978.3$$

Despejando la concentración de la ecuación de la recta y sustituyendo el nuevo valor de la variable independiente se tiene que:

$$\text{Concentración del LD} = \frac{(978.3 + 372)}{8588} = 0.157 \text{ ng/mL}$$

Del mismo modo se procede para el cálculo del LC, donde el LC se define por: $y_0 + 10S_{y/x}$, por lo que:

$$LC = -372 + 10(450.1) = 4129$$

$$\text{Concentración del LC} = \frac{(4129 + 372)}{8588} = 0.524 \text{ ng/mL}$$

Es posible notar que los HAP's presentan LD 10 veces menores respecto a varios de los plaguicidas; esto es debido al mecanismo de fragmentación de las moléculas. Los HAP's son moléculas fácilmente ionizables al igual que los plaguicidas organoclorados; sin embargo, no se fragmentan abundantemente por la estabilidad estructural debida a la conjugación de los anillos, por lo que el fragmento más abundantemente formado corresponde al ión molecular, de esta manera, gran parte de las moléculas que llegan a la cámara de ionización, generan esta relación m/z en específico reflejándose en una mayor respuesta. A diferencia de los otros compuestos, donde a pesar de seleccionarse la relación m/z más abundante, no precisamente indica que se genera una cantidad de fragmentos superior a la originada por los iones más abundantes de los HAP's.

Considerando un tamaño de muestra de 10 g, el factor de concentración de los métodos es de 10 g a 1 mL (10:1), por lo que el LD y el LC de método (sobre el sedimento en ng/g) se encuentra a una concentración 10 veces menor a la reportada en las tablas 5.6.1 y 5.6.2 (ej. lindano, LD=1.1 ng/g, LC =3.8 ng/g). Para corroborar que hubiese detección a tales concentraciones, se adicionó a una muestra de sedimento una alícuota de una disolución estándar de los analitos para obtener una concentración similar a la reportada en las tablas 5.6.1 y 5.6.2. Se confirmó que hubiese una relación señal ruido de por lo menos 3:1 y se corrió una muestra blanco de manera simultánea. Todos los analitos fueron detectados con una

relación señal ruido superior a 3:1 empleando la técnica de EBU y casi todos con la excepción del metil-paratión y la fosadona para la técnica de EAMFPA cuya respuesta de la muestra blanco interfirió.

Se pudo estimar el LD del método con facilidad ya que el LD instrumental calculado por regresión lineal, se encuentra por encima del en el LD definido por la relación señal ruido a nivel instrumental; puede observarse que los rangos de concentración de cada una de las curvas de calibración de esta sección disminuyen aún más que el valor reportado para el LD (ej. lindano: rango de concentración 103-5.15 ng/mL, LD=11ng/mL) y siguen siendo detectables. Éste método calcula el LD y el LC instrumental por encima de un LD ó LC basado en la definición de la relación señal ruido y garantiza estadísticamente con un nivel de confianza del 95 % que a dicha concentración los analitos serán detectables, pudiéndose estimar con confianza el LD y el LC de método. La tabla 5.6.3 contiene los LD y LC sobre sedimento de los métodos evaluados.

Compuesto	LD (ng/g)	LC (ng/g)	Compuesto	LD (ng/g)	LC (ng/g)
Lindano	1.1	3.8	Indeno	0.02	0.05
Heptacloro	0.8	2.6	Naftaleno	0.02	0.06
Aldrin	0.6	1.9	Bifenilo	0.01	0.02
Dieldrin	0.6	2.0	Acenaftileno	0.01	0.02
Endrin	1.5	4.9	Acenafteno	0.01	0.02
Mirex	1.4	4.7	Dibenzofurano	0.01	0.05
Metoxicloro	0.4	1.3	Fluoreno	0.01	0.05
DDT	0.4	1.3	Dibenzotiofeno	0.01	0.02
DDE	0.5	1.6	Fenantreno	0.004	0.01
DDD	1.1	3.7	Antraceno	0.005	0.02
Metil-paratión*	1.4	4.5	Fluoranteno	0.01	0.04
Paratión	2.6	8.7	Pireno	0.02	0.05
Fosalona*	0.7	2.3	Benzo[a]antraceno	0.02	0.06
Metil-azinfos	11.0	36.0	Benzo[k]fluoranteno	0.03	0.06
Cumafos	29.0	97.0	Benzo[a]pireno	0.06	0.20
Permetrina	0.95	3.1	Dibenzo[a,h]antraceno	0.005	0.16

Tabla 5.6.3. Límites de detección y cuantificación para los métodos de EBU y EAMFPA. LD: límite de detección; LC: límite de cuantificación. * El LD y LC para estos compuestos por la técnica de EAMPA no corresponde al establecido en la tabla al presentarse interferencias de la matriz, su determinación no fue posible.

5.7 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

Se utilizó la prueba estadística del análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de cada analito obtenidas por cada técnica de extracción. Un paso previo a la comprobación de la existencia de

diferencias entre varias muestras es determinar que éstas sean homoscedásticas; en caso de serlo, es válido emplear la prueba de ANOVA y en el caso contrario se requiere de una prueba no paramétrica como la de *Friedman* [73]. Una prueba para demostrar la homoscedasticidad cuando se tienen 3 o más medias muestrales es la prueba de *Levene* [74]. Las ecuaciones para el cálculo del estadístico de Levene se encuentran en el *anexo E*, los resultados de esta prueba para cada analito se encuentran en el *anexo G*. Las medias de los grupos a comparar mostraron varianzas homogéneas, por lo que se empleó la prueba de ANOVA para comparar las medias. Las ecuaciones para el desarrollo de la prueba de ANOVA se encuentran en el *anexo F* mientras que los resultados de la prueba en el *anexo G*. Para los analitos en los que la prueba de ANOVA demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias, se realizó una prueba post-hoc para determinar qué medias son las que difieren, para esto, se realizó la prueba de *diferencia mínima significativa de Fisher* (LSD por sus siglas en inglés) [75], las ecuaciones para su cálculo se muestran en el *anexo F* y los resultados obtenidos en el *anexo G*.

Con base en los resultados de las pruebas estadísticas, fue posible asignar un porcentaje de 100 % para la(s) técnica(s) de mayor eficiencia de extracción, mientras que la(s) técnica(s) restantes fueron asignadas con un porcentaje relativo a la de mayor eficiencia para cada analito. La figura 5.7.1 contiene dichos resultados para cada analito. Mediante este gráfico es posible determinar la técnica más adecuada de extracción específica para cada compuesto; sin embargo, en la mayoría de las ocasiones esto carece de utilidad ya que los análisis son por lo general multicomponentes.

La figura 5.7.2 representa la eficiencia relativa de extracción por grupo de compuestos. Los HAP's se subdividieron en dos grupos. Los HAP's de bajo peso molecular ($PM < 170$ g/mol), los cuales se caracterizan por ser los más volátiles: indeno, naftleno, bifenilo, acenaftileno, acenafteno, dibenzofurano y fluoreno; mientras que los HAP's restantes se caracterizan por ser mas lipofílicos y relativamente menos volátiles.

La extracción Soxhlet resulta ser la extracción menos eficiente para varios de los HAP's, especialmente para los HAP's de bajo peso molecular, debido principalmente a la volatilidad que éstos presentan; cabe mencionar que varios de estos compuestos tienen la característica de sublimar con facilidad. Los HAP's restantes tienden a extraerse de manera adecuada con cualquiera de las técnicas estudiadas, obteniéndose los mejores resultados con la EAMFPA. Los plaguicidas organoclorados se extraen mejor con la EMFPA al ser ésta una técnica de extracción por calor, favoreciendo la ruptura de interacciones de estos compuestos con la matriz; no obstante la EBU muestra una eficiencia solamente 10 % menor, pudiéndose igualar al incrementar la potencia del ultrasonido ya que el equipo empleado provee solamente 50 W. Varios baños de ultrasonido por lo general suministran el doble de potencia y existe la posibilidad de emplear una sonda ultrasónica que puede llegar a proveer 400 W.

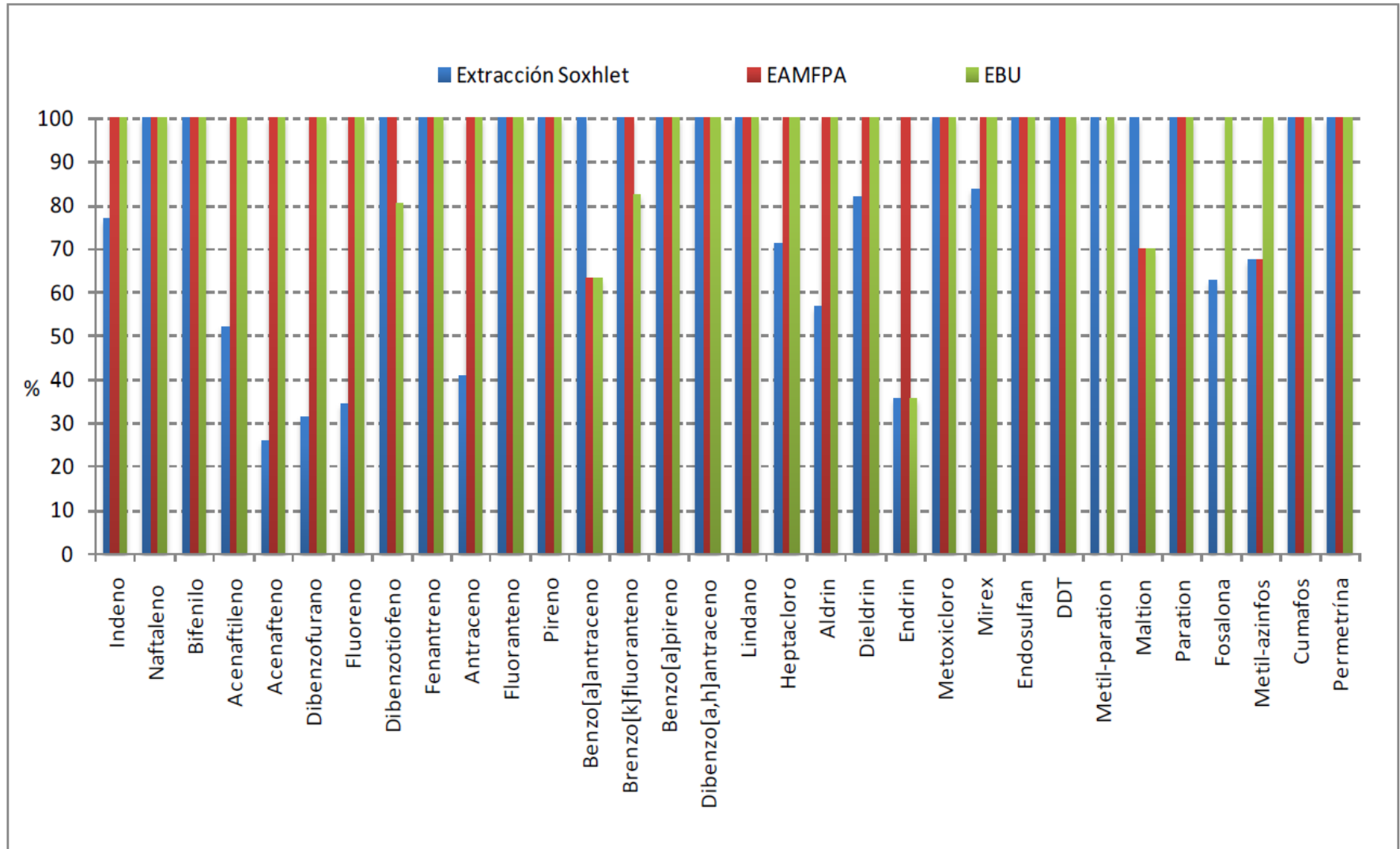


Figura 5.7.1. Eficiencias de extracción de las técnicas para cada uno de los analitos. Se grafica el porcentaje relativo a la mejor técnica de extracción por analito.

EAMFPA: extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica. **EBU:** extracción por baño de ultrasonido.

La EAMFPA no es recomendable para la extracción de los plaguicidas organofosforados al obtenerse una eficiencia 40 % menor respecto a la EBU y la extracción Soxhlet, esto es debido probablemente al incremento en la cinética de degradación de estos compuestos o el favorecimiento de adsorciones irreversibles con grupos polares de los ácidos húmicos presentes en el sedimento. Finalmente, la permetrina no mostró una diferencia significativa al ser extraída por las técnicas estudiadas.

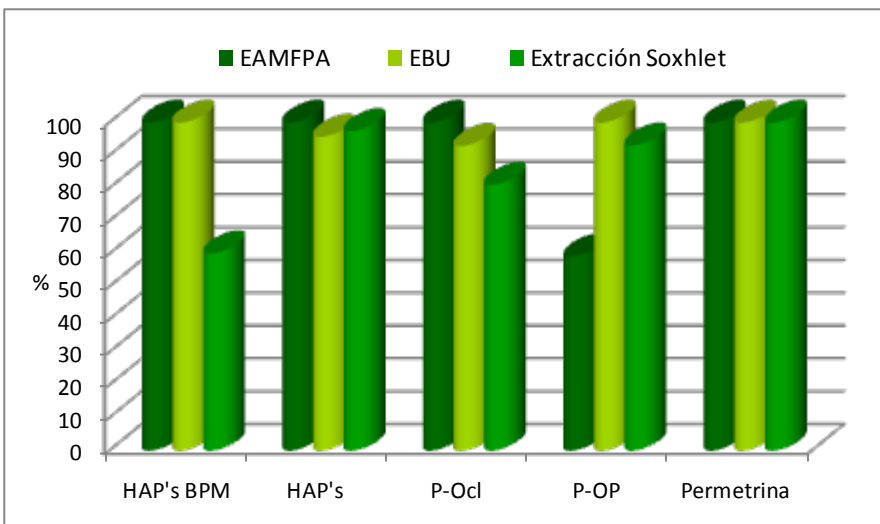


Figura 5.7.2. Eficiencias de extracción de las técnicas por grupo de compuestos. Se grafica el porcentaje relativo a la mejor técnica de extracción por grupo.

BPM: bajo peso molecular, P-OCl: plaguicidas organoclorados, P-OP: plaguicidas organofosforados.

Con base en los resultados de porcentajes relativos obtenidos para cada compuesto, es posible determinar cuál es la técnica más adecuada para la extracción en conjunto al promediar dichos porcentajes. La figura 5.7.3 presenta la eficiencia de extracción de las técnicas estudiadas representándolas como un porcentaje relativo a la técnica más sobresaliente.

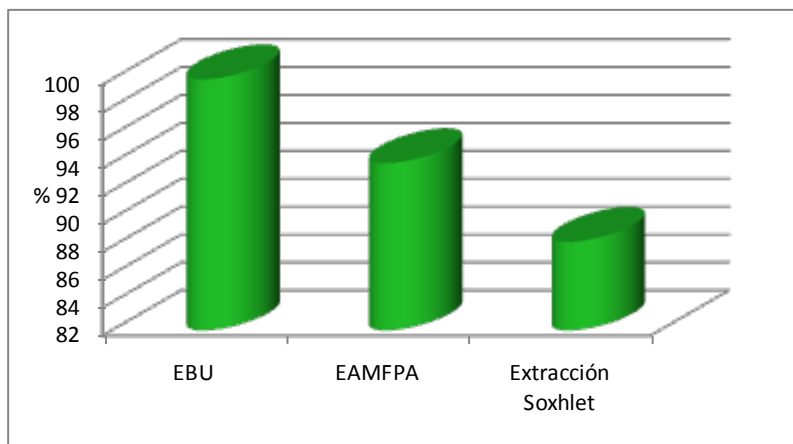


Figura 5.7.3. Eficiencias de extracción de las técnicas para el conjunto de todos los analitos. Se grafica el porcentaje relativo a la mejor técnica de extracción.

Con la EBU se obtendrán las mejores extracciones al realizar un monitoreo con estos grupos de compuestos en muestras de sedimento, adicionalmente es la técnica de extracción más versátil por la

facilidad de adquisición del equipo y principalmente por la posibilidad de extraer más de una muestra de manera simultánea, lo cual agiliza la obtención de resultados cuando se cuenta con un gran número de muestras por analizar. Por otro lado, la extracción Soxhlet y la EAMFPA, además de mostrar eficiencias de extracción 14 % y 8 % menores en conjunto para todos los analitos respectivamente, requieren periodos más largos de extracción, pudiéndose prolongar bastante el tiempo de análisis de un lote con varias muestras. La tabla 5.7.1 contiene los tiempos aproximados invertidos en cada etapa de la preparación de la muestra empleando las técnicas de extracción estudiadas. A pesar de que la EBU consume más tiempo por muestra, si se considerase el análisis de más muestras o réplicas, el tiempo invertido en la preparación de la muestra disminuye drásticamente; por ejemplo, tomando en consideración que el baño de ultrasonido cuenta con una capacidad para extraer 6 muestras de manera simultánea, el tiempo total empleado en cada técnica de extracción para preparar 6 muestras sería:

- EBU: 5 horas.
- EAMFPA: 11 horas.
- Extracción Soxhlet: 40 horas.

Tiempo aproximado invertido en la preparación de la muestra por técnica de extracción						
# de muestras	EBU		EAMFPA		Extracción Soxhlet	
	1	6	1	6	1	6
Extracción	40 min	40 min	80 min	480 min	360 min	2160 min
Limpieza	10 min	60 min	10 min	60 min	10 min	60 min
Concentración	180 min	180 min	120 min	120 min	90 min	90 min
TOTAL	3.8 h	4.7 h	3.5 h	11 h	7.7 h	38.5 h

Tabla 5.7.1. Tiempo aproximado invertido en la preparación de la muestra por técnica de extracción tomando en cuenta 1 muestra y 6 muestras. El baño de ultrasonido cuenta con capacidad de extraer 6 muestras de manera simultánea.

5.8 PORCENTAJES DE RECOBRO EN MUESTRAS DE AGUA

Los porcentajes de recobro de los analitos se muestran en la tabla 5.8.1. Los porcentajes de recobro de los plaguicidas fueron superiores al 80 %, demostrando que la fase del cartucho es adecuada para concentrar 1000 veces dichos analitos a partir de un litro de agua. Por otro lado, los HAP's más solubles en agua (ej. indeno, naftleno, etc.) presentan recobros extremadamente bajos, lo cual es de esperar debido a la fase hidrofóbica empleada y al medio acuoso. Los analitos cuyos porcentajes de recobro fueron menores al 60 %, se descartaron del análisis de agua por falta de confiabilidad en los resultados. Este hecho sustenta aún más la viabilidad del uso de muestras de sedimento para realizar un monitoreo de la calidad del agua para todos los analitos estudiados.

Compuesto	% recobro	Compuesto	% recobro
Lindano	79.3 ± 9.9	Indeno	1.2 ± 0.25
Heptacloro	87.1 ± 12.8	Naftaleno	1.0 ± 0.47
Aldrin	85.5 ± 8.4	Bifenilo	0.8 ± 0.25
Dieldrin	90.2 ± 2.8	Acenaftileno	4.0 ± 1.42
Endrin	92.8 ± 7.1	Acenafteno	3.7 ± 1.05
Mirex	88.0 ± 13.8	Dibenzofurano	8.4 ± 0.64
Metoxicloro	84.8 ± 1.8	Fluoreno	15.7 ± 7.27
DDT	93.8 ± 9.1	Dibenzotiofeno	35.5 ± 2.40
DDE	94.8 ± 8.9	Fenantreno	40.9 ± 2.08
DDD	92.6 ± 13.6	Antraceno	39.6 ± 12.02
Metil-paratión	88.5 ± 5.9	Fluoranteno	61.3 ± 11.34
Paratión	93.0 ± 8.5	Pireno	62.3 ± 2.90
Fosalona	87.9 ± 8.6	Benzo[a]antraceno	72.6 ± 7.45
Metil-azinfos	86.0 ± 6.4	Benzo[k]fluoranteno	78.7 ± 5.62
Cumafos	86.1 ± 10.6	Benzo[a]pireno	75.3 ± 7.35
Permetrina	92.5 ± 8.6	Dibenzo[a,h]antraceno	118.1 ± 9.84

Tabla 5.8.1. Porcentajes de recobro para los analitos en una muestra de agua destilada. Volumen de la muestra: 1L. Factor de concentración (1000:1).

Concentración aproximada de los analitos en la muestra: 0.5 ng/mL

5.9 ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA Y SEDIMENTO DE CUENCAS DEL RÍO LACANTÚN

Las primeras muestras fueron tomadas en noviembre del 2008, únicamente se tenían definidos 9 puntos de muestreo (# 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 y 11); para julio de 2009 se introdujeron 2 sitios más al monitoreo basándose en estudios de escurrimiento de la zona. Se presentan los resultados obtenidos hasta el muestreo realizado en octubre de 2009.

En las muestras de agua no se detectó ninguno de los analitos, mientras que en las muestras de sedimento se detectaron pequeñas cantidades de éstos, mostrando que los sedimentos resultan ser un adecuado concentrador de contaminantes orgánicos, dado que el gasto medio anual del río Lacantún oscila entre 425.3 m³/s y un escurrimiento anual en el orden de 13,000 millones de metros cúbicos de agua [76].

Las concentraciones de los analitos detectados en el respectivo mes y lugar de estudio se muestran en el *anexo H*. La concentración de cada uno de los plaguicidas se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles en muestras de sedimento (*anexo J*).

Los plaguicidas detectados se muestran en la tabla 5.10.1, todos ellos provienen de las regiones de asentamientos humanos y actividad agropecuaria. Varios de ellos se encuentran por debajo del límite de cuantificación, no obstante, su presencia no deja de preocupar, ya que la mayoría de los plaguicidas organoclorados, se prohibieron hace más de dos décadas. Esto refleja la carencia de información y de

presencia de autoridades regulatorias en la zona, la cual resulta ser necesaria para la erradicación de los plaguicidas potencialmente tóxicos y su sustitución por plaguicidas de nueva generación cuyo impacto ambiental es menos severo.

Fecha	# de sitio	Concentración del plaguicida (ng/g)		
		Endrín	Dieldrín	Paratión
Nov-08	5	n.d.	DET	n.d.
	6	n.d.	DET	n.d.
	8	DET	n.d.	n.d.
	10	n.d.	DET	n.d.
Ene-09	10	20.7 ± 5.1	n.d.	n.d.
May-09	3	n.d.	DET	n.d.
Jul-09	1	n.d.	n.d.	29.2 ± 1.36
	2	n.d.	n.d.	79.0 ± 10.1
Ago-09	1	n.d.	n.d.	35.0 ± 4.9
Oct-09	2	n.d.	n.d.	18.6 ± 4.2
	4	n.d.	n.d.	40.7 ± 4.1
	8	n.d.	n.d.	14.1 ± 5.7
	9	n.d.	n.d.	35.9 ± 8.3

Tabla 5.9.1. Concentración de los plaguicidas detectados. **DET:** detectado, concentración por debajo del límite de cuantificación. **n.d.:** no detectado. Todos los sitios tienen escurrimientos de las zonas con asentamientos humanos y actividad agropecuaria.

Los HAP's se encuentran a concentraciones aparentemente inocuas; sin embargo, es necesario determinar el efecto que podrían ejercer en conjunto estos analitos y no evaluar el efecto individual de cada uno sobre la fauna del río como se reporta en varios estudios [13, 15]. La figura 5.9.1 muestra la concentración total de HAP's (resultado de la suma de concentraciones individuales) por zona y mes de muestreo. Es posible apreciar una tendencia cíclica a lo largo del periodo de estudio entre la época menos y más húmeda del año, presentándose en los meses de marzo y septiembre respectivamente [76]. Durante la temporada seca la concentración detectada de los HAP's se reduce en comparación con la observada en la temporada de lluvias. En la temporada seca, la quema de los pastos aumenta considerablemente, por lo que las cenizas son depositadas sobre el suelo y las copas de los árboles, los cuales proveen una superficie de captación enorme. Durante la temporada de lluvias, el incremento drástico en la precipitación arrastra las cenizas depositadas, parte de estas son concentradas por los sedimentos, reflejándose en un incremento en la concentración de los HAP's durante esta época del año. La tabla 5.9.2 muestra el cociente de concentración de naftaleno/fenantreno en los sitios de muestreo para los cuales estos analitos fueron detectados, dicho cociente es indicativo de un origen de procedencia pirogénico de los HAP's (ver cocientes de referencia en la tabla 3.1.1) como es de esperar por los resultados observados.

Es necesario prolongar el monitoreo en la zona, además de correlacionar los aspectos de calidad del agua con estudios climatológicos para la delimitación de zonas de captación y escurrimiento y estudios

biológicos para establecer índices químico/biológicos que determinen el impacto de los asentamientos humanos sobre la fauna del río y así determinar zonas críticas y conservadas para el establecimiento de las medidas correspondientes para la preservación de la biodiversidad de la zona.

Fecha	# de sitio	[Naftaleno]/[Fenantreno]
Ene-09	8	5.00E-04
Feb-09	5	0.35
	7	0.4
Mar-09	6	0.24
	10	0.21
May-09	4	0.53
	11	0.73

Tabla 5.9.2. Cocientes de concentración de naftaleno/fenantreno determinados en algunos sitios de muestreo. Un cociente menor o igual a 1 indica una procedencia pirogénica (ver tabla 3.1.1).

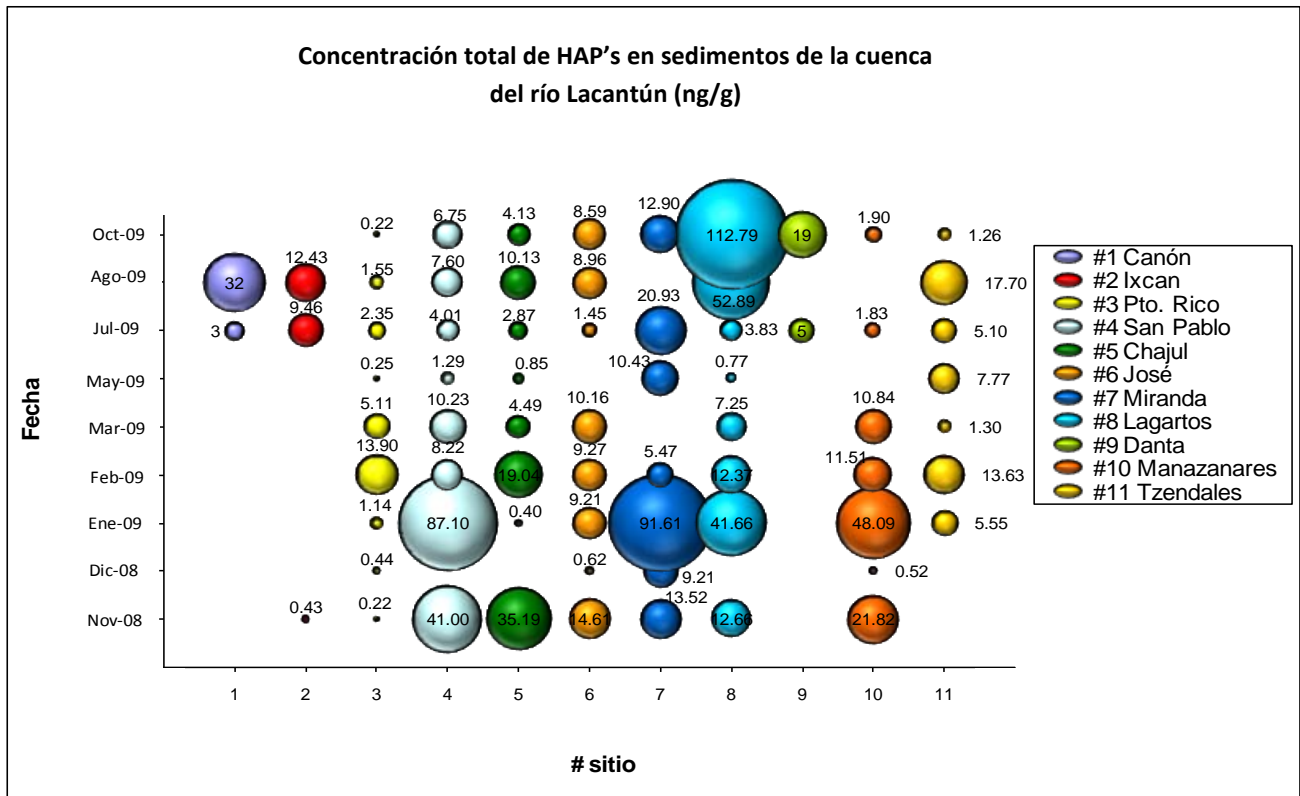


Figura 5.9.1. Concentración total de HAP's en muestras de sedimento de la cuenca del río Lacantún.

6. CONCLUSIONES

El desarrollo de la presente tesis permite concluir:

1. El programa de temperatura del cromatógrafo de gases y las relaciones m/z seleccionadas para la cuantificación e identificación de los analitos por el espectrómetro de masas permiten la adecuada discriminación entre sus respuestas en un tiempo no mayor a 25 minutos.
2. Se desarrolló y optimizó la extracción en conjunto de los analitos de muestras de sedimento mediante las técnicas EAMFPA y EBU empleando diseños factoriales completos y fraccionados, mediante los cuales se agilizó y economizó la experimentación en este estudio.
3. La linealidad de los métodos empleando EAMFPA, EBU y extracción Soxhlet es aceptable al obtenerse coeficientes de correlación superiores a 0.7 para todos los casos.
4. No se observó interferencia sobre la respuesta por compuestos inherentes a la matriz de la muestra al emplear la EBU y la extracción Soxhlet; no obstante, al utilizar la EAMFPA se presentó un incremento en la respuesta del metil-paratión y la fosadona debido a la extracción de compuestos interferentes.
5. Los límites de detección de método al utilizar las técnicas de EAMFPA y EBU se encuentran en un orden 10^3 veces por debajo de las concentraciones máximas permisibles por la EPA en muestras de sedimento.
6. En cuanto a las eficiencias de extracción de las técnicas de EAMFPA, EBU y extracción Soxhlet por grupos de compuestos:
 - a. La extracción mediante EAMFPA y EBU es estadísticamente igual para los HAP's de peso molecular menor a 170 g/mol; por otro lado la extracción Soxhlet muestra una eficiencia 40 % menor con respecto a las dos anteriores.
 - b. Para los HAP's cuyo peso molecular es mayor a 170 g/mol, las eficiencias de extracción son similares para las técnicas evaluadas, obteniéndose rendimientos ligeramente mejores al emplear EAMFPA.
 - c. La EAMFPA resulta ser la más eficiente para los plaguicidas organoclorados, la EBU y la extracción Soxhlet tienen eficiencias relativas a la EAMFPA 8 % y 20 % menores respectivamente.

- d. La EBU posee el mejor rendimiento de extracción para los plaguicidas organofosforados; la extracción Soxhlet y la EAMFPA presentan eficiencias relativas a la EBU 8 % y 40 % menores respectivamente.
 - e. Para la permetrina, no se demostró diferencia estadísticamente significativa entre las técnicas de extracción evaluadas.
7. Al evaluar en conjunto las eficiencias de extracción de los diversos grupos de compuestos, la EBU presenta la mejor eficiencia de extracción, mientras que la EAMFPA y la extracción Soxhlet mostraron eficiencias relativas a la EBU 8 % y 14 % menores. Adicionalmente la EBU es la técnica más versátil no sólo por presentar los mejores rendimientos de extracción, sino por ser la más rápida y sencilla de utilizar cuando se tienen numerosas muestras por analizar.
8. Los porcentajes de recobro del método por EFS para las muestras de agua es adecuado para la concentración/extracción de todos los analitos con la excepción del indeno, naftaleno, bifenilo, acenaftileno, acenafteno, dibenzofurano, fluoreno, dibenzotiofeno, fenantreno y antraceno cuyos porcentajes de recobro son menores al 60 % debido a la elevada solubilidad acuosa que presentan, por lo que fueron descartados del análisis de agua; no obstante, esto puede ser corregido empleando cartuchos con fases adsorbentes menos hidrofóbicas o mixtas.
9. Respecto al análisis de muestras de agua y sedimento en la cuenca del río Lacantún se puede concluir:
- a. La concentración de los contaminantes orgánicos encontrados no supera los límites máximos permisibles por la EPA, indicando que la región estudiada no se encuentra bajo riesgo severo; sin embargo, la presencia de los plaguicidas son un claro indicio de que deberán tomarse medidas preventivas en la región.
 - b. La presencia de los plaguicidas organoclorados encontrados (Endrín y Dieldrin) demuestra la falta de regulación agrícola e información en la zona por haberse prohibido su uso hace algunas décadas. Esto es otro claro indicio que debe llevar a informar a la zona sobre el riesgo del uso de este tipo de plaguicidas y fomentar su sustitución por plaguicidas cuyo impacto ambiental es menos severo.
 - c. La quema de los pastos y de la selva genera HAP's que son adsorbidos sobre las cenizas, las cuales migran y se depositan sobre las copas de los arboles, en la vegetación y en el suelo de la región de REBIMA que provee un área de captación mucho mayor a la estimada en metros cuadrados de suelo; en la temporada de lluvias parte de las cenizas son escurridas hacia el río Lacantún y parte adsorbidas por los sedimentos, es por eso que en esta

temporada se observa un incremento en su concentración, la cual disminuye en temporada seca.

- d. Los cocientes de concentración de los HAP's antraceno/fenantreno, encontrados en puntos de muestreo ya sea que provengan de regiones con asentamientos humanos o del interior de REBIMA, indican que la procedencia de estos compuestos es de origen pirogénico, lo cual sustenta la tendencia observada en las concentraciones de estos compuestos entre la temporada seca y la de lluvia.

Finalmente, cabe mencionar que hace falta realizar un estudio más prolongado y evaluar otros parámetros fisicoquímicos, para poder correlacionar estos resultados con estudios biológicos y establecer índices químico/biológicos de sustentabilidad ecológica para esta zona de estudio.

ANEXOS

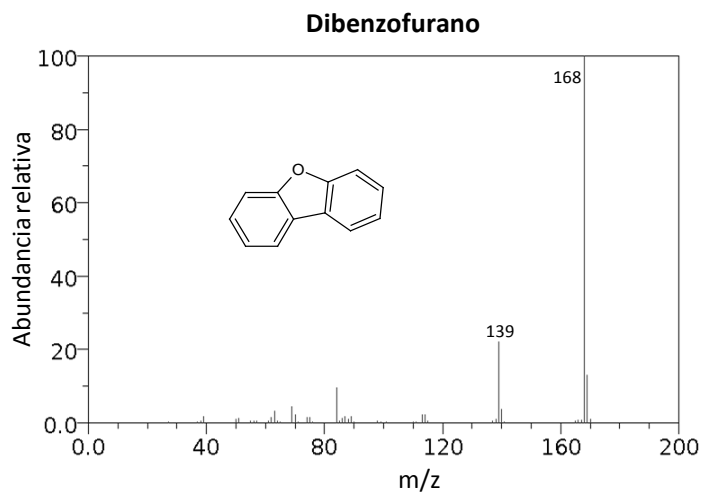
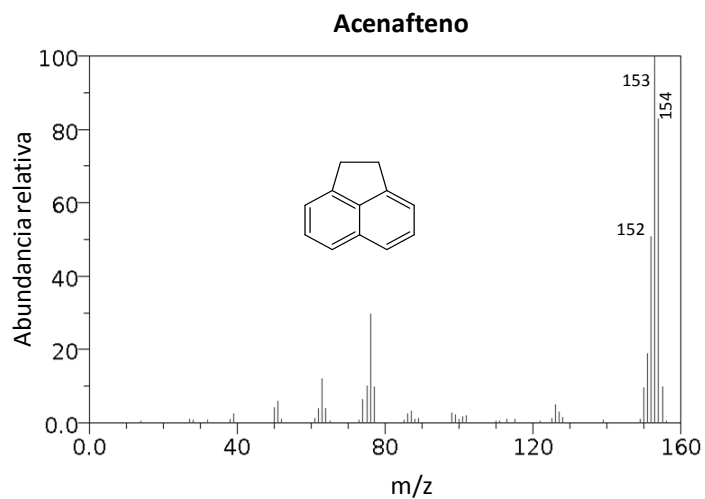
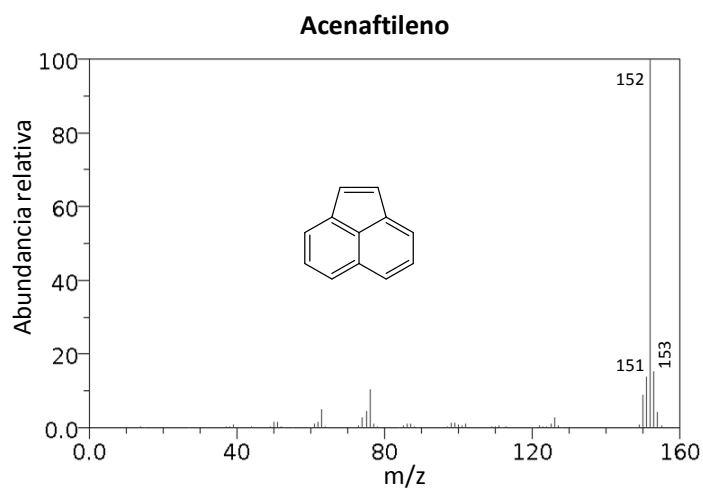
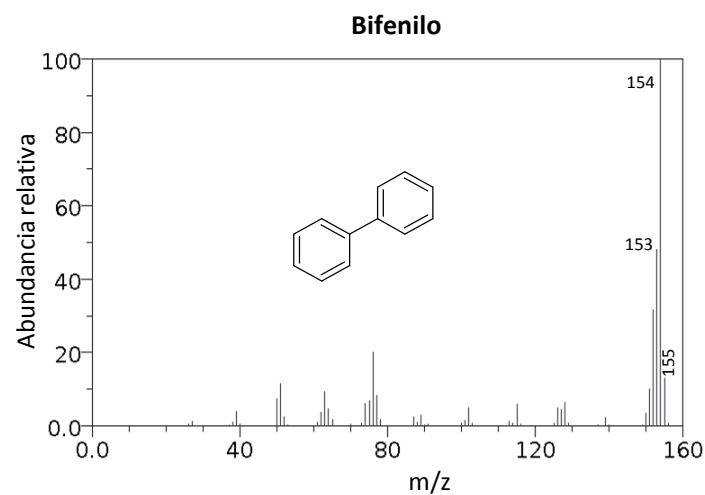
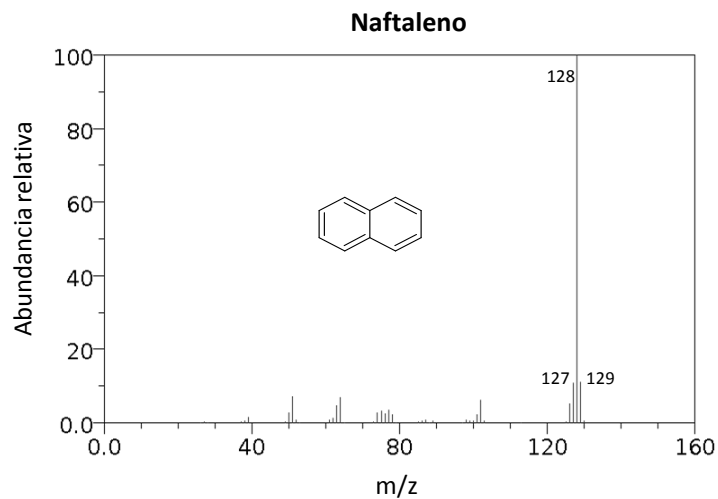
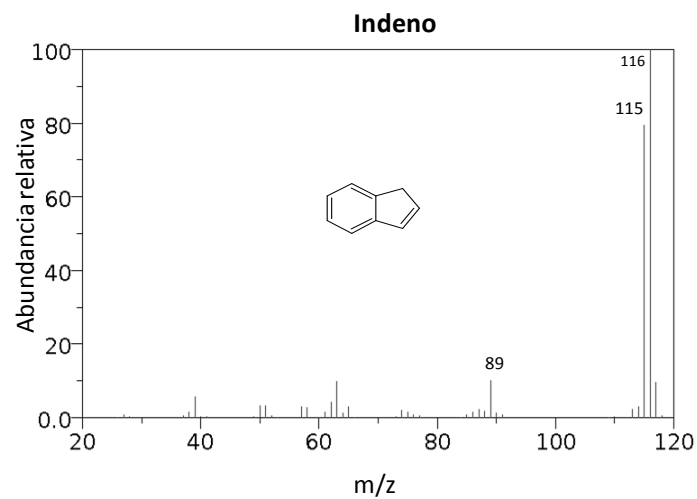
- A.** Iones de cuantificación e identificación de los analitos para su detección por monitoreo selectivo de iones mediante espectrometría de masas.
- B.** Espectros de masas.
- C.** Gráficos con las curvas de método y la curva de calibración instrumental.
- D.** Ecuaciones para la evaluación de la linealidad y parámetros de estadística descriptiva.
- E.** Pruebas estadísticas para la evaluación de la homoscedasticidad.
- F.** Pruebas estadísticas para comparar medias.
- G.** Resultados de las pruebas estadísticas para la comparación de las medias en la evaluación de las técnicas de extracción.
- H.** Concentración de los analitos detectados en muestras de sedimento de la cuenca del río Lacantún.
- I.** Cromatogramas representativos de las muestras de sedimento y agua de los sitios de muestreo de la cuenca del río Lacantún.
- J.** Concentraciones máximas permisibles de algunos analitos en sedimentos de cuerpos de agua dulce.
- K.** Cartas control de reactividad del inyector y porcentaje de recobro del subrogado.

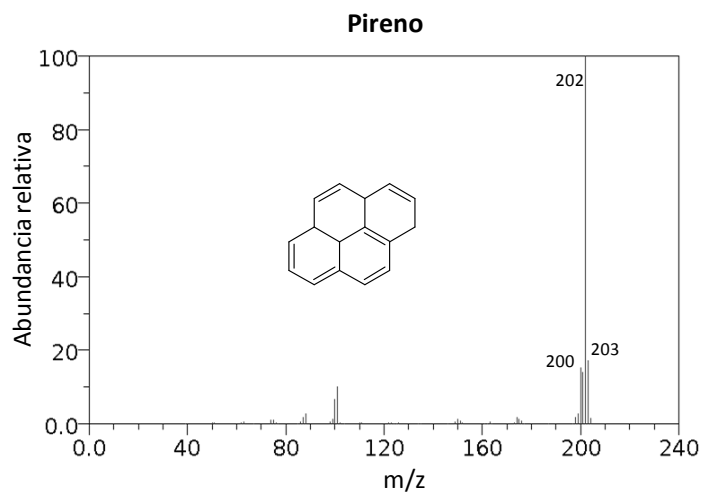
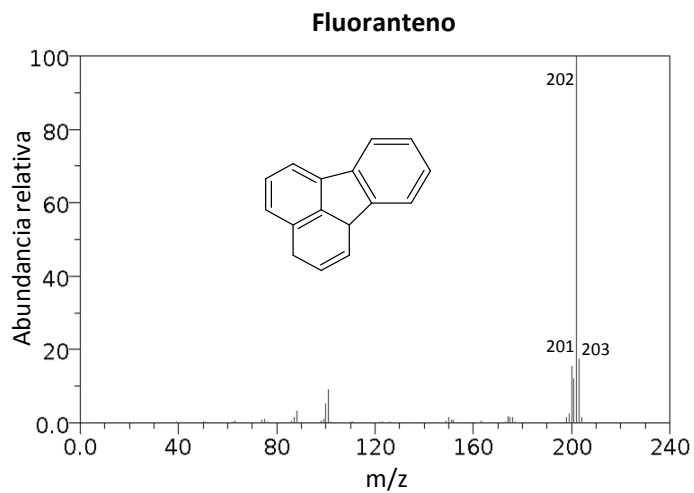
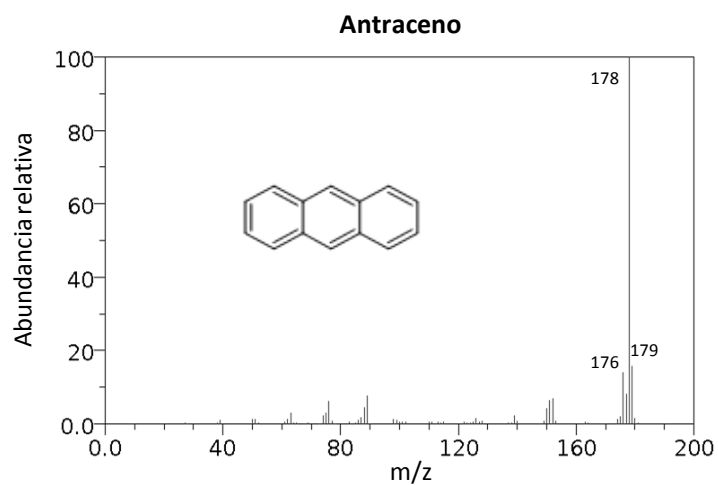
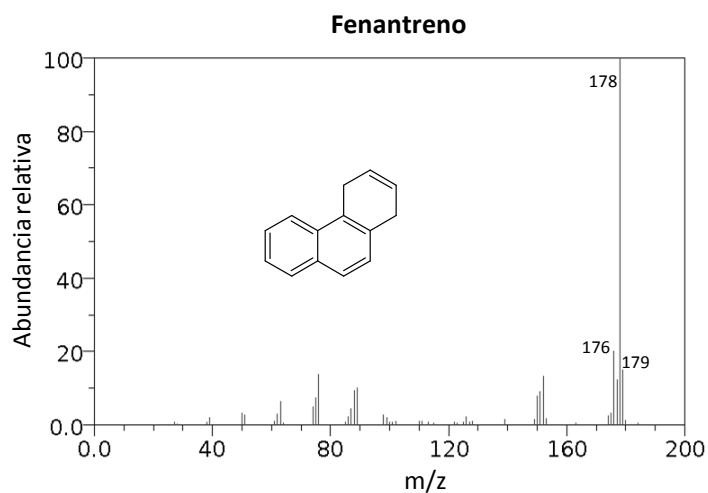
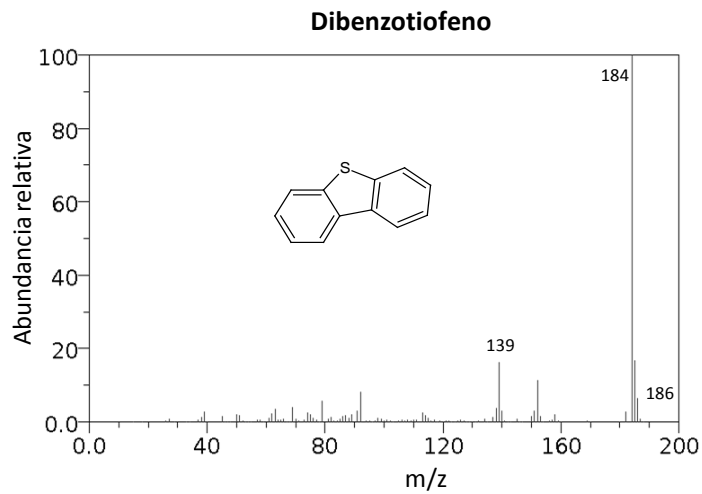
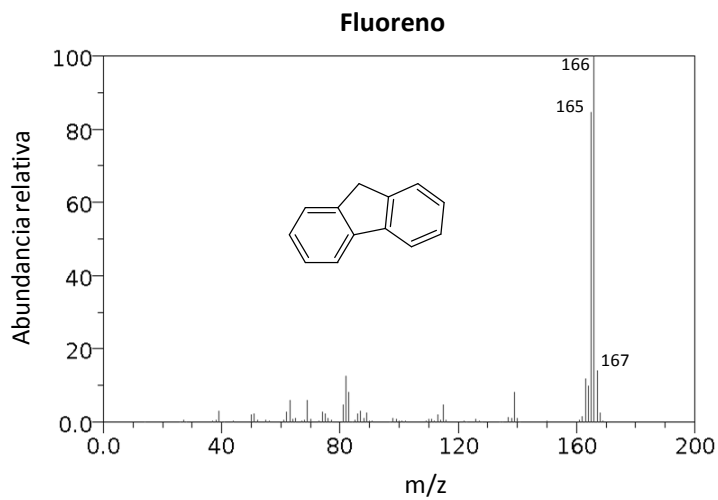
A Iones de cuantificación e identificación de los analitos para su detección por monitoreo selectivo de iones mediante espectrometría de masas.

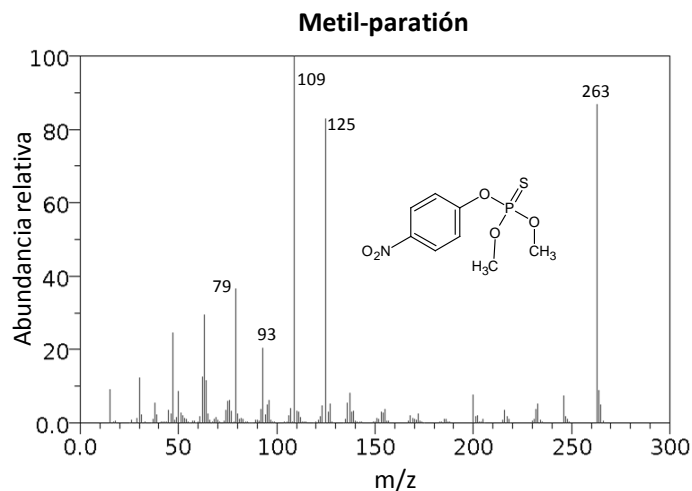
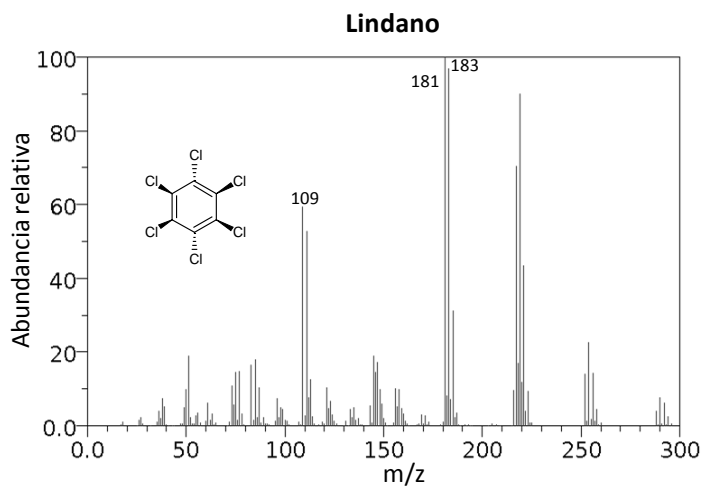
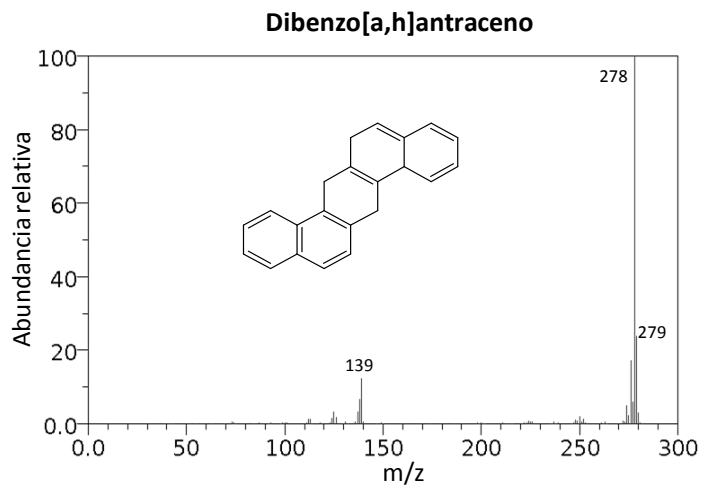
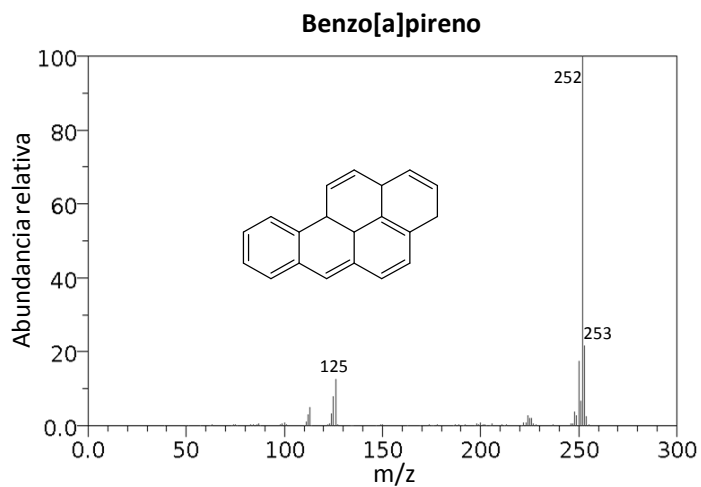
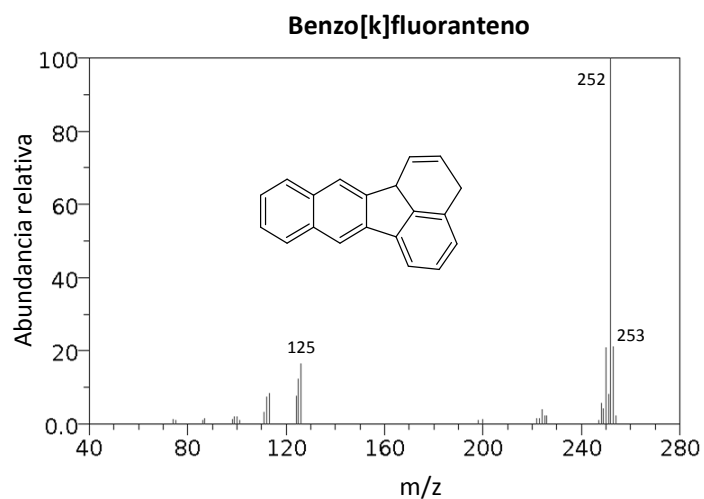
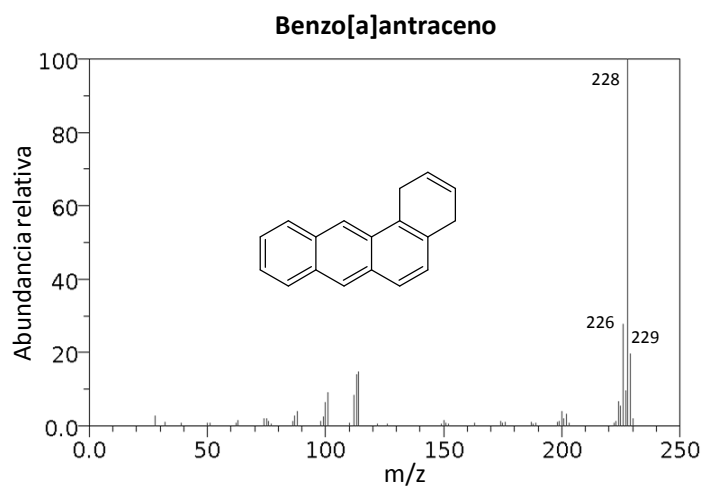
Se presenta el tiempo de retención y la abundancia relativa de cada uno de los iones seleccionados, ésta es utilizada como criterio adicional para confirmar la detección de los analitos.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Ion de Cuantificación	Iones de identificación											
			%		%		%		%		%		%	
Indeno	3.4	116	100	115	80	89	10							
Naftaleno	4.21	128	100	129	15	127	10							
Bifenilo	5.31	154	100	153	50	155	15							
Acenaftileno	5.83	152	100	151	15	153	15							
Acenafteno	6.06	154	80	153	100	152	50							
Dibenzofurano	6.31	168	100	139	25									
Fluoreno	6.84	166	100	165	88	167	18							
Lindano	8.29	183	100	181	90	109	60							
Dibenzotiofeno	8.29	184	100	186	10	139	20							
Fenantreno	8.53	178	100	179	20	176	25							
Antraceno	8.63	178	100	176	15	179	15							
Metil-Paration	9.40	109	100	125	85	263	90	79	40	93	20			
Heptacloro	9.51	100	100	272	75	274	65							
Malation	10.03	173	95	125	100	127	90	93	95	158	40			
Aldrin	10.13	66	100	263	60	220	10							
Paration	10.28	109	75	97	70	291	100	139	45	155	35			
4,4-dibromobifenilo	10.49	312												
Fluoranteno	11.04	202	100	201	10	203	20							
Pireno	11.52	202	100	200	15	203	18							
Endosulfan I	11.55	195	100	339	50	341	30							
DDE	12.01	246	100	248	65	176	35							
Dieldrin	12.07	79	100	263	20	279	18							
Endrin	12.53	67	100	345	20	250	8							
Endosulfan II	12.80	337	35	339	50	341	35							
DDD	12.97	235	100	237	70	165	45							
DDT	13.79	235	100	237	70	165	45							
Benzo[a]antraceno	14.82	228	100	229	20	226	30							
Benzo[a]antraceno d-12	14.82	240	100	239	20	241	30							
Metoxicloro	15.09	227	100	228	20	152	10	114	5	274	5	212	5	
Fosalona	15.65	182	100	184	40	367	20	121	70	379	0			
Metil-azinfos	15.72	160	100	132	88	93	30	104	35	105	30			
Mirex	15.88	272	100	237	50	274	80	270	50	239	35	235	35	
Permetrina (cis)	16.83	183	100	184	15	163	25	165	25					
Permetrina (trans)	17.05	183	100	184	15	163	25	165	25					
Cumafos	17.05	362	80	226	70	210	50	364	35	97	90	109	100	
Benzo[k]fluoranteno	17.46	252	100	253	25	125	15							
Bezo[a]pireno	18.06	252	100	253	25	125	10							
Dibenzo[a,h]antraceno	20.39	278	100	139	15	279	30							

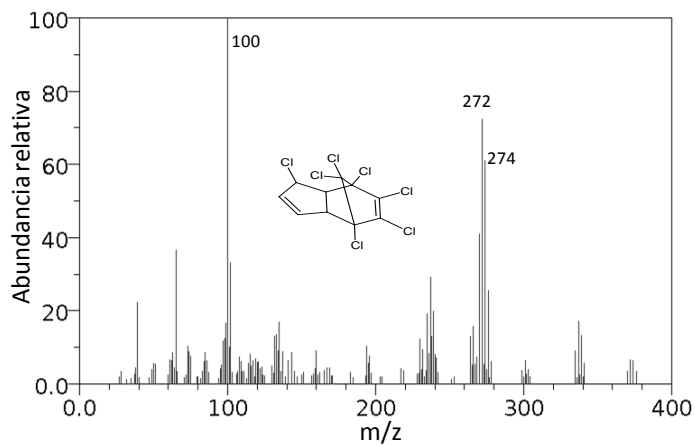
Los tiempos de retención rellenos en verde corresponden a los compuestos que coeluyen.

B Espectros de masas.

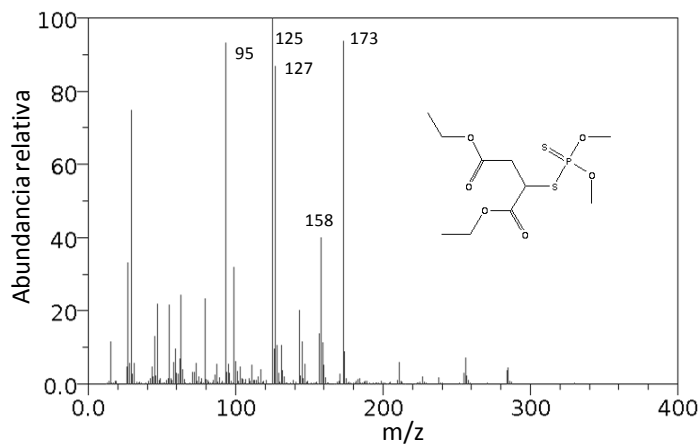




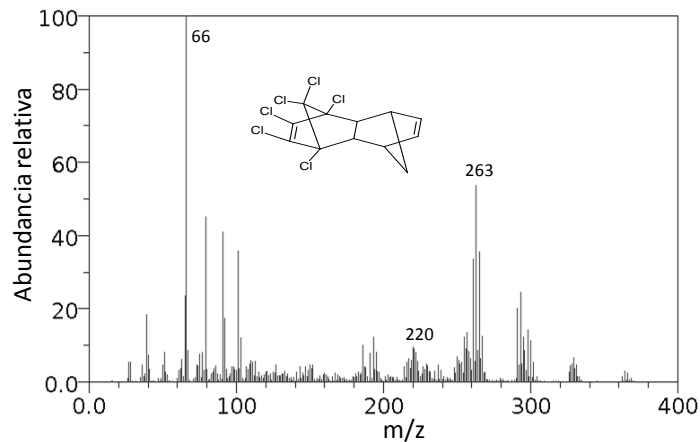
Heptacloro



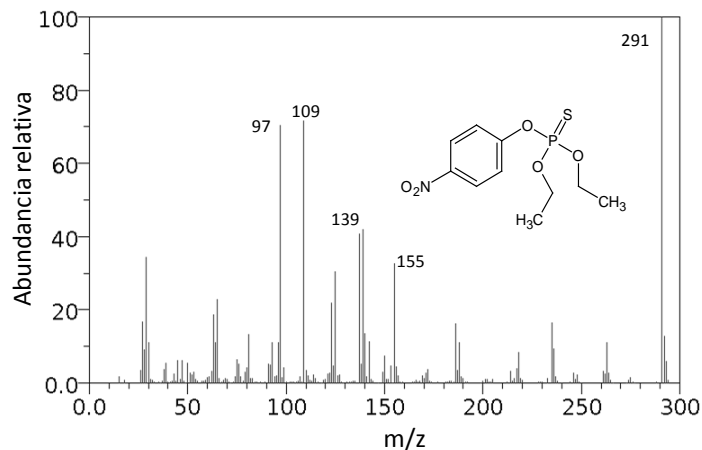
Malatión



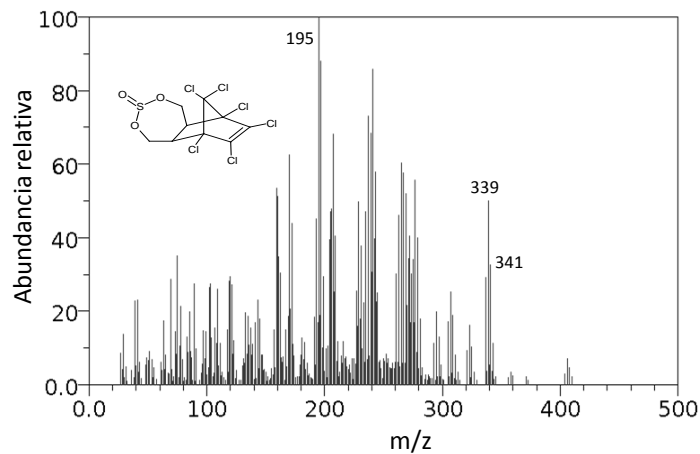
Aldrín



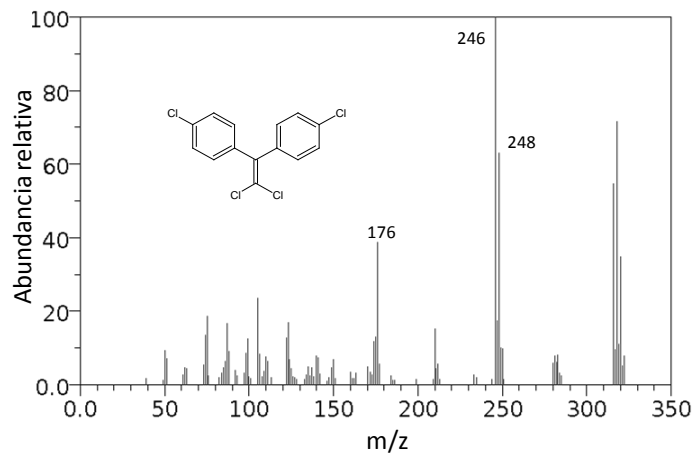
Paratión

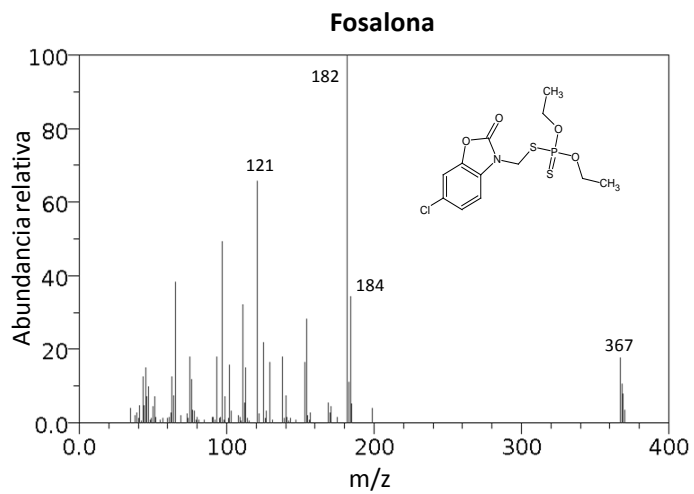
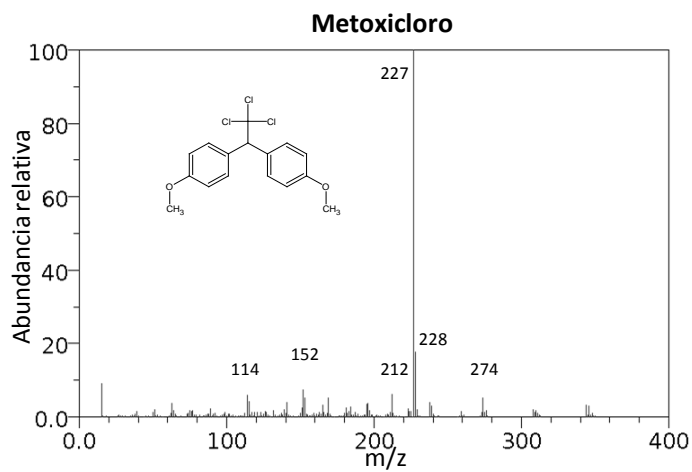
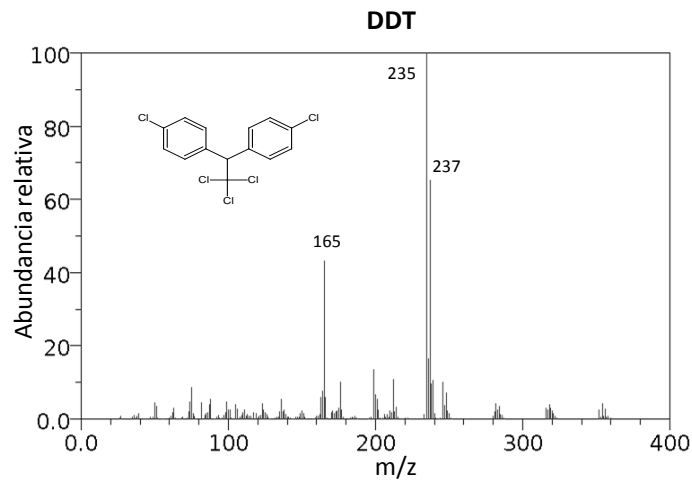
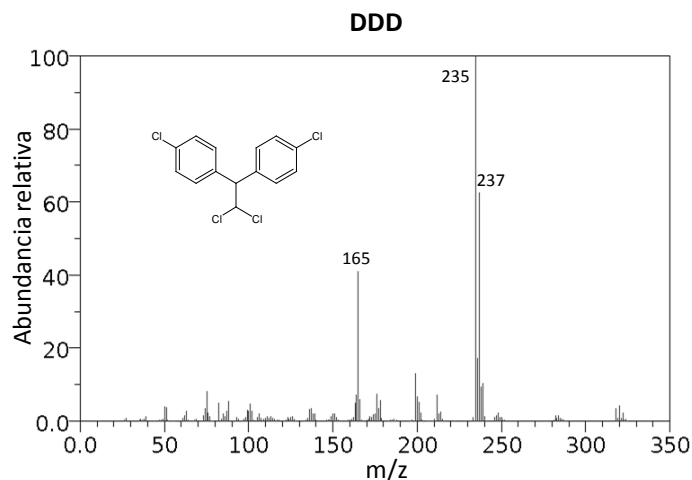
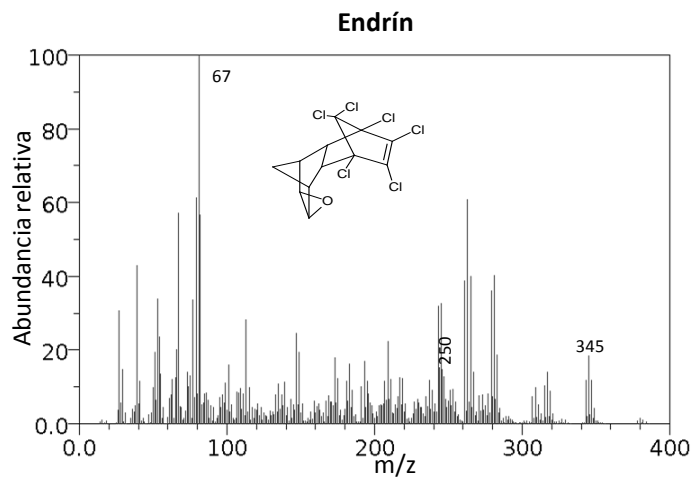
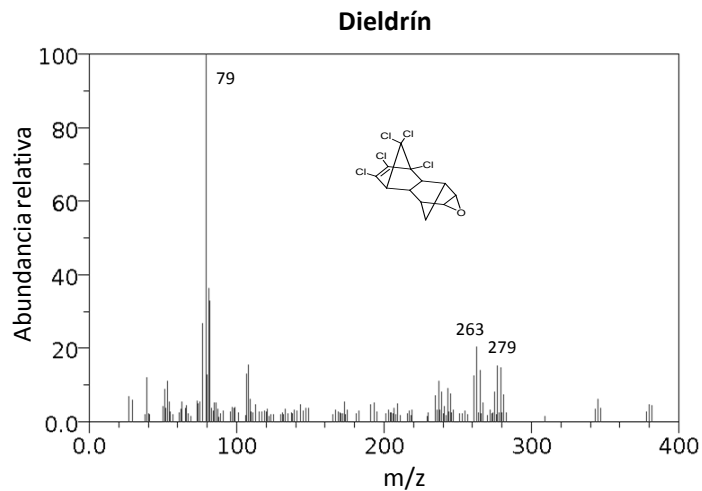


Endosulfan

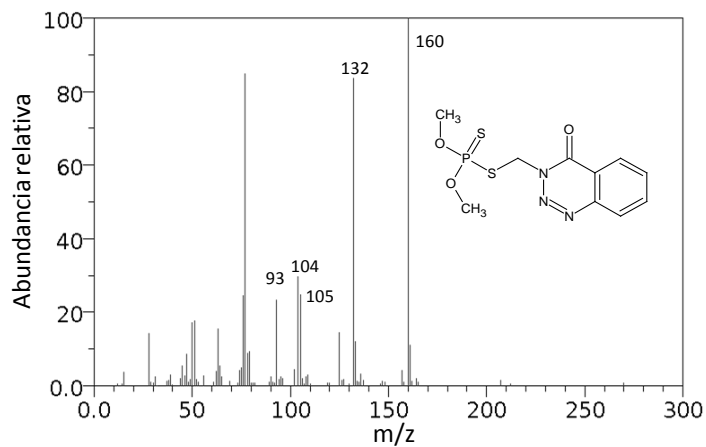


DDE

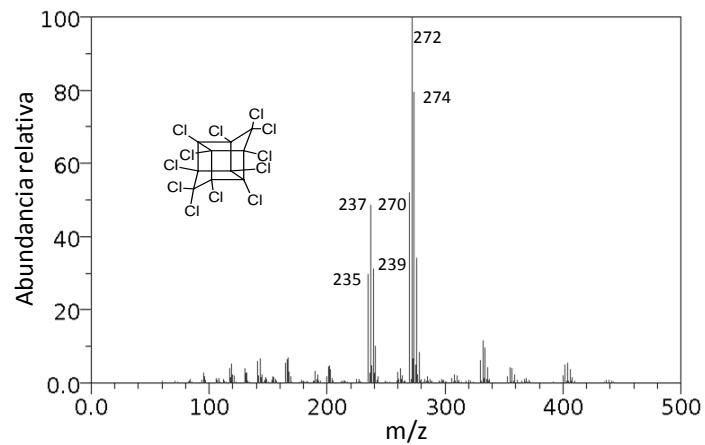




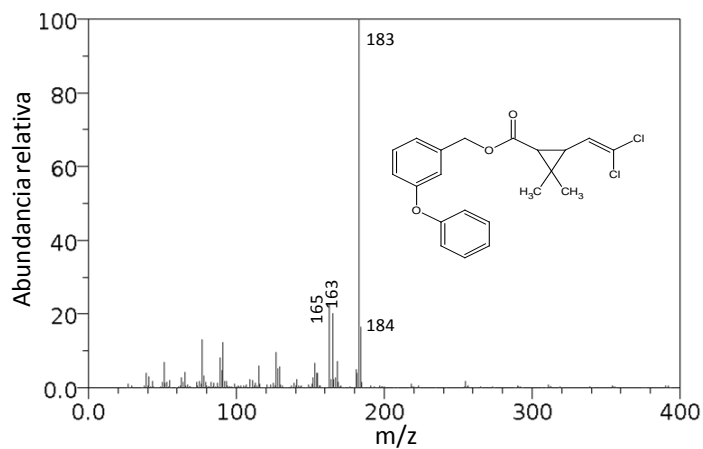
Metil-azinfos



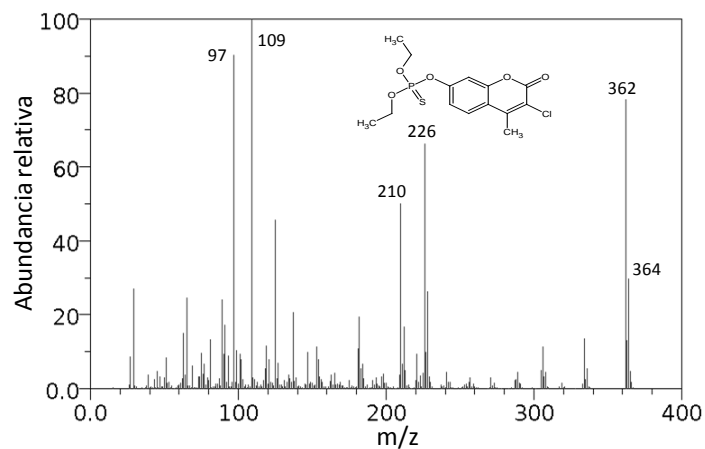
Mirex



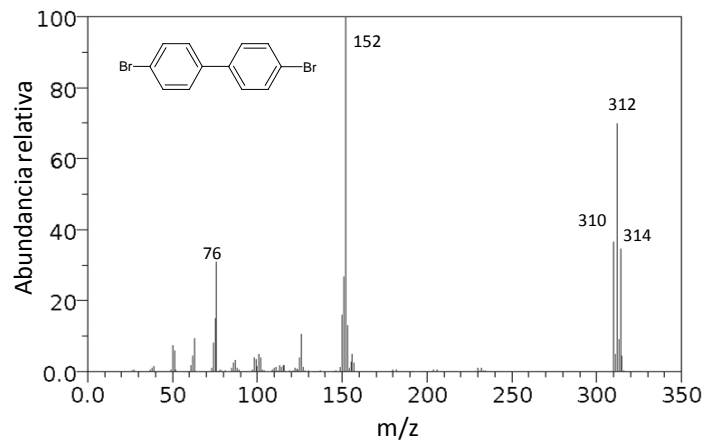
Permetrina



Cumafos



4,4-dibromobifenilo



C Gráficos de las curvas de método y la curva de calibración instrumental.

La siguiente notación es empleada en los gráficos:

CC: curva de calibración; **S:** sistema (instrumental); **M:** método; **EBU:** Extracción por baño de ultrasonido; **EAMFPA:** extracción asistida por microondas focalizadas a presión atmosférica; **ESx:** Extracción Soxhlet.

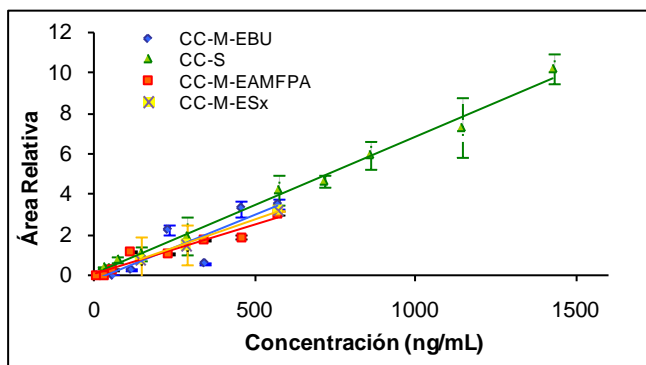


Figura C-1. Curvas de método y de calibración del indeno.

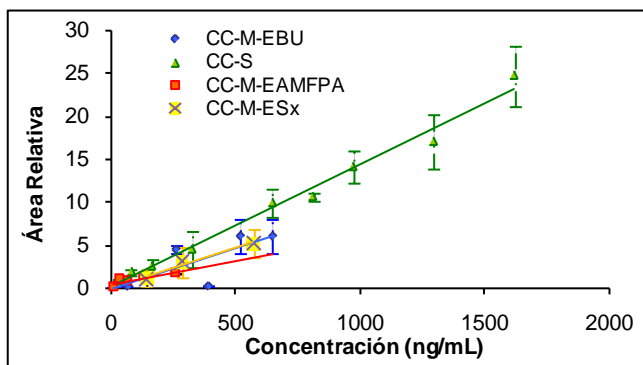


Figura C-2. Curvas de método y de calibración del naftaleno.

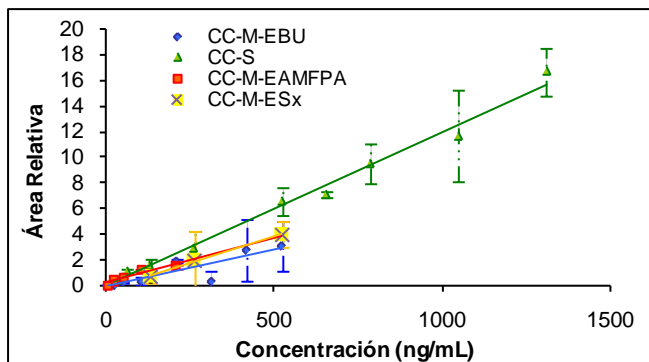


Figura C-3. Curvas de método y de calibración del bifenilo.

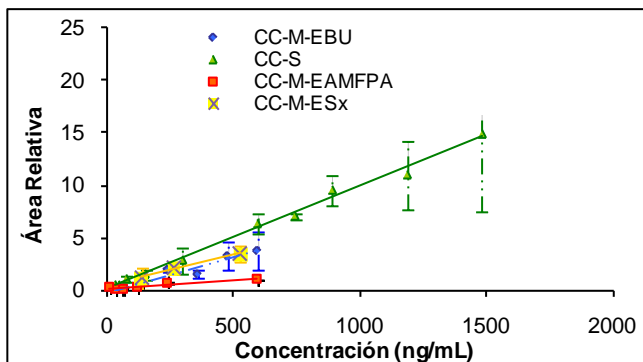


Figura C-4. Curvas de método y de calibración del acenaftileno.

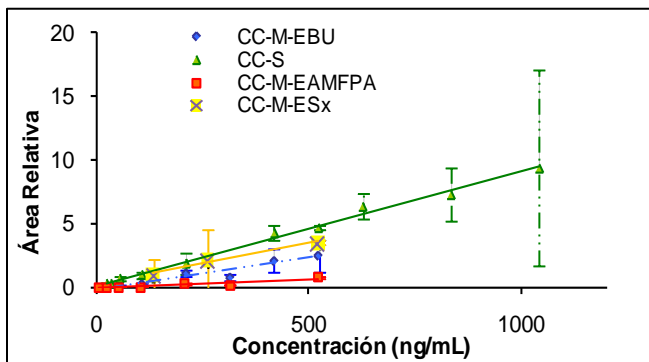


Figura C-5. Curvas de método y de calibración del acenafteno.

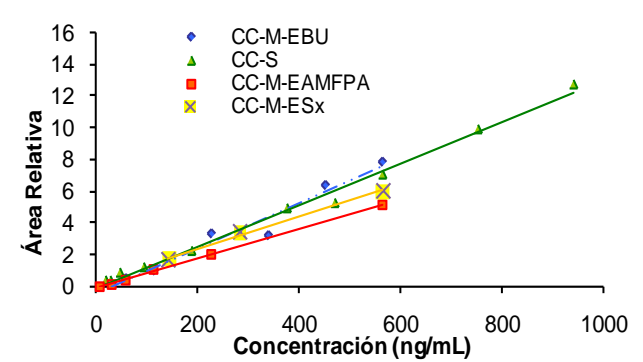


Figura C-6. Curvas de método y de calibración del dibenzofurano.

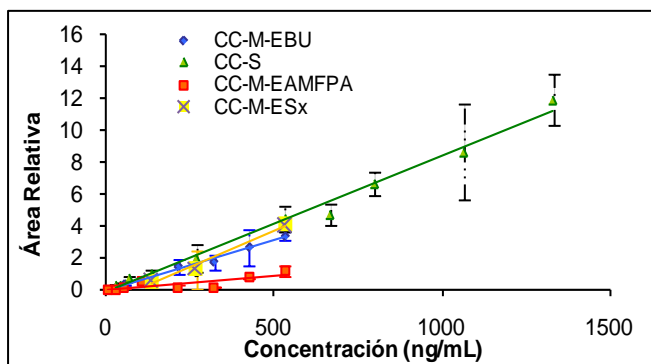


Figura C-7. Curvas de método y de calibración del fluoreno.

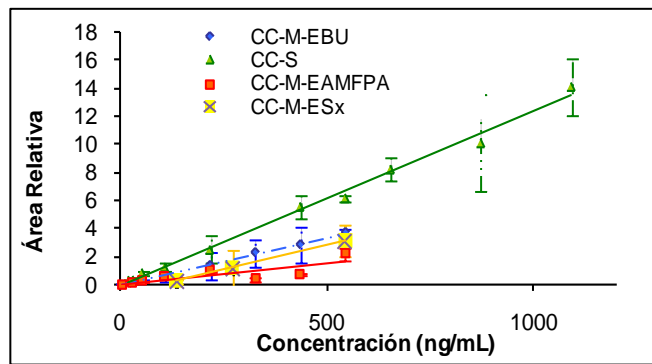


Figura C-8. Curvas de método y de calibración del dibenzotiofeno.

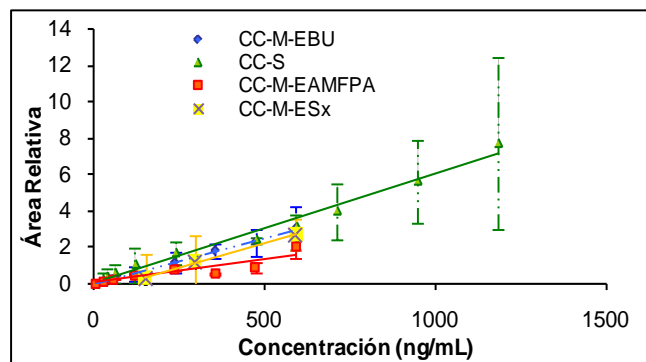


Figura C-9. Curvas de método y de calibración del fenantreno.

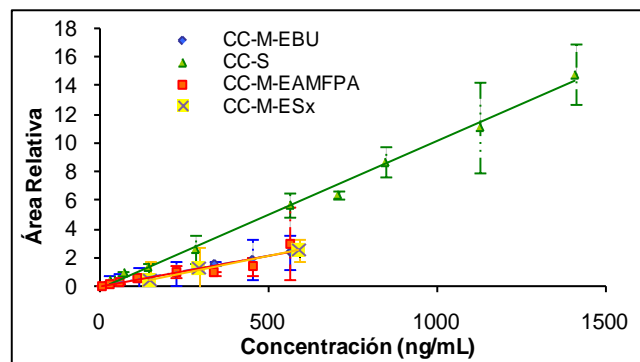


Figura C-10. Curvas de método y de calibración del antraceno.

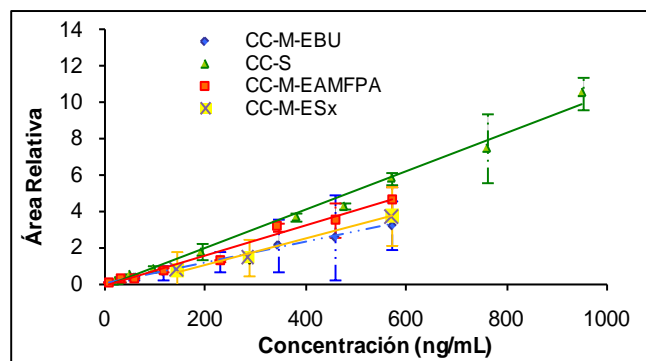


Figura C-11. Curvas de método y de calibración del fluoranteno.

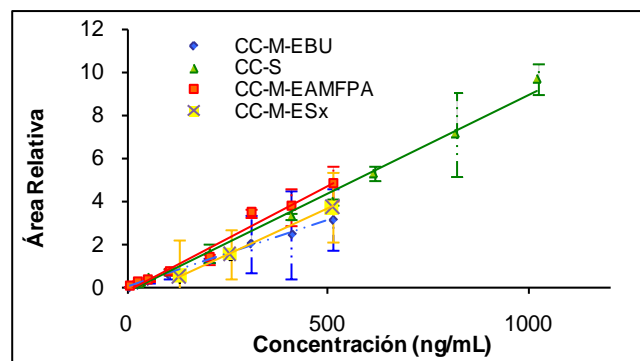


Figura C-12. Curvas de método y de calibración del pireno.

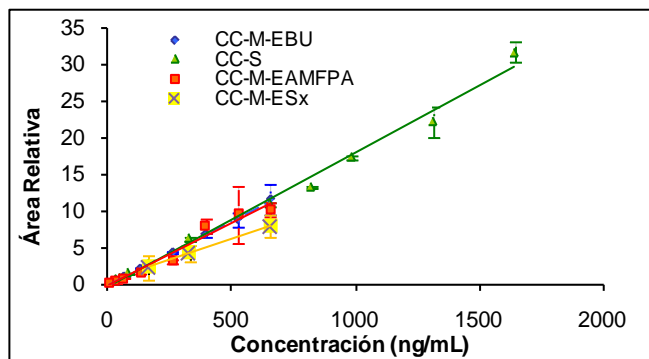


Figura C-13. Curvas de método y de calibración del benzo[a]antraceno.

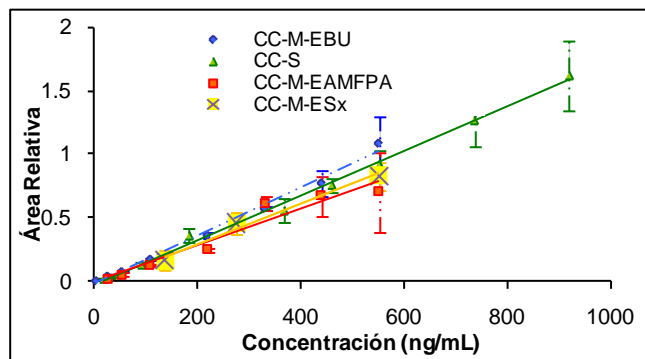


Figura C-14. Curvas de método y de calibración del benzo[k]fluoranteno.

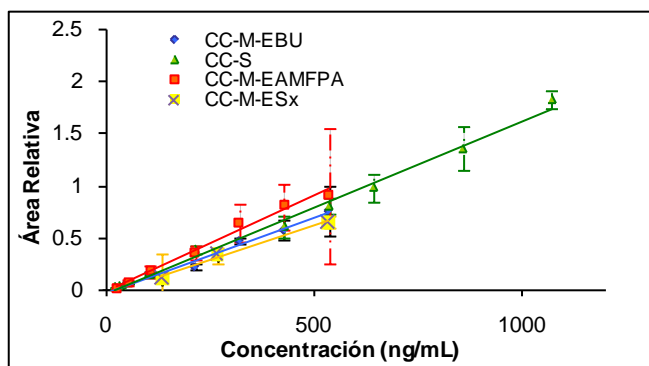


Figura C-15. Curvas de método y de calibración del benzo[a]pireno.

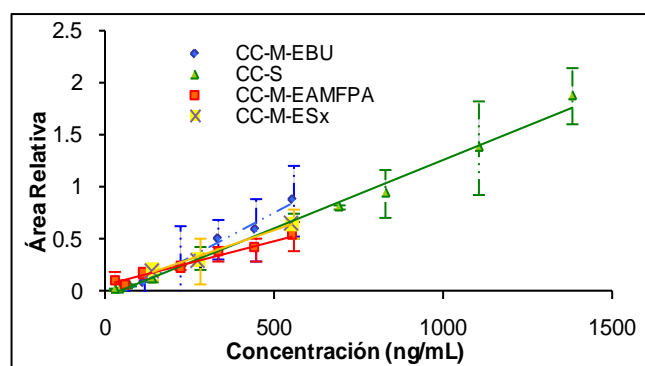


Figura C-16. Curvas de método y de calibración del dibenzo[a,h]antraceno.

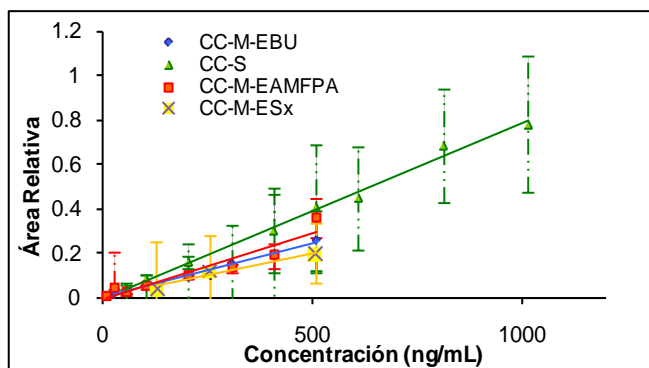


Figura C-17. Curvas de método y de calibración del lindano.

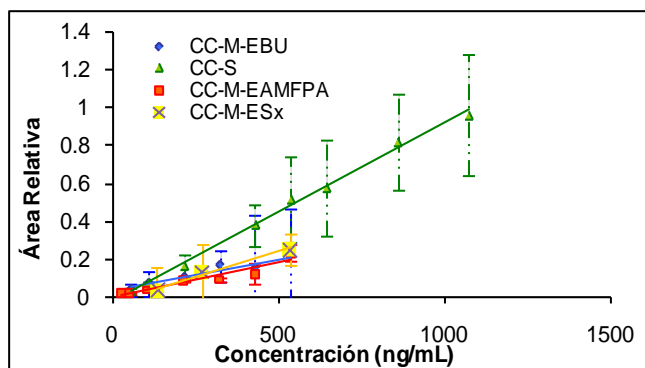


Figura C-18. Curvas de método y de calibración del Heptacloro.

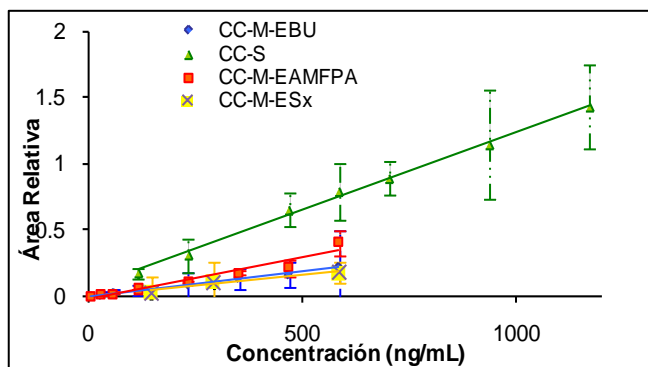


Figura C-19. Curvas de método y de calibración del aldrin.

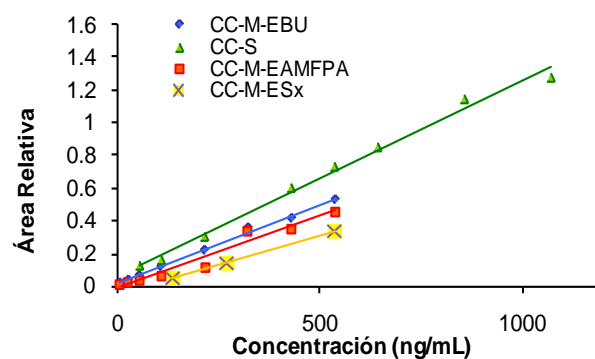


Figura C-20. Curvas de método y de calibración del dieldrín.

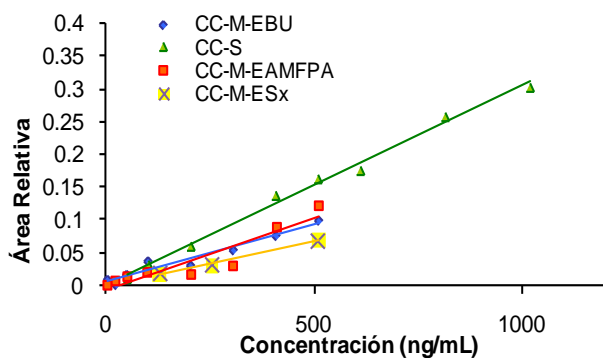


Figura C-21. Curvas de método y de calibración del endrín.

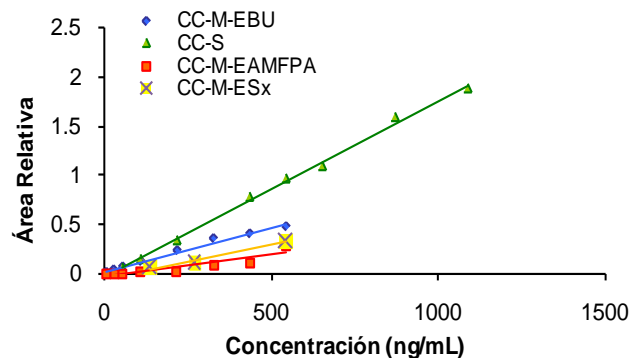


Figura C-22. Curvas de método y de calibración del mirex.

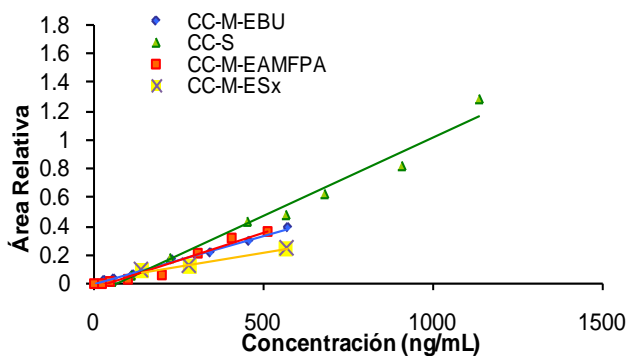


Figura C-23. Curvas de método y de calibración del metoxicloro.

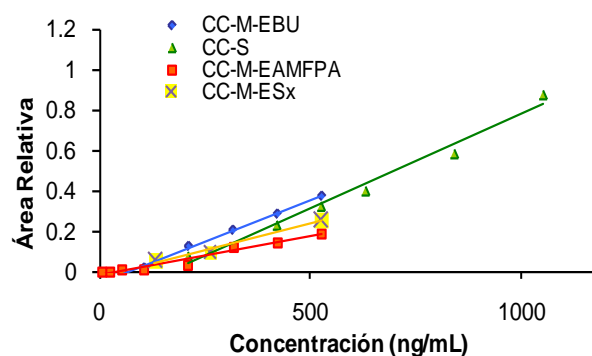


Figura C-24. Curvas de método y de calibración del DDT.

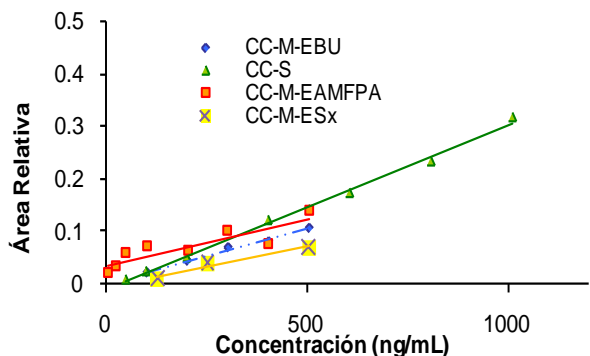


Figura C-25. Curvas de método y de calibración del metilparation.

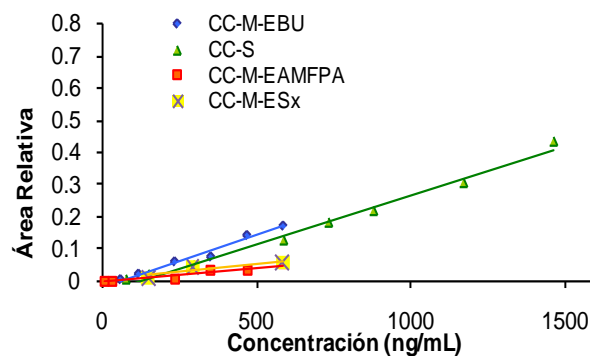


Figura C-26. Curvas de método y de calibración del paration.

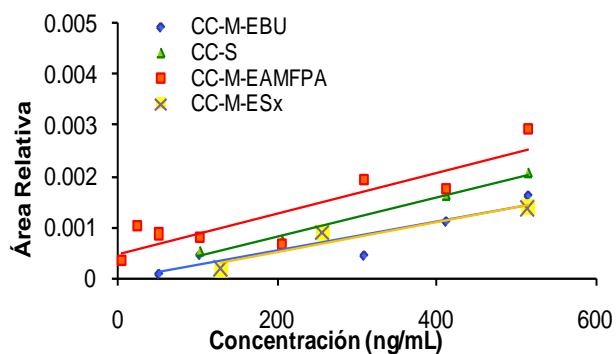


Figura C-27. Curvas de método y de calibración de la fosalona.

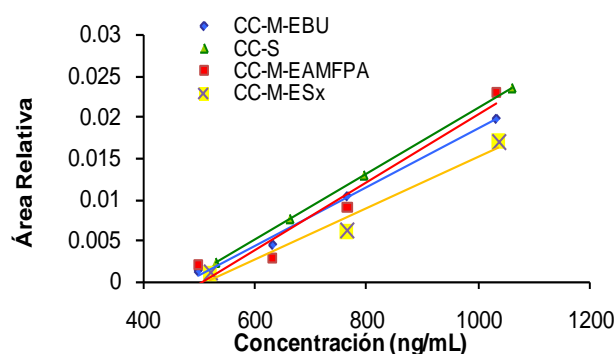


Figura C-28. Curvas de método y de calibración de la metilazinfos.

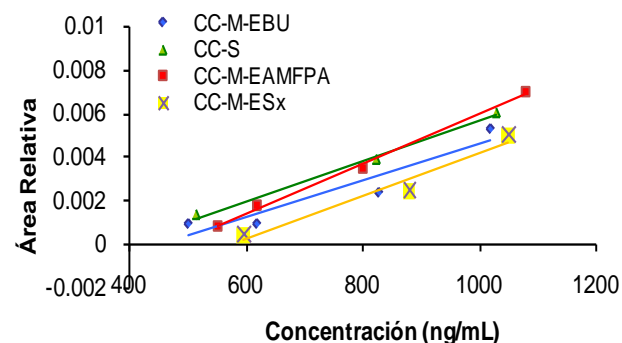


Figura C-29. Curvas de método y de calibración de la cumafos.

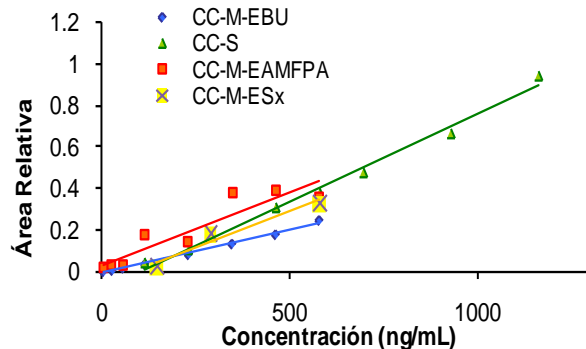


Figura C-30. Curvas de método y de calibración de la permetrina.

D Ecuaciones para la evaluación de la linealidad y parámetros de estadística descriptiva.

- **Ecuación de la línea recta**

$$y = b + mx$$

y = Variable dependiente; x = variable independiente; b = ordenada al origen; m = pendiente.

- **Pendiente**

$$m = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

\bar{x} = media de los valores de x \bar{y} = media de los valores de y

- **Ordenada al origen**

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

- **Coefficiente de correlación**

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right]}$$

- **Estadístico $S_{y/x}$ (estimador de errores aleatorios en la dirección y)**

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

\hat{y}_i = Valor de y ajustado por la recta de regresión para un determinado valor de x .

- **Desviación estándar de la pendiente**

$$S_m = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

- **Desviación estándar de la ordenada al origen**

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

- **Intervalo de confianza para la pendiente**

$$IC(m) = m \pm (t_{0.95, n-2})(S_m)$$

- **Intervalo de confianza para la ordenada al origen**

$$IC(b) = b \pm (t_{0.95, n-2})(S_b)$$

- **Residuos de y**

$$R_{y_i} = y_i - \hat{y}_i$$

- **Media aritmética (promedio)**

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n}$$

- **Desviación estándar**

$$s = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

- **Desviación estándar relativa (DER)**

$$DER = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

- **Intervalo de confianza de la media de muestras pequeñas**

$$\bar{x} \pm t_{n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$$

E Pruebas estadísticas para la evaluación de la homoscedasticidad.

Prueba de F para comparar varianzas de dos muestras

$H_0: = S^2_1 = S^2_2$. S : desviación estándar; S^2 : varianza; H_0 : hipótesis nula.

• **Estadístico F**

$$F = \frac{S^2_1}{S^2_2}$$

Las varianzas se deben dividir de tal manera que F siempre sea ≥ 1 .

• **Valor crítico para F y criterio de rechazo de H_0**

- Se toma el valor de F con n_1-1 y n_2-2 grados de libertad para el numerador y denominador respectivamente. (n : número de observaciones). $\alpha=0.05$, 95% de confianza.
- Si el valor de F es mayor a $F_{critica}$ se rechaza H_0 ; visto de otra manera, al calcular la probabilidad con el estadístico de F , si la probabilidad es menor a 0.05 se rechaza H_0 .

Prueba de Levene para comparar varianzas de más de dos muestras

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 \dots \bar{X}_n$$

• **Estadístico F**

- La diferencia absoluta entre cada valor y la media de su grupo está dada por: $D_{ij} = |X_{ij} - \bar{X}_j|$; donde X_{ij} es el valor puntual i perteneciente al grupo j y \bar{X}_j es la media del grupo j .
- La media de las diferencias de cada grupo se calcula mediante: $\bar{D}_j = \frac{\sum D_{ij}}{n_j}$; donde n_j es el tamaño del grupo j .
- La media total de todas las diferencias se determina: $\bar{D}_t = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k D_{ij}}{N}$; donde $\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k D_{ij}$ es la suma de los valores puntuales D_{ij} de todos sujetos, N el número total de sujetos y k el número de grupos.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (g.l.)	Media de los cuadrados (MC)	F
Entre grupos	$SC_{inter} = \sum_{j=1}^k n_j (\bar{D}_j - \bar{D}_t)^2$	$g.l._{inter} = k - 1$	$MC_{inter} = \frac{SC_{inter}}{g.l._{inter}}$	$F = \frac{MC_{inter}}{MC_{intra}}$
Dentro de los grupos	$SC_{intra} = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k (D_{ij} - \bar{D}_j)^2$	$g.l._{intra} = \sum_{j=1}^k (n_j - 1)$	$MC_{intra} = \frac{SC_{intra}}{g.l._{intra}}$	
Total	$\bar{D}_t = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^k D_{ij}}{N}$			

• **Valor crítico para F y criterio de rechazo de H_0**

- Se toma el valor de F con $g.l._{inter}$ y $g.l._{intra}$ para el numerador y denominador respectivamente. $\alpha=0.05$, 95% de confianza.
- Si el valor de F es mayor a $F_{critica}$ se rechaza H_0 ; visto de otra manera al calcular la probabilidad con el estadístico de F , si la probabilidad es menor a 0.05 se rechaza H_0 .

F Pruebas estadísticas para comparar medias.

Prueba de t para comparar dos medias suponiendo varianzas homoscedásticas

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2$$

- **Estadístico t**

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde la desviación estándar **S** está dada por:

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

- **Valor crítico para t y criterio de rechazo de H_0 .**

- Se toma el valor de **t** con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad, a dos colas y con $\alpha=0.05$.
- Si el valor absoluto de **t** calculado es mayor a $t_{critica}$ se rechaza H_0 .

Prueba de t para comparar dos medias suponiendo varianzas no homoscedásticas

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2$$

- **Estadístico t**

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

Los grados de libertad se calculan redondeando a un número entero el valor obtenido mediante la siguiente ecuación:

$$g.l. = \frac{\left(\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{S_1^4}{n_1^2(n_1 - 1)} + \frac{S_2^4}{n_2^2(n_2 - 1)}\right)}$$

- **Valor crítico para t y criterio de rechazo de H_0 .**

- Se toma el valor de **t** con g.l. calculados, a dos colas y con $\alpha=0.05$.
- Si el valor absoluto de **t** calculado es mayor a $t_{critica}$ se rechaza H_0 .

Análisis de varianza (ANOVA) para comparar más de dos medias

$$H_0 = \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 \dots \bar{X}_i$$

• **Estadístico F**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (g.l.)	Media de los cuadrados (MC)	F
Entre grupos	$SC_{inter} = \sum_{i=1} \frac{T_i^2}{n} - \frac{T^2}{N}$	$g.l._{inter} = h - 1$	$MC_{inter} = \frac{SC_{inter}}{g.l._{inter}}$	$F = \frac{MC_{inter}}{MC_{intra}}$
Dentro de los grupos	$SC_{intra} = SC_{Total} - SC_{inter}$	$g.l._{intra} = N - h$	$MC_{intra} = \frac{SC_{intra}}{g.l._{intra}}$	
Total	$SC_{Total} = \sum_{i=1} \sum_{j=1} X_{ij}^2 - \frac{T^2}{N}$	$g.l._{intra} = N - 1$		

Donde: **N**: número total de mediciones; **h**: número de muestras; **n**: número de mediciones por muestra; **T**: suma de todas las mediciones; **T_i**: suma de las mediciones en la muestra **i**; $\sum_{i=1} \sum_{j=1} X_{ij}^2$: suma del cuadrado de cada medición **j** en la muestra **i**.

• **Valor crítico para F y criterio de rechazo de H₀**

- Se toma el valor de **F** con **g.l._{inter}** y **g.l._{intra}** para el numerador y denominador respectivamente. α=0.05, 95% de confianza.
- Si el valor de **F** es mayor a **F_{crítica}** se rechaza **H₀**; visto de otra manera al calcular la probabilidad con el estadístico de **F**, si la probabilidad es menor a 0.05 se rechaza **H₀**.

Prueba de diferencia mínima significativa (LSD)

Esta prueba se emplea para determinar qué medias son las que difieren cuando ANOVA demuestra que existe diferencia significativa entre las medias. Para su cálculo se toman algunos parámetros determinados en la prueba de ANOVA.

$$LSD = S_{\bar{d}} \cdot t_{g.l._{intra}, \alpha=0.05, \text{ dos colas.}}$$

$$S_{\bar{d}} = \sqrt{\frac{2 \cdot MC_{intra}}{r}} \text{ donde r: es el número de repeticiones.}$$

Si la diferencia absoluta entre dos medias es mayor al valor de LSD, se establece que existe una diferencia estadísticamente significativa ente dichas medias.

G Resultados de las pruebas estadísticas para la comparación de medias en la evaluación de las técnicas de extracción.

Éste anexo contiene los resultados de las pruebas ANOVA, estadístico de Levene y prueba de LSD para cada uno de los analitos excepto para la fosfalona y el metil-paratión en los cuales solo se realizó prueba de F y de t de student al tenerse solo dos grupos de datos. Contiene también parámetros de estadística descriptiva. Pruebas realizadas con $\alpha=0.05$ y dos colas en el caso de la prueba de t. Los datos analizados son áreas relativas.

Indeno							Naftaleno						
Homogeneidad de las varianzas							Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad					Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.131988		0.877606					1.28611		0.311842				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.							RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA							CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F	Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0753872	2	0.0376936	6.54	0.012	3.885293835	Entre grupos	0.0051201	2	0.0025601	2.38	0.1345	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0691781	12	0.00576484				Dentro de los grupos	0.0128959	12	0.00107466			
Total	0.144565	14					Total	0.0180161	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.							RESULTADO: Medias estadísticamente iguales.						
Prueba LSD							Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO		Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.501506	1-2	0.104627	-0.012341	No hay diferencia significativa		Extracción Soxhlet (#3)	0.141919	1-2	0.0451737	0.0161447	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.645342	1-3	0.104627	0.143836	Si hay diferencia significativa		EBU (#2)	0.17046	1-3	0.0451737	0.0446862	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.657683	2-3	0.104627	0.156177	Si hay diferencia significativa		EAMFPA (#1)	0.186605	2-3	0.0451737	0.0285415	No hay diferencia significativa	

Bifenilo							Acenaftileno						
Homogeneidad de las varianzas							Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad					Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.235188		0.793981					1.60895		0.240413				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.							RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA							CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F	Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00376195	2	0.00188097	1.16	0.3452	3.885293835	Entre grupos	0.00096301	2	0.000481504	11.19	0.0018	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0193987	12	0.00161656				Dentro de los grupos	0.00051616	12	4.30E-05			
Total	0.0231606	14					Total	0.00147917	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales.							RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD							Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO		Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.160414	1-2	0.0554047	0.038221	No hay diferencia significativa		Extracción Soxhlet (#3)	0.0164262	1-2	0.00903759	0.00886446	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.185265	1-3	0.0554047	0.0135702	No hay diferencia significativa		EBU (#2)	0.0271587	1-3	0.00903759	0.0195969	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.198635	2-3	0.0554047	-0.0248508	No hay diferencia significativa		EAMFPA (#1)	0.0360232	2-3	0.00903759	0.0107325	Si hay diferencia significativa	

Acenafteno							Dibenzofurano						
Homogeneidad de las varianzas							Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad					Estadístico de Levene		Probabilidad				
1.78673		0.209303					0.12784		0.881177				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.							RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA							CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F	Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0142563	2	0.00712815	30.21	0	3.885293835	Entre grupos	0.00036841	2	0.000184205	99.53	0	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00283127	12	0.000235939				Dentro de los grupos	2.22E-05	12	1.85E-06			
Total	0.0170876	14					Total	0.00039062	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.							RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD							Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO		Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0222746	1-2	0.0211666	0.0124105	No hay diferencia significativa		Extracción Soxhlet (#3)	0.00484355	1-2	0.00187467	0.000515007	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0805781	1-3	0.0211666	0.070714	Si hay diferencia significativa		EBU (#2)	0.0150896	1-3	0.00187467	0.010761	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0929886	2-3	0.0211666	0.0583035	Si hay diferencia significativa		EAMFPA (#1)	0.0156046	2-3	0.00187467	0.010246	Si hay diferencia significativa	

Fluoreno							Dibenzotiofeno						
Homogeneidad de las varianzas							Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad					Estadístico de Levene		Probabilidad				
2.30017		0.142688					1.28023		0.313356				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.							RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA							CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F	Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0330975	2	0.0165487	37.23	0	3.885293835	Entre grupos	0.00646463	2	0.00323231	2.91	0.0935	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00533345	12	0.000444455				Dentro de los grupos	0.013349	12	0.00111241			
Total	0.0384309	14					Total	0.0198136	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.							RESULTADO: Medias estadísticamente iguales.						
Prueba LSD							Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO		Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0525307	1-2	0.0290512	0.00718064	No hay diferencia significativa		EBU (#2)	0.147928	1-2	0.0459604	0.0210714	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.148392	1-3	0.0290512	0.103042	Si hay diferencia significativa		EAMFPA (#1)	0.169	1-3	0.0459604	-0.029544	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.155572	2-3	0.0290512	0.095861	Si hay diferencia significativa		Extracción Soxhlet (#3)	0.198544	2-3	0.0459604	-0.0506154	Si hay diferencia significativa	

Fenantreno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.0198243	0.980403					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00390441	2	0.0019522	0.46	0.6433	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0511803	12	0.00426503			
Total	0.0550847	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.240449	1 - 2	0.0899936	0.0107633	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.267998	1 - 3	0.0899936	0.0383124	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.278762	2 - 3	0.0899936	0.0275491	No hay diferencia significativa	

Antraceno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
1.35461	0.294815					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.107557	2	0.0537784	14.73	0.0006	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0438017	12	0.00365024			
Total	0.151359	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.124875	1 - 2	0.0832541	-0.00819261	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.300268	1 - 3	0.0832541	0.175394	Si hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.308461	2 - 3	0.0832541	0.183586	Si hay diferencia significativa	

Fluoranteno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
3.06151	0.0842761					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00726043	2	0.00363021	1.63	0.2358	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0266657	12	0.00222215			
Total	0.0339262	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.332324	1 - 2	0.0649587	0.000943251	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.378516	1 - 3	0.0649587	0.0471349	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.379459	2 - 3	0.0649587	0.0461916	No hay diferencia significativa	

Pireno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
1.11279	0.360302					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00352152	2	0.00176076	0.64	0.5423	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0328024	12	0.00273353			
Total	0.0363239	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.337461	1 - 2	0.0720465	0.0371521	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.351428	1 - 3	0.0720465	0.0231853	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.374613	2 - 3	0.0720465	-0.0139668	No hay diferencia significativa	

Benzo[a]antraceno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.839784	0.455673					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.879537	2	0.439768	7.42	0.006	3.885293835
Dentro de los grupos	0.711384	12	0.059282			
Total	1.59092	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.838612	1 - 2	0.335515	0.0694738	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.908086	1 - 3	0.335515	-0.475401	Si hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	1.38349	2 - 3	0.335515	-0.544875	Si hay diferencia significativa	

Benzo[k]fluoranteno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.527587	0.603103					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0065311	2	0.00326555	6.31	0.0134	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00620982	12	0.000517485			
Total	0.0127409	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.17091	1 - 2	0.0313473	0.0226151	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.193526	1 - 3	0.0313473	-0.0283881	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.221914	2 - 3	0.0313473	-0.0510033	Si hay diferencia significativa	

Benzo[a]pireno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.298899	0.746998					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00195775	2	0.000978877	0.57	0.5812	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0206814	12	0.00172345			
Total	0.0226391	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.204036	1 - 2	0.0572071	0.0257005	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.207298	1 - 3	0.0572071	0.0224387	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.229737	2 - 3	0.0572071	-0.00326184	No hay diferencia significativa	

Dibenzo[a,h]antraceno

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.615713	0.556478					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	9.12E-05	2	4.56E-05	0.05	0.953	3.885293835
Dentro de los grupos	0.011317	12	0.000943083			
Total	0.0114082	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.255311	1 - 2	0.0423181	0.0060361	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.258509	1 - 3	0.0423181	0.00283904	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.261348	2 - 3	0.0423181	-0.00319706	No hay diferencia significativa	

Lindano

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.578825	0.575463					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00014761	2	0.000073804	2.01	0.1761	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00043977	12	3.66E-05			
Total	0.00058737	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0248851	1 - 2	0.00834201	7.85E-05	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0315	1 - 3	0.00834201	0.00669338	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0315785	2 - 3	0.00834201	0.00661493	No hay diferencia significativa	

Heptacloro

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.719535	0.506842					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00029398	2	0.000146991	4.3	0.0391	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00039632	12	3.30E-05			
Total	0.0006903	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0212353	1 - 2	0.00791919	0.00388833	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0278851	1 - 3	0.00791919	0.0105381	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0317734	2 - 3	0.00791919	0.00664975	No hay diferencia significativa	

Aldrin

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.371915		0.697088				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00085357	2	0.000426785	36.02	0	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00014217	12	1.18E-05			
Total	0.00099573	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0210615	1 - 2	0.00474303	0.000161441	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0369824	1 - 3	0.00474303	0.0160823	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0371438	2 - 3	0.00474303	0.0159209	Si hay diferencia significativa	

Dieldrin

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
1.79201		0.208326				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00030957	2	0.000154786	4.33	0.0383	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00042864	12	3.57E-05			
Total	0.00073822	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0425945	1 - 2	0.00823583	0.00310421	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0502969	1 - 3	0.00823583	0.0108066	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0534011	2 - 3	0.00823583	0.00770235	No hay diferencia significativa	

Endrin

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
1.86531		0.197067				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0004879	2	0.000243947	30.66	0	3.885293835
Dentro de los grupos	9.55E-05	12	7.96E-06			
Total	0.00058336	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.00587982	1 - 2	0.0038867	0.0111989	Si hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0075127	1 - 3	0.0038867	0.0128318	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0187116	2 - 3	0.0038867	0.00163288	No hay diferencia significativa	

Metoxicloro

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.987039		0.401004				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00219683	2	0.00109841	1.14	0.3525	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0115729	12	0.0009641			
Total	0.0137698	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.200292	1 - 2	0.0427939	0.0139237	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.215993	1 - 3	0.0427939	0.0296256	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.229917	2 - 3	0.0427939	0.0157019	No hay diferencia significativa	

Mirex

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
1.18393		0.339419				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0009711	2	0.000485556	3.44	0.0650	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00171977	12	0.000143314			
Total	0.00276888	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0859229	1 - 2	0.0164966	0.00414478	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.100351	1 - 3	0.0164966	0.0189024	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.104495	2 - 3	0.0164966	0.0147576	No hay diferencia significativa	

Endosulfan

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.0137606		0.986349				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6.23E-06	2	3.11E-06	1.52	0.2577	3.885293835
Dentro de los grupos	2.46E-05	12	2.05E-06			
Total	3.08E-05	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.00491134	1 - 2	0.00197128	0.0003387	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.00607682	1 - 3	0.00197128	0.00150418	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.00641552	2 - 3	0.00197128	0.00116548	No hay diferencia significativa	

DDT

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.56456		0.583007				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.39E-05	2	0.000036962	0.16	0.8525	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00274213	12	0.000228511			
Total	0.00281606	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EAMFPA (#1)	0.148697	1 - 2	0.0208307	-0.00131782	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.150015	1 - 3	0.0208307	-0.00522779	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.153925	2 - 3	0.0208307	-0.00390998	No hay diferencia significativa	

Malation

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.159831		0.854072				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0002815	2	0.00014075	9.43	0.0035	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00017907	12	1.49E-05			
Total	0.00046057	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EAMFPA (#1)	0.0177472	1 - 2	0.00532312	-0.00396851	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0217157	1 - 3	0.00532312	-0.010507	Si hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0282543	2 - 3	0.00532312	-0.00653854	Si hay diferencia significativa	

Paration

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.804696		0.469954				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5.08E-06	2	2.54E-06	0.08	0.9233	3.885293835
Dentro de los grupos	0.00037927	12	0.000031606			
Total	0.00038433	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0256278	1 - 2	0.00774704	-0.000490491	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0265412	1 - 3	0.00774704	0.000913424	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.0270317	2 - 3	0.00774704	0.00140392	No hay diferencia significativa	

Metil-azinfos

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene		Probabilidad				
0.613269		0.577713				
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5.05E-06	2	2.53E-06	12.9	0.001	3.885293835
Dentro de los grupos	2.35E-06	12	1.96E-07			
Total	7.40E-06	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente diferentes. Ver prueba LSD para determinar que medias son diferentes.						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.00246627	1 - 2	0.000609662	-0.00115297	Si hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.00260978	1 - 3	0.000609662	0.000143506	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.00376275	2 - 3	0.000609662	0.00129648	Si hay diferencia significativa	

Cumafos

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
0.337481	0.720124					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2.29E-05	2	1.14E-05	1.51	0.2611	3.885293835
Dentro de los grupos	9.11E-05	12	7.59E-06			
Total	0.00011397	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
EBU (#2)	0.0127696	1 - 2	0.00379714	0.00300084	No hay diferencia significativa	
Extracción Soxhlet (#3)	0.0139495	1 - 3	0.00379714	0.00182102	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.0157705	2 - 3	0.00379714	-0.00117981	No hay diferencia significativa	

Permetrina

Homogeneidad de las varianzas						
Estadístico de Levene	Probabilidad					
1.17345	0.342405					
RESULTADO: Varianzas estadísticamente iguales. Es válido realizar ANOVA.						
CUADRO ANOVA						
Origen de las variaciones	SC	g.l.	MC	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00248172	2	0.00124086	1.02	0.3913	3.885293835
Dentro de los grupos	0.0146598	12	0.00122165			
Total	0.0171415	14				
RESULTADO: Medias estadísticamente iguales						
Prueba LSD						
Método	Media	Contraste	Límites (±)	Diferencia	RESULTADO	
Extracción Soxhlet (#3)	0.22387	1 - 2	0.0481642	0.0217462	No hay diferencia significativa	
EBU (#2)	0.232741	1 - 3	0.0481642	0.0306175	No hay diferencia significativa	
EAMFPA (#1)	0.254487	2 - 3	0.0481642	0.0087132	No hay diferencia significativa	

Metil-paratión

Prueba de F	
F	Probabilidad
2.52	0.16
Resultado: Varianzas no homoscedásticas.	
Prueba de T	
Estadístico de T	Valor crítico de T
1.45	2.44
Resultado: Medias estadísticamente iguales	

Fosalona

Prueba de F	
F	Probabilidad
2.52	0.019
Resultado: Varianzas homoscedásticas.	
Prueba de T	
Estadístico de T	Valor crítico de T
2.75	2.30
Resultado: Medias estadísticamente diferentes	

Se comparo únicamente la EBU con la extracción Soxhlet

Se comparo únicamente la EBU con la extracción Soxhlet

Parámetros de estadística descriptiva

Indeno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.645	0.075	11.6%
EBU	5	0.658	0.079	12.0%
Extracción Soxhlet	5	0.502	0.074	14.8%

Naftaleno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.187	0.041	22.04%
EBU	5	0.170	0.036	21.30%
Extracción Soxhlet	5	0.142	0.015	10.33%

Bifenilo

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.199	0.033	16.40%
EBU	5	0.160	0.033	20.84%
Extracción Soxhlet	5	0.185	0.052	27.89%

Acenafileno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.036	0.009	26.02%
EBU	5	0.027	0.005	17.68%
Extracción Soxhlet	5	0.016	0.004	25.94%

Acenafeno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.093	0.022	24.02%
EBU	5	0.081	0.013	16.69%
Extracción Soxhlet	5	0.022	0.005	23.72%

Dibenzofurano

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.016	0.002	11.32%
EBU	5	0.015	0.001	8.33%
Extracción Soxhlet	5	0.005	0.001	19.08%

Fluoreno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.156	0.029	18.95%
EBU	5	0.148	0.019	13.09%
Extracción Soxhlet	5	0.053	0.009	17.73%

Dibenzotiofeno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.169	0.031	18.52%
EBU	5	0.148	0.009	6.41%
Extracción Soxhlet	5	0.199	0.048	23.99%

Fenantreno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.279	0.072	25.76%
EBU	5	0.268	0.059	21.86%
Extracción Soxhlet	5	0.240	0.065	26.97%

Antraceno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.300	0.071	23.73%
EBU	5	0.308	0.075	24.35%
Extracción Soxhlet	5	0.125	0.015	12.15%

Fluoranteno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar
EAMFPA	5	0.379	0.012	3.17%
EBU	5	0.379	0.061	16.15%
Extracción Soxhlet	5	0.332	0.053	15.88%

Pireno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar
EAMFPA	5	0.375	0.024	6.27%
EBU	5	0.337	0.045	13.47%
Extracción Soxhlet	5	0.351	0.075	21.26%

Benzo[a]antraceno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.908	0.197	21.68%
EBU	5	0.839	0.177	21.15%
Extracción Soxhlet	5	1.383	0.328	23.71%

Benzo[k]fluoranteno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.194	0.012	6.08%
EBU	5	0.171	0.023	13.20%
Extracción Soxhlet	5	0.222	0.030	13.56%

Benzo[a]pireno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.230	0.030	13.27%
EBU	5	0.204	0.038	18.63%
Extracción Soxhlet	5	0.207	0.053	25.51%

Dibenzo[a,h]antraceno

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.261	0.031	12.00%
EBU	5	0.255	0.020	7.77%
Extracción Soxhlet	5	0.259	0.038	14.74%

Lindano

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar
EAMFPA	5	0.032	0.007	23.70%
EBU	5	0.032	0.005	14.36%
Extracción Soxhlet	5	0.025	0.006	23.24%

Heptacloro

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar
EAMFPA	5	0.032	0.007	23.40%
EBU	5	0.028	0.004	15.81%
Extracción Soxhlet	5	0.021	0.005	23.24%

Aldrín

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.037	0.004	11.31%
EBU	5	0.037	0.003	8.43%
Extracción Soxhlet	5	0.021	0.003	13.58%

Dieldrín

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.053	0.002	4.43%
EBU	5	0.050	0.007	13.42%
Extracción Soxhlet	5	0.043	0.007	17.57%

Endrín

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.019	0.004	23.40%
EBU	5	0.008	0.002	25.50%
Extracción Soxhlet	5	0.006	0.001	17.15%

Metoxicloro

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.230	0.038	16.70%
EBU	5	0.216	0.023	10.53%
Extracción Soxhlet	5	0.200	0.030	14.99%

Mirex

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.104	0.009	8.28%
EBU	5	0.100	0.011	10.94%
Extracción Soxhlet	5	0.086	0.015	17.89%

Endosulfan

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.006	0.001	21.41%
EBU	5	0.006	0.002	25.61%
Extracción Soxhlet	5	0.005	0.001	27.56%

DDT

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.149	0.011	7.67%
EBU	5	0.150	0.017	11.37%
Extracción Soxhlet	5	0.154	0.016	10.56%

Malatión

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.254	0.019	7.31%
EBU	5	0.233	0.044	18.69%
Extracción Soxhlet	5	0.224	0.038	16.87%

Paratión

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.027	0.007	26.99%
EBU	5	0.027	0.002	8.43%
Extracción Soxhlet	5	0.026	0.006	24.15%

Metil-azinfos

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.003	0.000	5.31%
EBU	5	0.004	0.001	16.97%
Extracción Soxhlet	5	0.002	0.000	16.24%

Cumafos

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.016	0.002	13.96%
EBU	5	0.013	0.003	23.83%
Extracción Soxhlet	5	0.014	0.003	21.11%

Permetrina

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	5	0.254	0.019	7.31%
EBU	5	0.233	0.044	18.69%
Extracción Soxhlet	5	0.224	0.038	16.87%

Metil-paratión

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	***	***	***	***
EBU	5	0.013	0.002	15.97%
Extracción Soxhlet	5	0.017	0.004	22.59%

Fosalona

Método	Observaciones	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
EAMFPA	***	***	***	***
EBU	5	0.004	0.001	25.66%
Extracción Soxhlet	5	0.003	0.001	25.81%

H Concentraciones de los analitos detectados en muestras de sedimento de la cuenca del río Lacantún.

Se indica como no detectado, *n.d.*. Cuando un analito es detectado pero su concentración se encuentra por debajo del límite de cuantificación (tabla 5.6.3) se muestra en las tablas como *DET*. La concentración de algunos de los analitos se calculó mediante las curvas de calibración empleadas para el cálculo del límite del LD y LC (sección 5.6) por encontrarse fuera de los rangos de concentración de las curvas instrumentales de la sección 5.2.

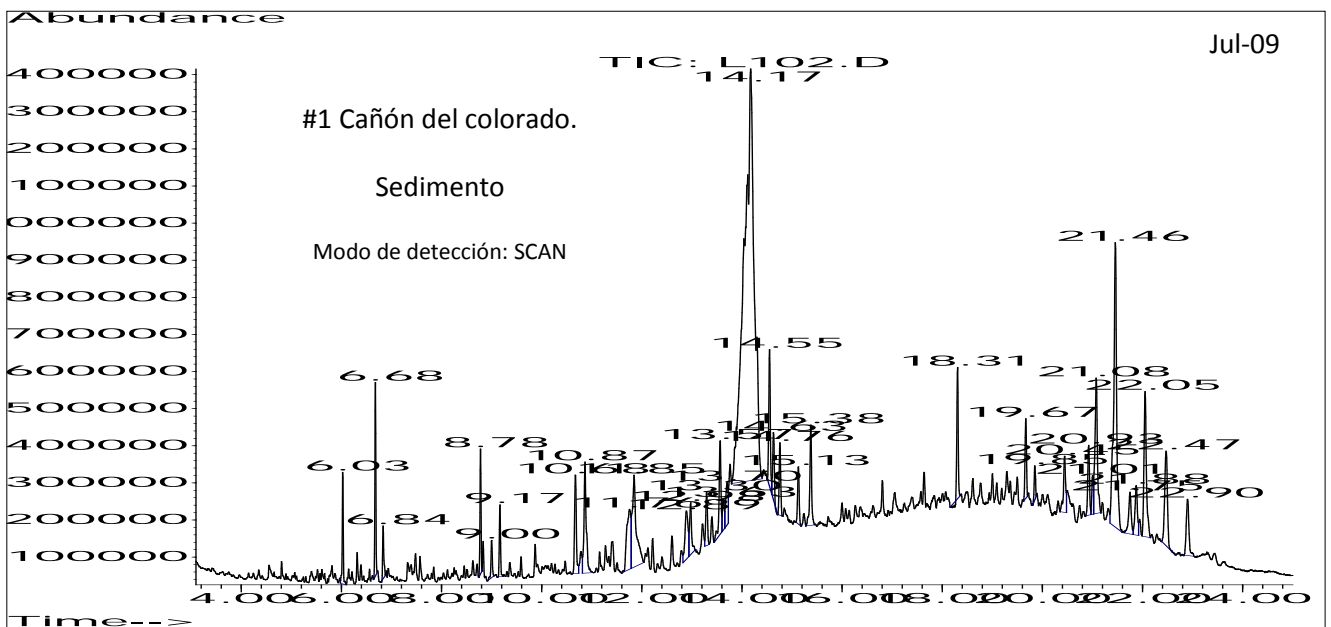
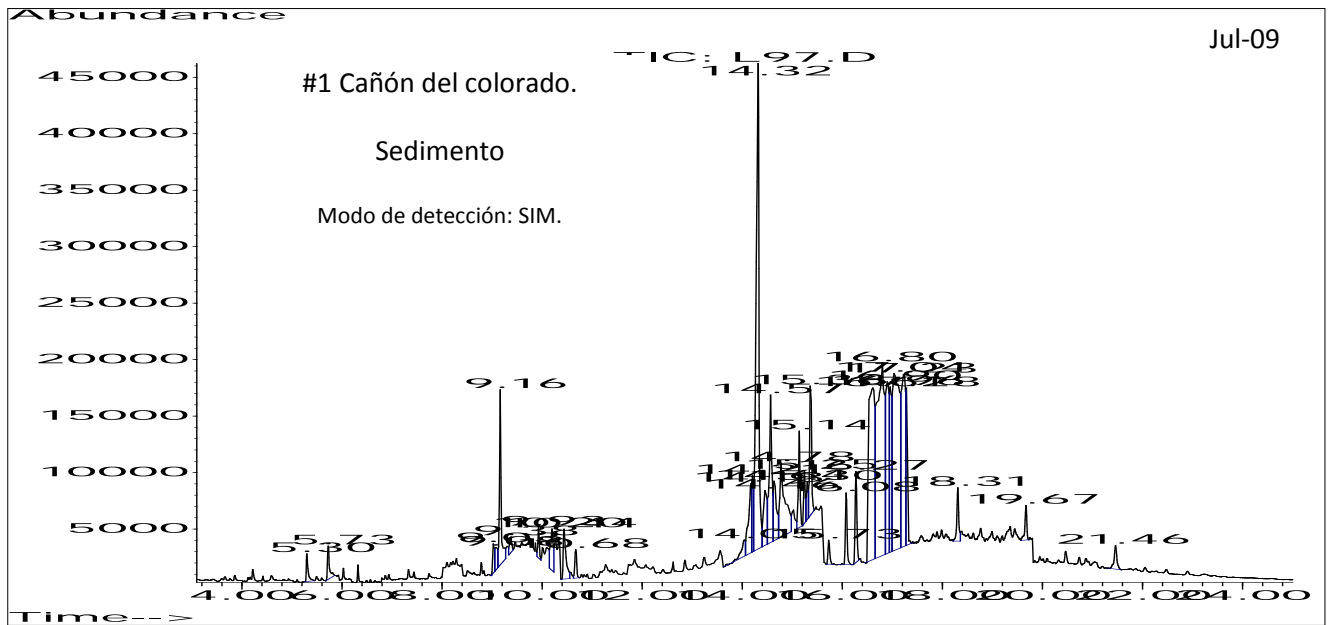
Sitio de muestreo	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)
#1 Cañón del Colorado	jul-09	Bifenilo Dibenzofurano Paratión	2.11 ± 0.2 0.98 ± 0.1 29.2 ± 1.4	ago-09	Indeno Naftaleno Paratión	28.2 ± 2.6 4.7 ± 1.6 35.1 ± 4.9
	oct-09	n.d.	***			
#2 Río Ixcan	nov-08	n.d.	***	dic-08	n.d.	***
	ene-09	n.d.	***	feb-09	n.d.	***
	mar-09	n.d.	***	may-09	Bifenilo	0.4 ± 0.09
	jul-09	Bifenilo	1.0 ± 0.2	ago-09	n.d.	***
		Dibenzofurano	0.6 ± 0.1	oct-09	Bifenilo	1.9 ± 0.3
		Fluoranteno	10.8 ± 2.6		Dibenzofurano	3.6 ± 0.4
Paratión	79.7 ± 10.1	Fenantreno	2.1 ± 0.3			
				Pireno	1.8 ± 0.2	
				Paratión	18.6 ± 4.2	
#3 Arroyo Puerto Rico	nov-08	Naftaleno	0.2 ± 0.05	dic-08	Naftaleno	DET
		Bifenilo	DET		Bifenilo	DET
		Fenantreno	DET		Fluoreno	DET
	ene-09	Naftaleno	DET	feb-09	Indeno	6.3 ± 0.3
		Bifenilo	DET		Bifenilo	0.7 ± 0.03
		Fluoreno	DET		Fluoreno	0.7 ± 0.1
	Dibenzotiofeno	1.1 ± 0.3	Dibenzotiofeno		3.4 ± 0.2	
	mar-09	Dibenzotiofeno	2.8 ± 0.3	may-09	Fenantreno	2.8 ± 0.3
		Fenantreno	2.3 ± 0.5		Fenantreno	0.3 ± 0.2
	jul-09	Naftaleno	0.8 ± 0.1		ago-09	Dieldín
Bifenilo		3.1 ± 1.0	oct-09	Indeno	6.6 ± 1.6	
Dibenzofurano		1.6 ± 0.5		Dibenzofurano	0.9 ± 0.2	
		Dieldín	28.6 ± 3.1			
#4 Arroyo San Pablo	nov-08	Indeno	40.2 ± 10.1	dic-08	n.d.	***
		Naftaleno	0.8 ± 0.2	ene-09	Indeno	82.6 ± 20.6
		Bifenilo	DET		Naftaleno	3.0 ± 0.8
		Dibenzofurano	DET		Bifenilo	0.5 ± 0.1
	feb-09	Indeno	3.2 ± 0.3	Dibenzotiofeno	1.0 ± 0.2	
		Dibenzotiofeno	2.3 ± 0.3	Fenantreno	DET	
	may-09	Fenantreno	2.8 ± 1.4	mar-09	Dibenzotiofeno	5.3 ± 2.1
		Naftaleno	0.4 ± 0.1		Fenantreno	5.0 ± 1.3
	ago-09	Fenantreno	0.8 ± 0.4	jul-09	Naftaleno	1.0 ± 0.5
		Indeno	7.1 ± 1.4		Bifenilo	2.4 ± 0.4
	Naftaleno	0.5 ± 0.3	Dibenzofurano		0.7 ± 0.4	
oct-09	Naftaleno	0.8 ± 0.2				
	Bifenilo	2.4 ± 0.6				
	Acenafteno	1.1 ± 0.3				
	Dibenzofurano	2.5 ± 0.2				
		Paratión	40.8 ± 4.1			

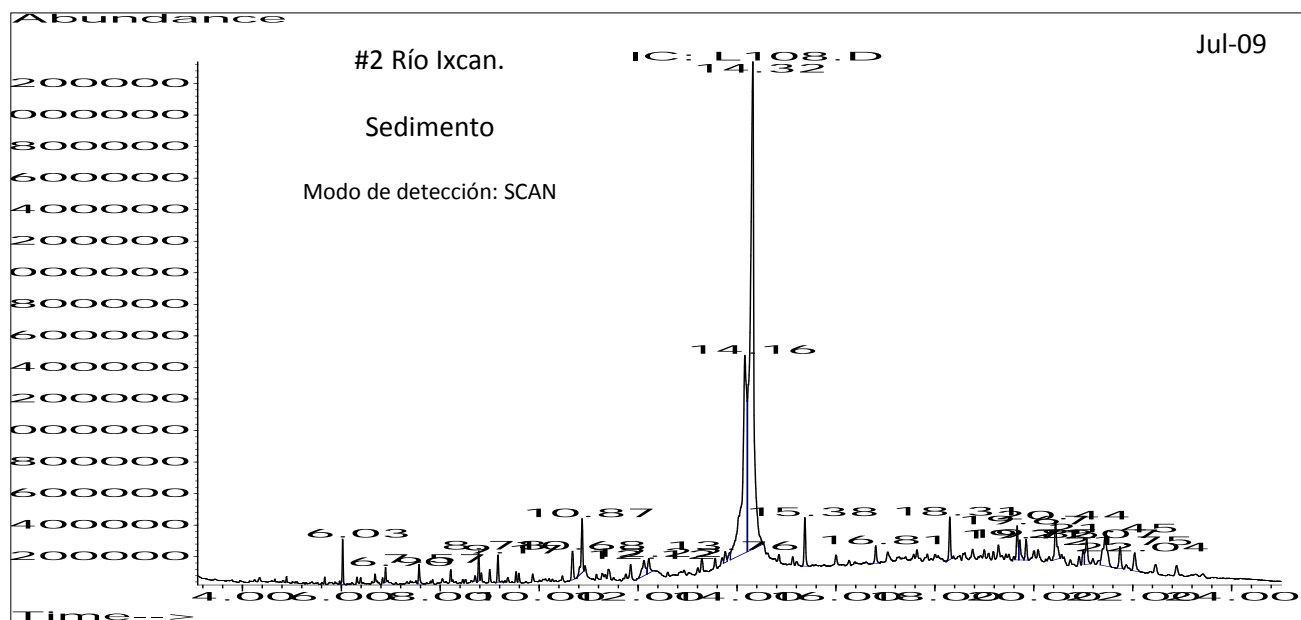
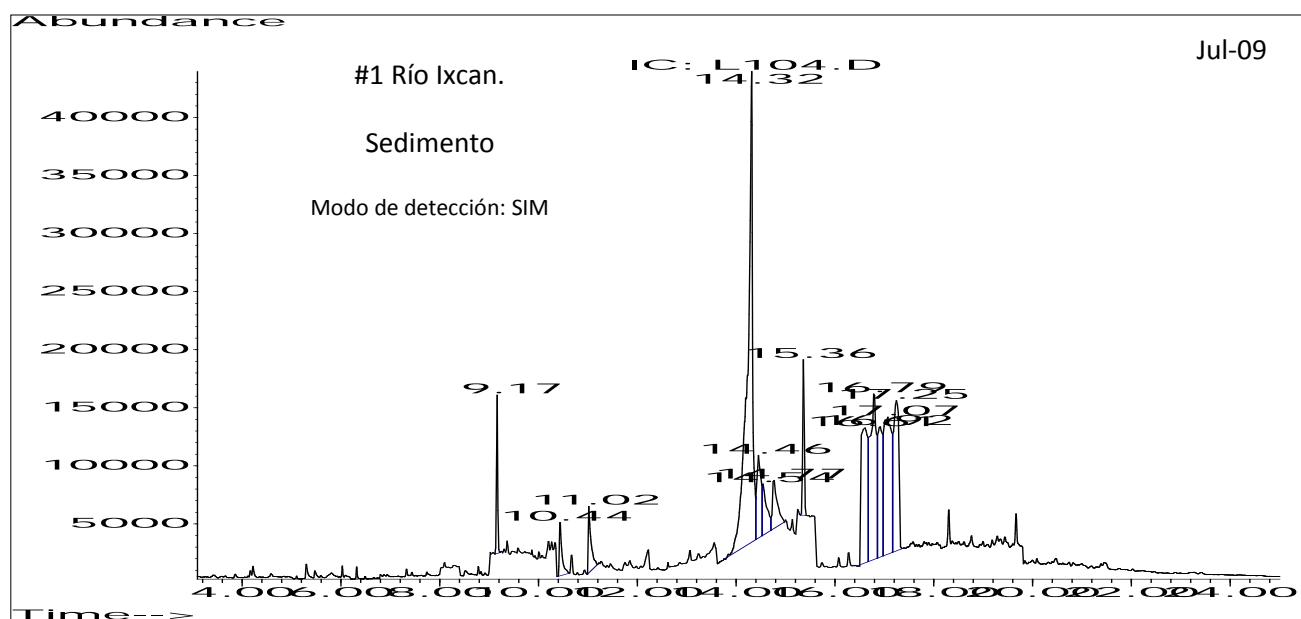
Sitio de muestreo	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)
#5 Río Chajul	nov-08	Indeno	34.9 ± 8.7	dic-08	n.d.	***
		Naftaleno	0.3 ± 0.1	ene-09	Dibenzotiofeno	0.4 ± 0.1
		Bifenilo	DET		Indeno	7.6 ± 0.2
		Dieldrín	DET		Naftaleno	1.3 ± 0.3
	mar-09	Dibenzotiofeno	2.4 ± 0.1	feb-09	Bifenilo	1.5 ± 0.1
		Fenantreno	2.1 ± 0.2		Fluoreno	1.1 ± 0.1
	may-09	Naftaleno	0.8 ± 0.2		Dibenzotiofeno	3.7 ± 0.2
		Naftaleno	1.1 ± 0.2		Fenantreno	3.8 ± 0.1
jul-09	Bifenilo	1.4 ± 0.3	ago-09	Indeno	9.4 ± 1.2	
	Dibenzofurano	0.4 ± 0.2		Naftaleno	0.7 ± 0.05	
oct-09	Bifenilo	2.9 ± 0.2				
	Dibenzofurano	1.3 ± 0.05				
#6 Arroyo José	nov-08	Indeno	12.2 ± 3.1	dic-08	Naftaleno	0.2 ± 0.1
		Naftaleno	2.0 ± 0.5		Bifenilo	DET
		Bifenilo	0.5 ± 0.1		Fluoreno	DET
		Acenafteno	DET		Dibenzotiofeno	0.4 ± 0.1
		Dieldrín	DET	feb-09	Indeno	6.2 ± 0.8
	Indeno	8.2 ± 2.0	Naftaleno		0.5 ± 0.2	
	Naftaleno	DET	Bifenilo		0.5 ± 0.1	
	ene-09	Bifenilo	0.2 ± 0.05	Dibenzotiofeno	2.1 ± 0.1	
		Fluoreno	0.9 ± 0.2	may-09	n.d.	***
		Naftaleno	1.0 ± 0.1	jul-09	Bifenilo	1.5 ± 0.6
mar-09	Bifenilo	1.3 ± 0.1	ago-09	Indeno	8.3 ± 1.7	
	Dibenzotiofeno	4.0 ± 0.3		Naftaleno	0.7 ± 0.3	
	Fenantreno	3.9 ± 0.4	oct-09	Naftaleno	1.6 ± 0.6	
		Bifenilo		4.6 ± 0.9		
			Dibenzofurano	2.4 ± 0.6		
#7 Arroyo Miranda	nov-08	Indeno	10.4 ± 2.6	dic-08	n.d.	***
		Naftaleno	DET	feb-09	Indeno	12.1 ± 0.6
		Bifenilo	DET		Naftaleno	0.9 ± 0.2
	Indeno	5.2 ± 1.3	Bifenilo		73.8 ± 0.1	
	Naftaleno	DET	Dibenzotiofeno		2.7 ± 0.1	
	ene-09	Bifenilo	DET	Fenantreno	2.2 ± 0.3	
		Dibenzotiofeno	0.3 ± 0.1	may-09	Bifenilo	1.3 ± 0.4
		Bifenilo	1.3 ± 0.2		Fluoranteno	12.2 ± 1.4
	mar-09	Dibenzotiofeno	4.4 ± 0.3	ago-09	n.d.	***
		Fenantreno	3.6 ± 0.3	oct-09	Naftaleno	1.9 ± 0.8
Naftaleno	3.9 ± 0.6	Bifenilo	7.8 ± 3.0			
Bifenilo	11.0 ± 3.7	Dibenzofurano	3.3 ± 1.2			
jul-09	Dibenzofurano	6.1 ± 1.5				

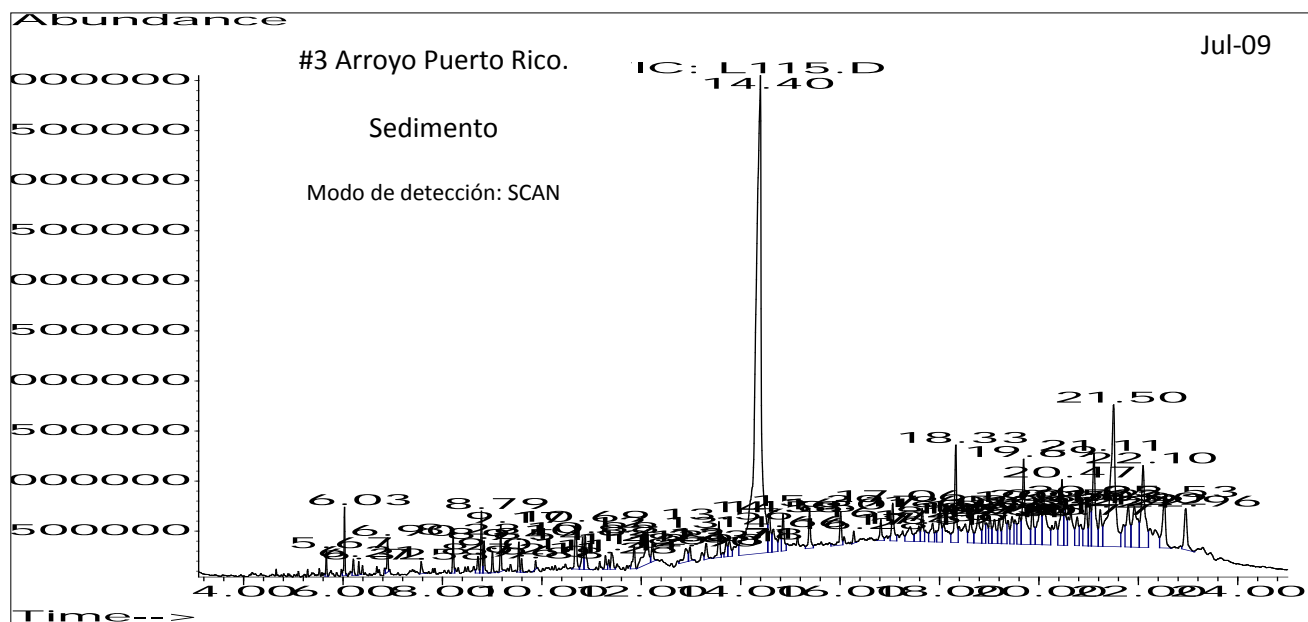
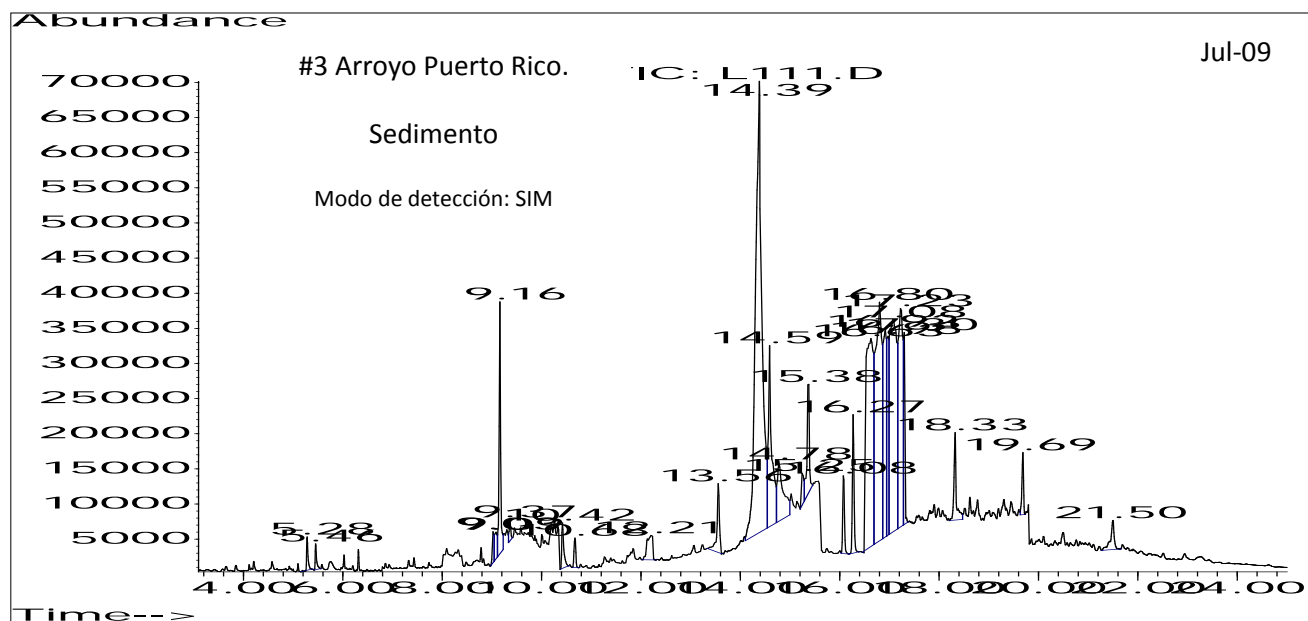
Sitio de muestreo	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)	Fecha	Analitos	Concentración (ng/g)
#8 Arroyo Lagartos	nov-08	Indeno	11.4 ± 2.8	dic-08	n.d.	***
		Naftaleno	DET	ene-09	Naftaleno	DET
		Bifenilo	0.2 ± 0.1		Bifenilo	0.3 ± 0.1
		Fluoreno	DET		Fluoreno	DET
		Benzo[a]antraceno	1.1 ± 0.3		Dibenzotiofeno	2.1 ± 0.5
	Endrín	3.8 ± 1.0	Fenantreno	39.3 ± 9.8		
	feb-09	Indeno	6.6 ± 0.3	mar-09	Dibenzotiofeno	3.7 ± 0.2
		Dibenzotiofeno	3.0 ± 0.1		Fenantreno	3.5 ± 0.3
	may-09	Fenantreno	2.7 ± 0.1	jul-09	Naftaleno	0.9 ± 0.3
		Naftaleno	0.3 ± 0.1		Bifenilo	1.9 ± 0.9
ago-09	Bifenilo	0.5 ± 0.1	oct-09	Dibenzofurano	1.0 ± 0.2	
	Indeno	11.7 ± 2.0		Bifenilo	5.9 ± 0.8	
	Naftaleno	0.8 ± 0.1		Dibenzofurano	106.9 ± 0.9	
#9 Arroyo Danta	jul-09	Benzo[a]antraceno	40.1 ± 5.8	oct-09	Paratión	14.8 ± 5.8
		Naftaleno	1.0 ± 0.4		Naftaleno	4.2 ± 0.5
Bifenilo	2.7 ± 0.5	Bifenilo	9.5 ± 2.1			
Dibenzofurano	1.2 ± 0.2	Dibenzofurano	5.6 ± 1.3			
ago-09	n.d.	***	Paratión	35.9 ± 8.3		
#10 Arroyo Manzanero	nov-08	Naftaleno	21.8 ± 5.5	dic-08	Naftaleno	0.1 ± 0.03
		Naftaleno	DET		Bifenilo	DET
		Dioldín	0.6 ± 0.2		Fluoreno	DET
	Indeno	44.8 ± 11.2	Dibenzotiofeno		0.4 ± 0.1	
	ene-09	Naftaleno	1.9 ± 0.5	feb-09	Indeno	5.4 ± 0.2
		Bifenilo	0.6 ± 0.1		Dibenzotiofeno	3.2 ± 0.2
		Dibenzotiofeno	0.8 ± 0.2		Fenantreno	2.9 ± 0.3
		Antraceno	DET	may-09	n.d.	***
	Endrín	20.6 ± 5.2	jul-09	Bifenilo	1.5 ± 0.2	
	mar-09	Naftaleno	0.7 ± 0.05	ago-09	Dibenzofurano	0.3 ± 0.1
Bifenilo		1.1 ± 0.1	n.d.		***	
Dibenzotiofeno		4.0 ± 0.2	oct-09	Acenafteno	0.6 ± 0.1	
Fenantreno		3.4 ± 0.2		Dibenzofurano	1.3 ± 0.2	
Fluoranteno	1.7 ± 0.05					
#11 Río Tzendales	nov-08	n.d.	***	dic-08	n.d.	***
	ene-09	Naftaleno	DET	feb-09	Indeno	9.1 ± 0.9
		Bifenilo	DET		Diebenzotiofeno	2.4 ± 0.2
		Fluoreno	DET		Fenantreno	2.2 ± 0.2
		Dibenzotiofeno	0.8 ± 0.2	mar-09	Dibenzotiofeno	1.3 ± 0.1
	Benzo[a]antraceno	4.7 ± 1.2	jul-09	Bifenilo	3.5 ± 1.2	
	Indeno	4.7 ± 1.7		Dibenzofurano	1.6 ± 0.2	
	may-09	Naftaleno	0.8 ± 0.1	ago-09	Indeno	14.9 ± 4.8
		Bifenilo	1.2 ± 0.2		Naftaleno	1.0 ± 0.9
		Fenantreno	1.1 ± 0.6		Bifenilo	0.3 ± 0.2
oct-09	Acenafteno	0.8 ± 0.3		Fluoranteno	1.5 ± 1.3	
	Dibenzofurano	0.5 ± 0.1				

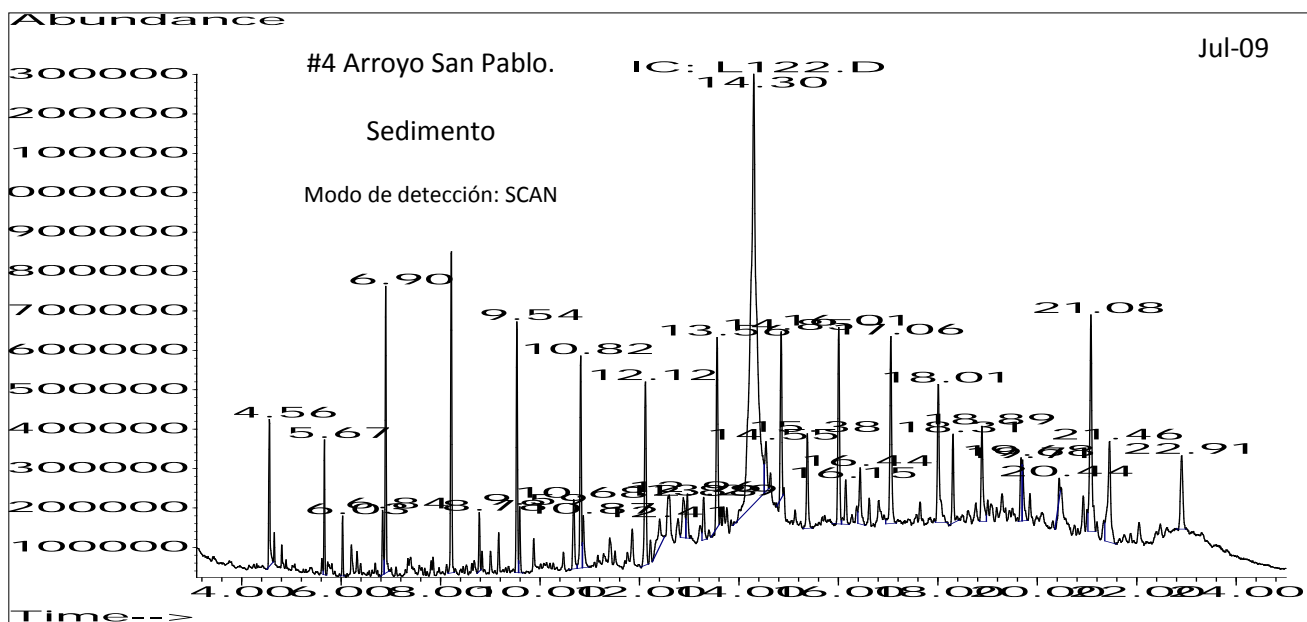
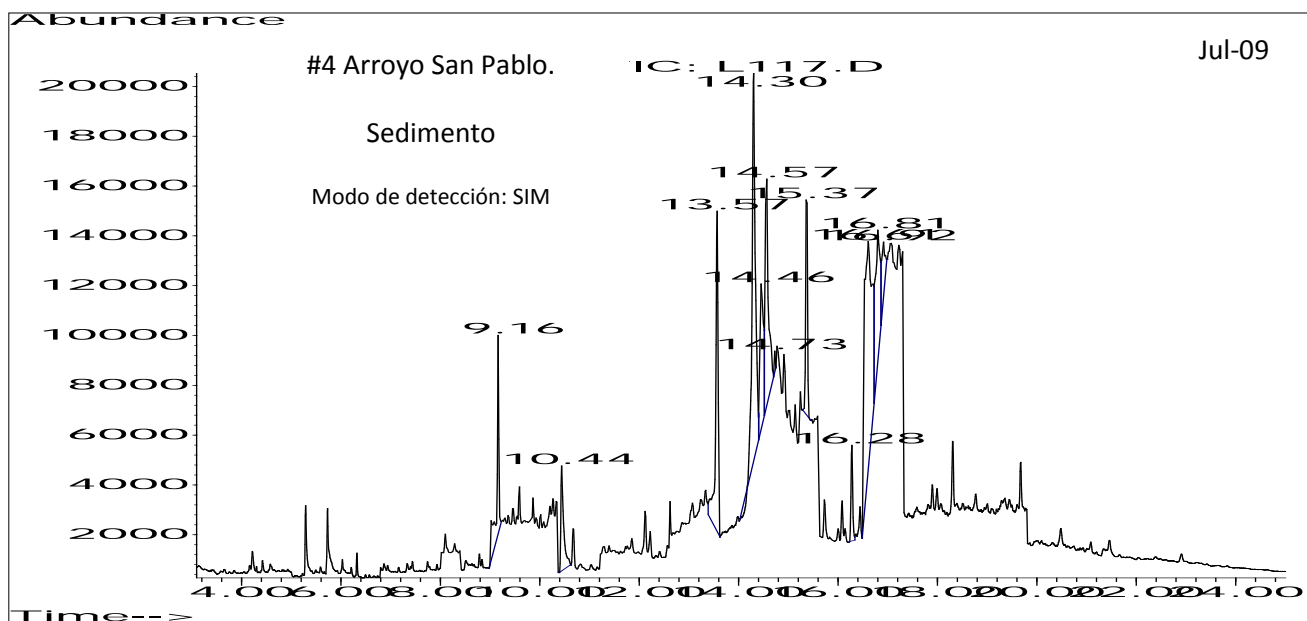
Cromatogramas representativos de las muestras de sedimento y agua de los sitios de muestreo de la cuenca de río Lacantún.

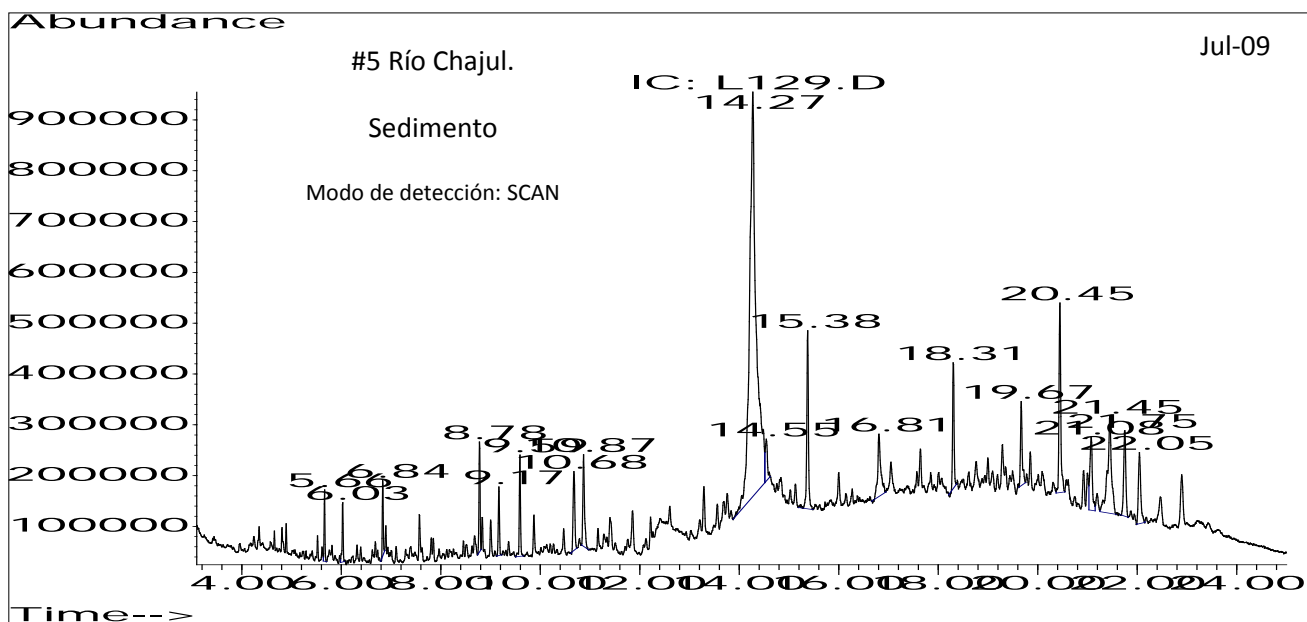
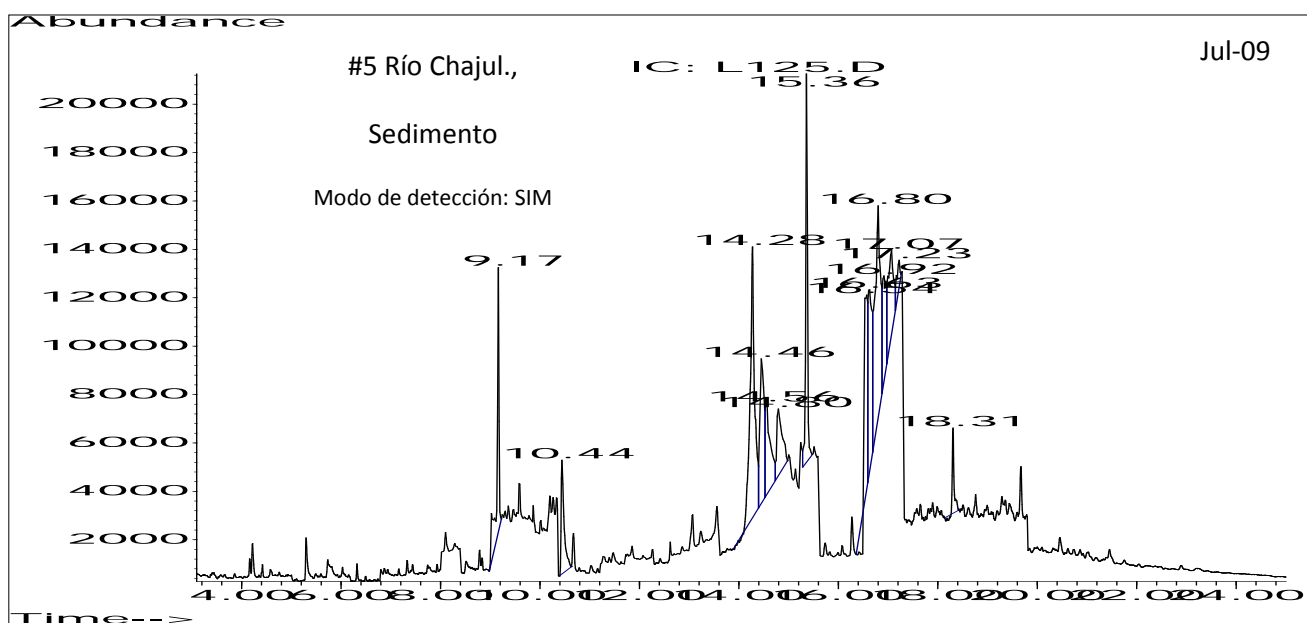
Se presentan solo los cromatogramas correspondientes al muestreo realizado en julio de 2009. Se muestra el cromatograma en el modo de detección por monitoreo selectivo de iones (SIM) y por escaneo completo del espectro de masas (SCAN).

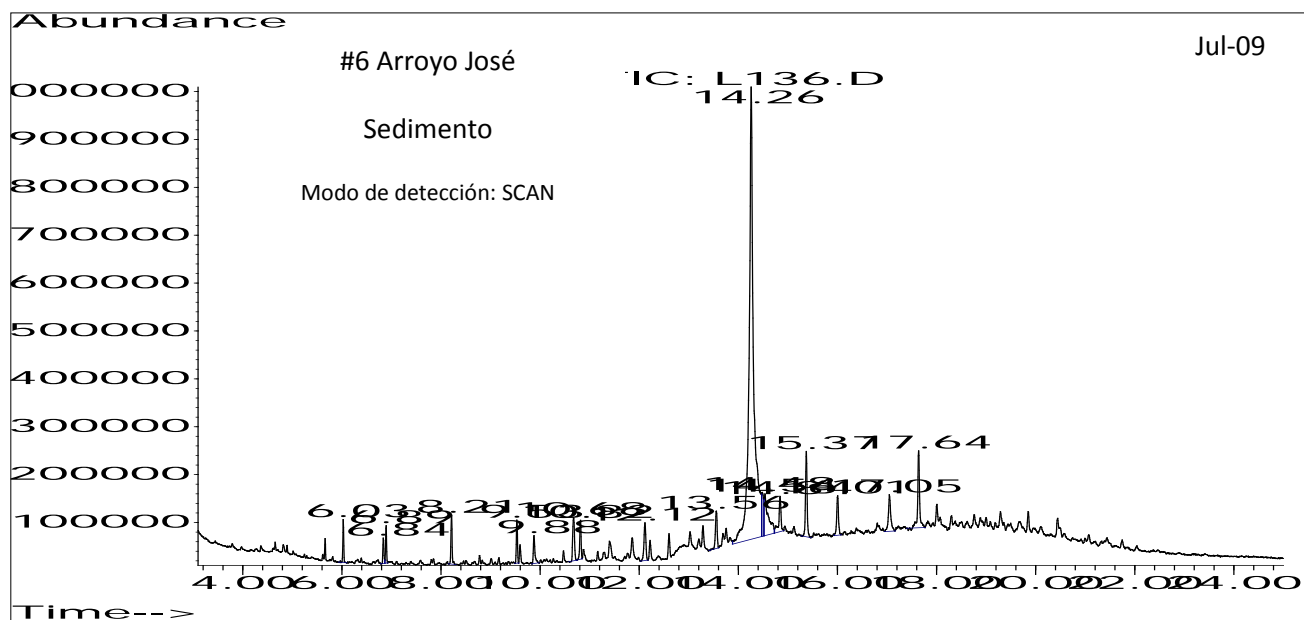
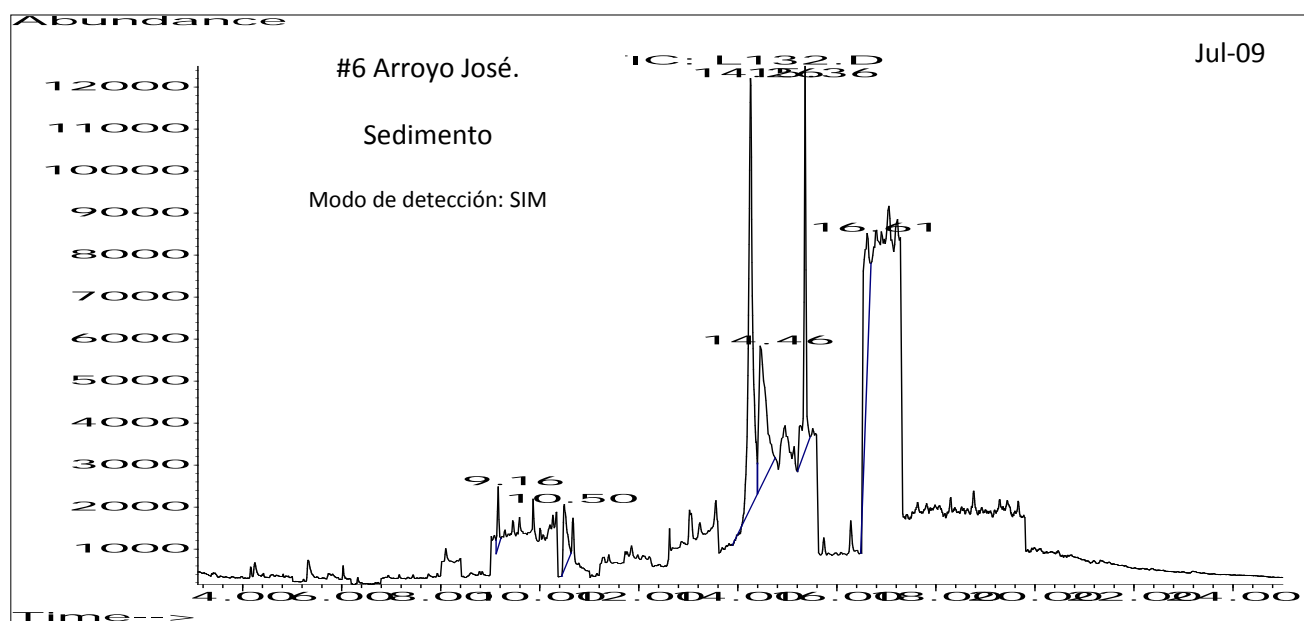


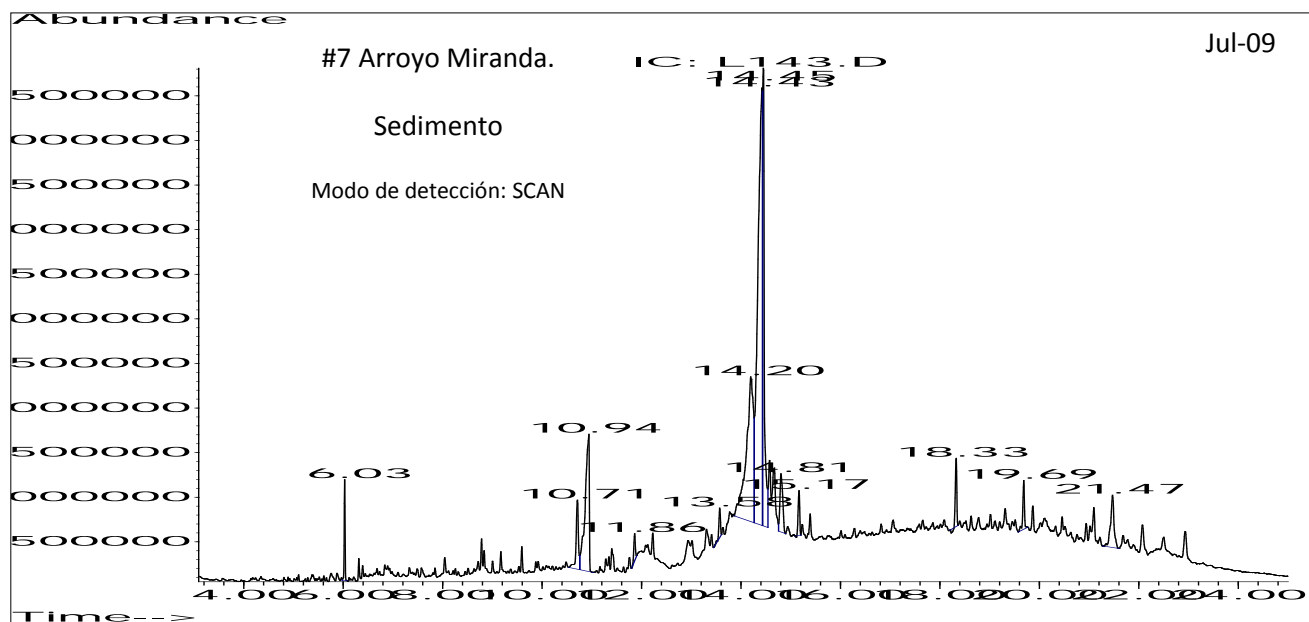
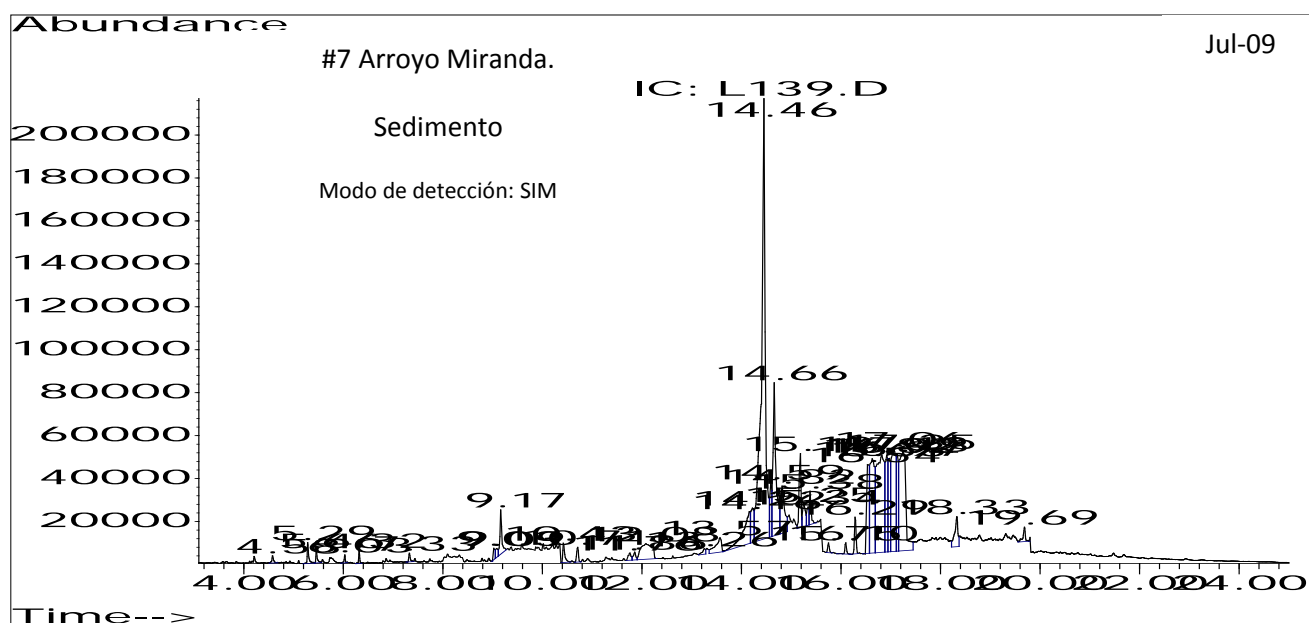


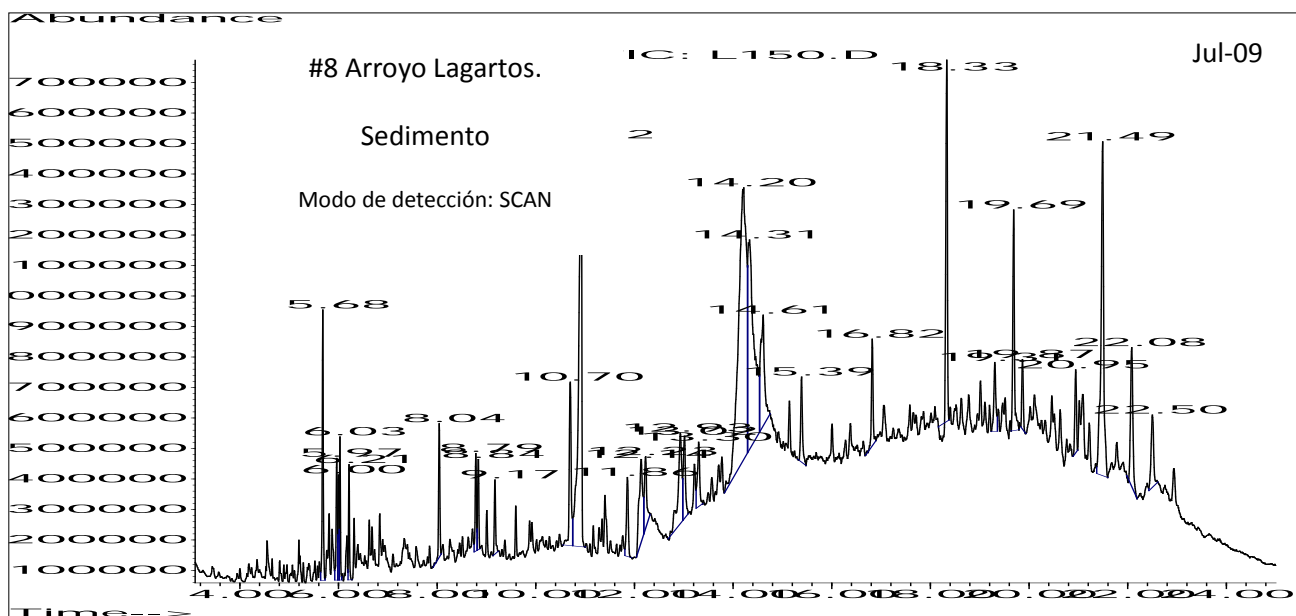
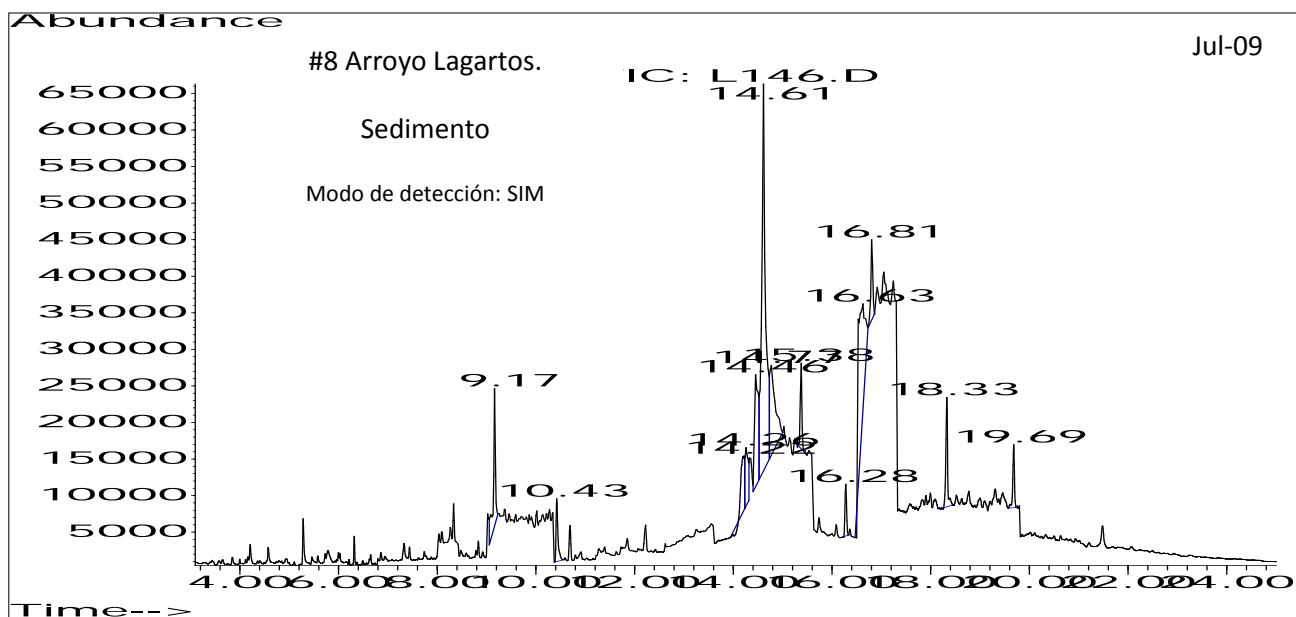


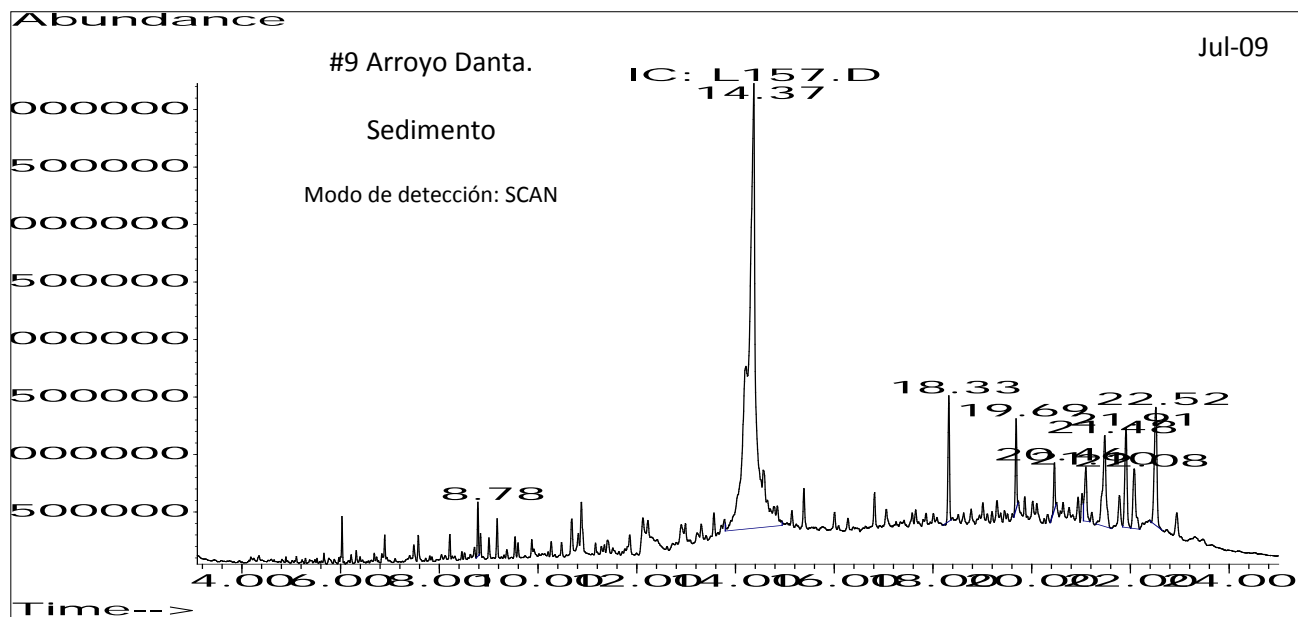
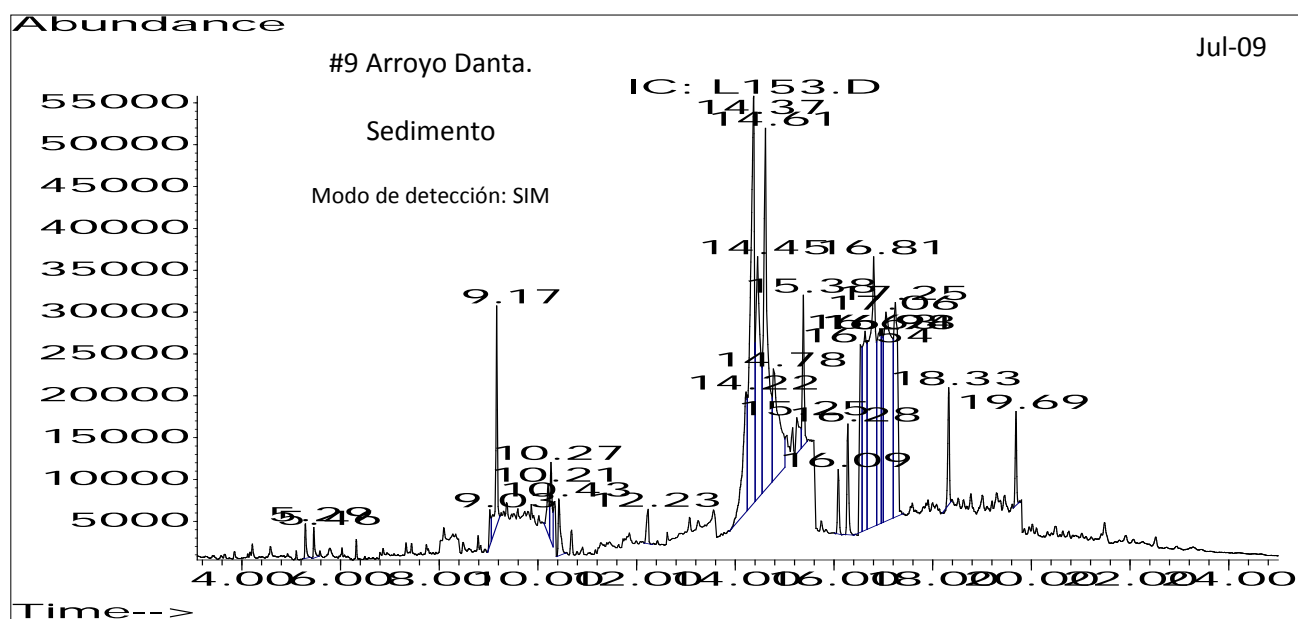


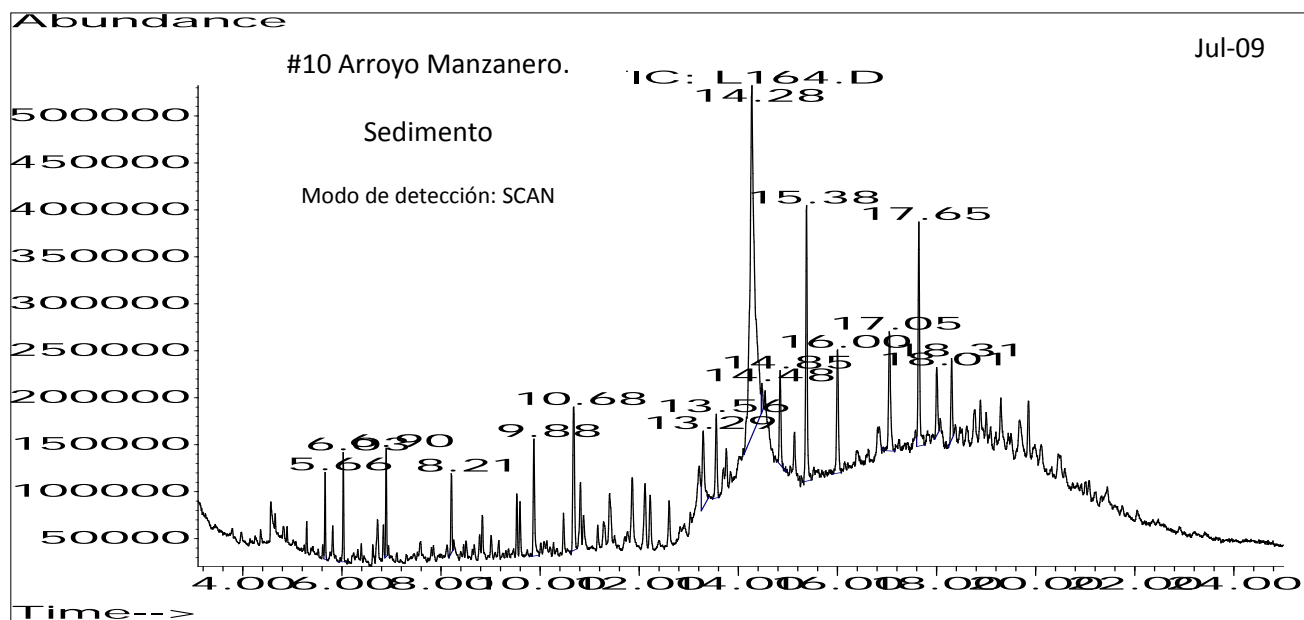
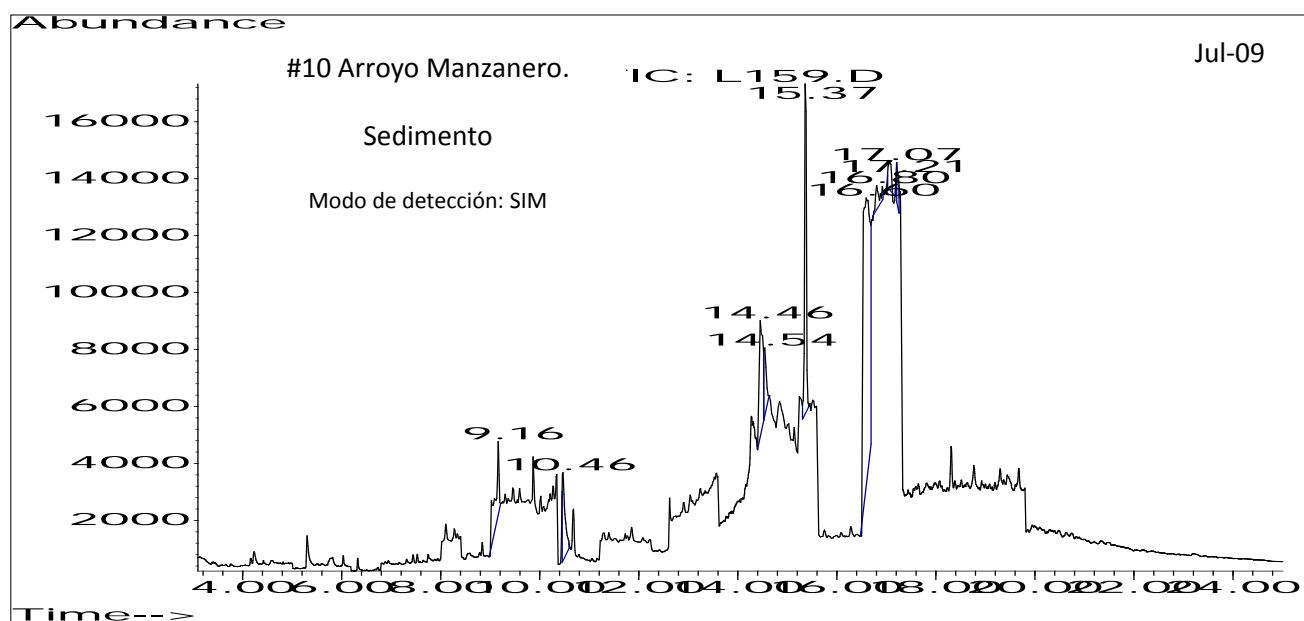


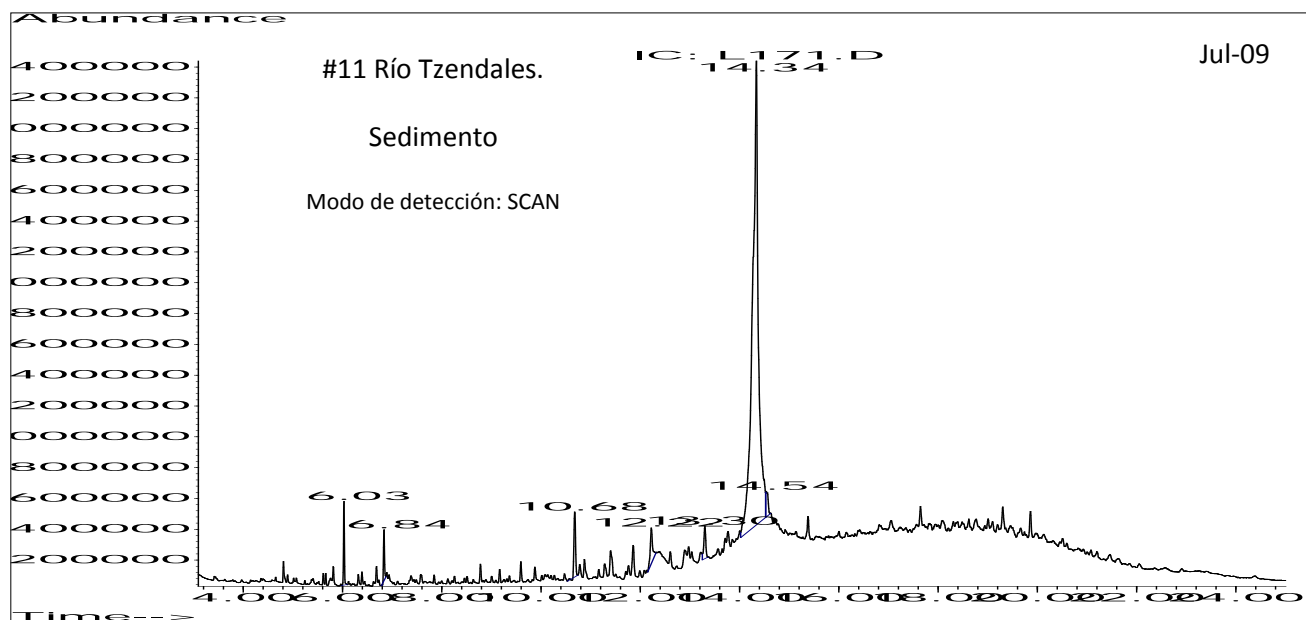
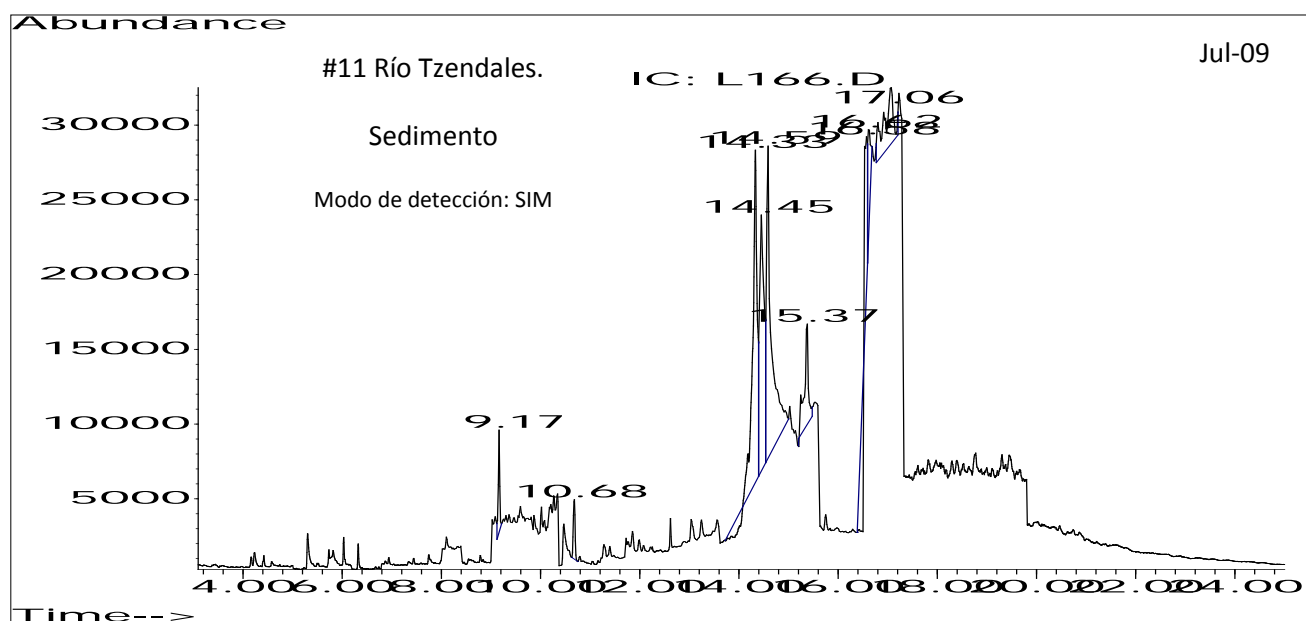


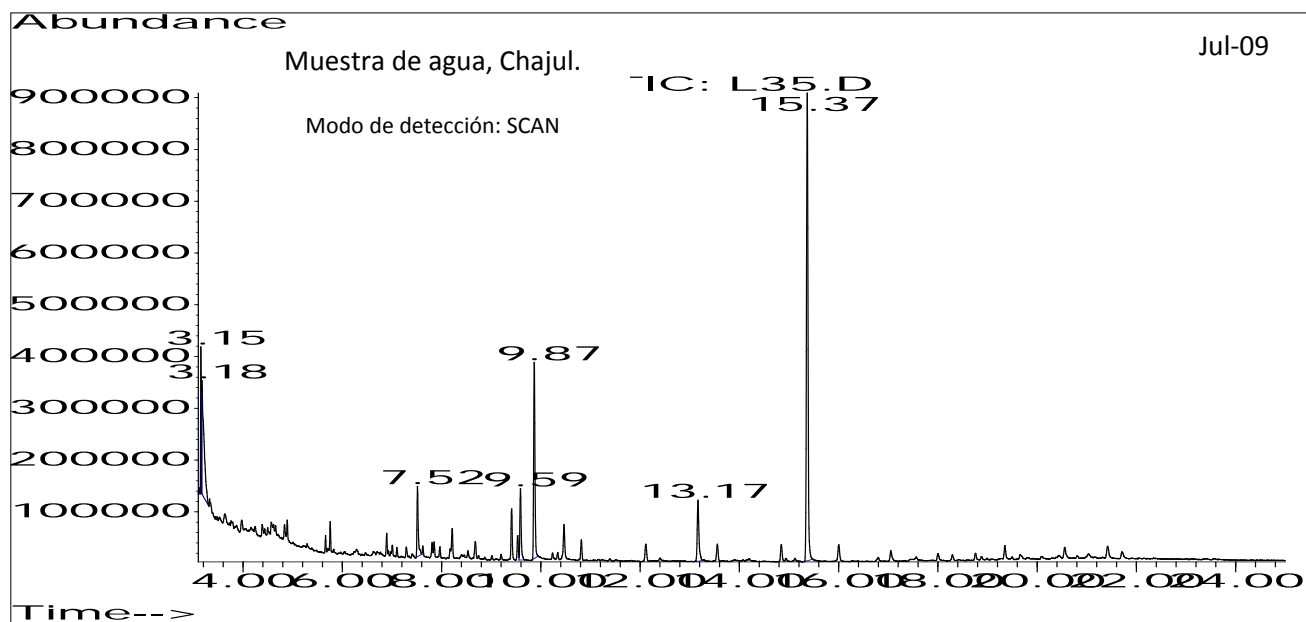
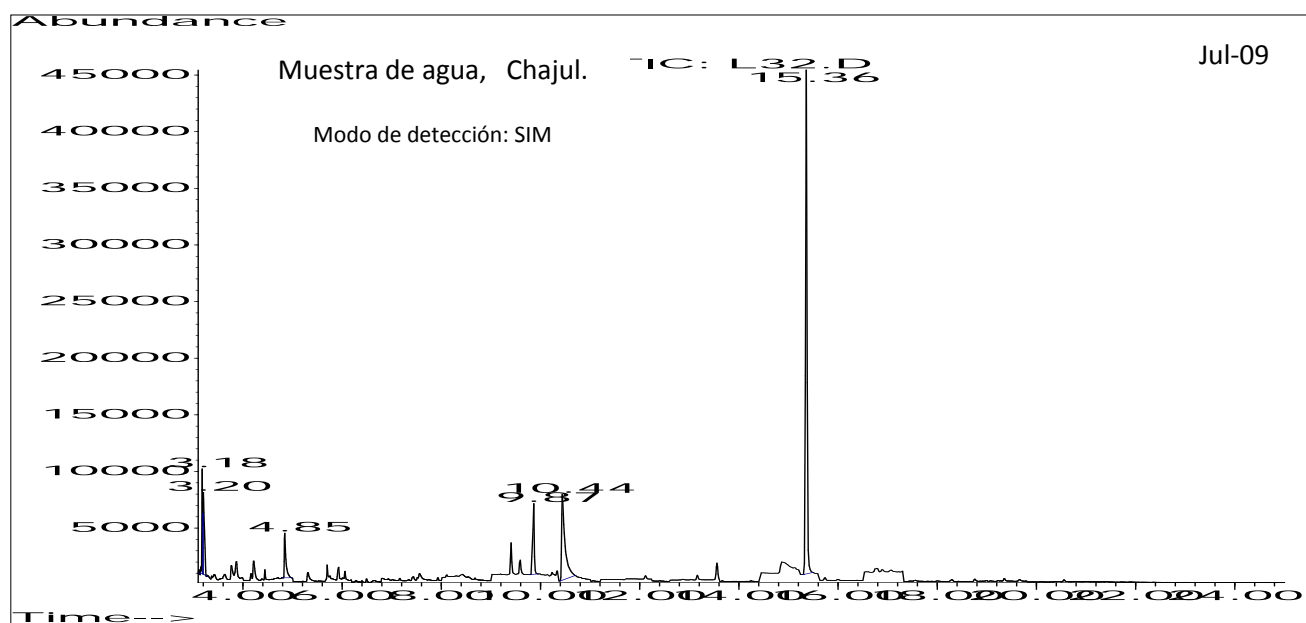


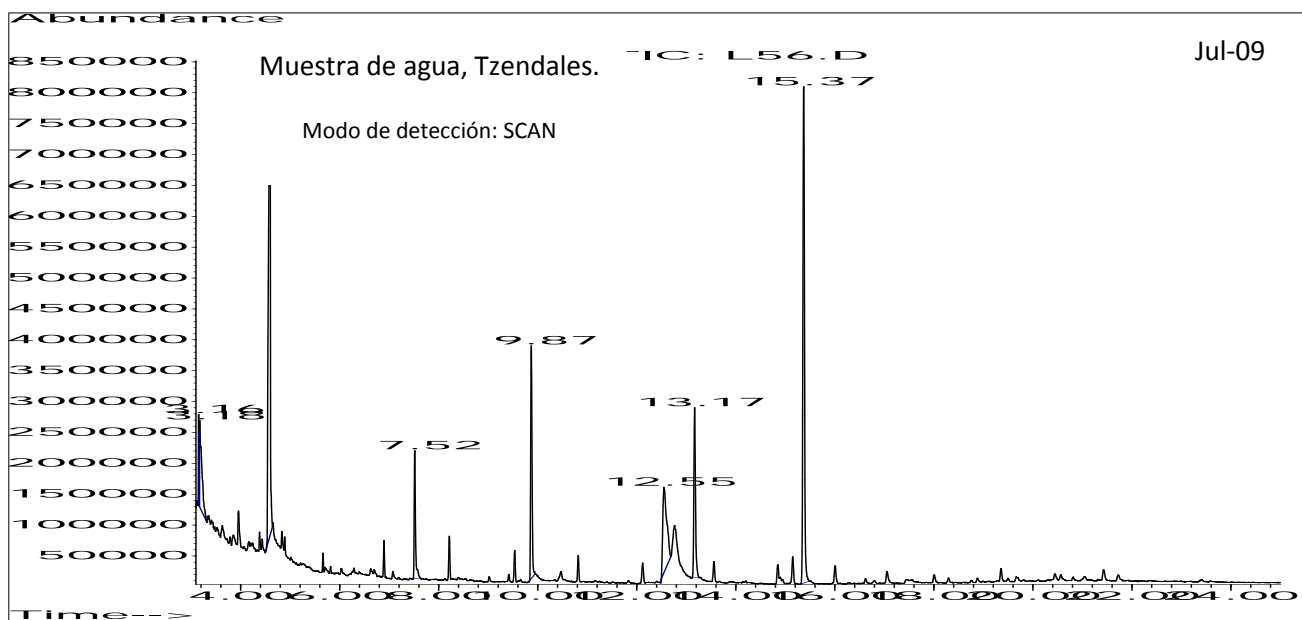
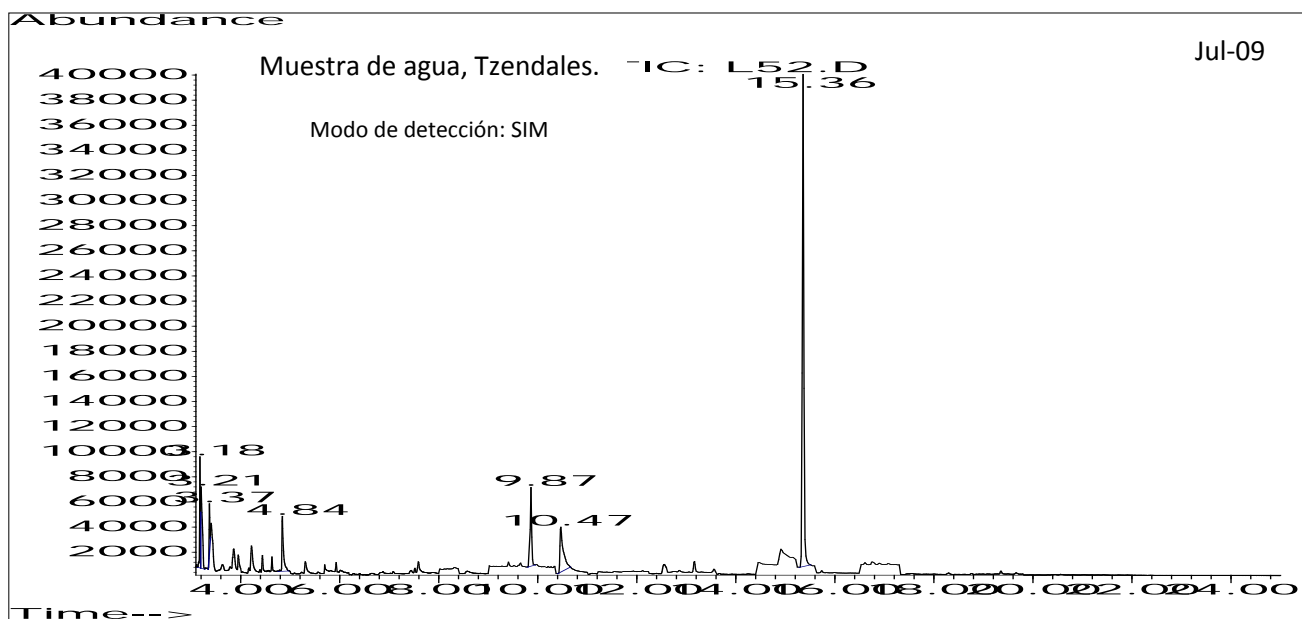












J Concentraciones máximas permisibles de algunos analitos en sedimentos de cuerpos de agua dulce.

Compuesto	Concentración mínima para producir toxicidad sobre organismos acuáticos (ng/g)	Concentración media para producir toxicidad severa sobre organismos acuáticos (ng/g). Concentración máxima permisible.
Acenafteno (HAP) ¹	670	990
Acenaftileno ¹	44	640
Aldrín ¹	2	80
Antraceno (HAP) ¹	220	3700
Antraceno (HAP) ¹	85	1100
Benzo[a]pireno (HAP) ¹	430	1600
Benzo[a]antraceno (HAP) ¹	261	1600
Benzo[k]fluoranteno (HAP) ¹	240	13400
DDT (todos los isómeros) ¹	7	120
Dibenzo[a,h]antraceno (HAP) ¹	33	1300
Dieldrín ¹	2	910
Endosulfan (tódos los isómeros) ²	***	30
Endrín ¹	3	1300
Fenantreno (HAP) ¹	240	1500
Fluoranteno (HAP) ¹	600	1100
Fluoreno (HAP) ¹	19	540
Heptacloro ²	***	100
Indeno (HAP) ¹	200	3200
Lindano ¹	3	10
Malation ²	***	20
Metil- azinfos ²	***	30
Metoxicloro ²	***	600
Mirex ¹	7	1300
Naftaleno (HAP) ¹	160	2100
Paratión/metil-Paratión ²	***	90
Pireno (HAP) ¹	665	2600
Total de HAP's ¹	4000	100000

¹Fuente: National Oceanic and Atmospheric Administration, USA. US-EPA.

²Fuente: New York State, Department of Environmental Conservation, USA.

K Cartas control de reactividad del inyector y porcentaje de recobro del subrogado.

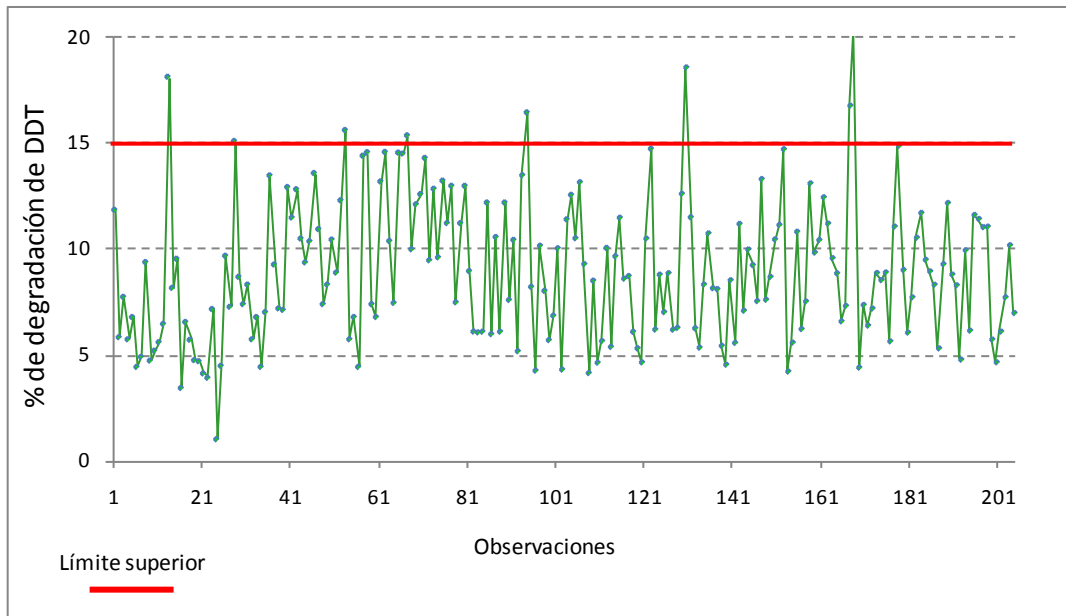


Figura K-1. Carta control de la reactividad del inyector, medida como porcentaje de degradación del DDT.

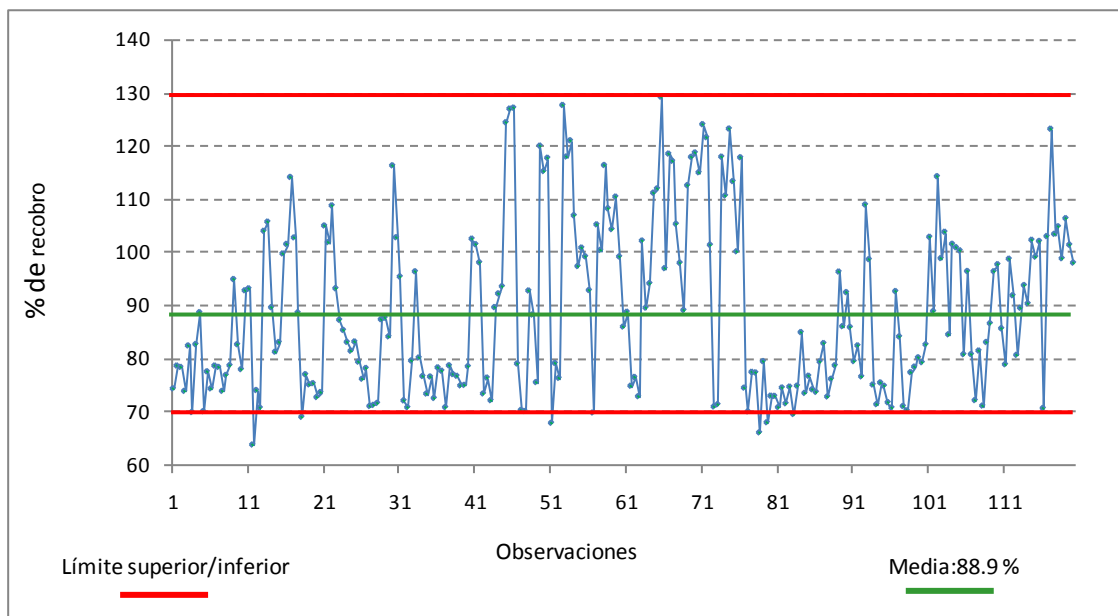


Figura K-2. Carta control del porcentaje de recobro del subrogado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Man and Biosphere** (2009). UNESCO. (www.unesco.org/mab). Consultado: Junio de 2009.
2. **Instituto Nacional de Ecología**, México. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Montes Azules. Mayo del 2000.
3. **Cornell University**, (12/2008). Toxicity of pesticides. Pesticide fact sheets and tutorial, module 4. Pesticide Safety Education Program. (www.extension.org/pages/Toxicity_of_Pesticides) Consultado: Junio 2009.
4. **Richter O., Dieckkrüger B., Nörtersheuser P.** (1996). Environmental Fate Modelling of Pesticides. VHC, USA.
5. **Reemtsma T., Jekel M.** (2006). Organic Pollutants in the Water Cycle. Wiley-VCH, Germany.
6. **Steven J., et al.** (1998). Pesticides in Surface Waters. Distribution, trends, and governing factors. Ann Arbor Press, USA.
7. **Plimmer J., Gammon D., Ragsdale N.** (2003). Encyclopedia of Agrochemicals. Wiley-Interscience, USA.
8. **Chiou C.** (2002). Partition and Adsorption of Organic Contaminants in Environmental Systems. Wiley-Interscience, USA.
9. **Hutzinger O., et al.** (2006). The Handbook of Environmental Chemistry. Volume 5, Water Pollution. Springer, USA.
10. **Matolcsy G., et al.** (1998). Pesticide Chemistry. Elsevier, USA.
11. **Neff J.** (2002). Bioaccumulation in marine organisms. Elsevier, USA.
12. **Walker C.** (2001). Organic Pollutants, an Ecotoxicological Perspective. Taylor & Francis, USA.
13. **Doubden P.** (2003). PAHs: An Ecotoxicological Perspective. Wiley, USA.
14. **Neff J.** (2002). Bioaccumulation in Marine Organisms. Elsevier, USA.
15. **Luch A.** (2005). The carcinogenic Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Imperial College Press, USA.
16. **EPA.** (2009). Pesticides. Environmental Protection Agency, U.S.A. (<http://www.epa.gov/pesticides/>). Consultado: Noviembre de 2009.
17. **Wentao Wang, et al.** (2007). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. Analytica Chimica Acta, 602, 211–222.

18. **Fitzpatrick L., et al.** (2000). Extraction of DDT [1,1,1,-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane] and its metabolites DDE [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethylene] and DDD [1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethane] from aged contaminated soil. *Journal of Chromatography A*, 874, 257–264.
19. **Nor'ashikin Saim, et al.** (1997). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography A*, 791, 361–366
20. **Hawthorne S., et al.** (1994). Direct Comparison of Soxhlet and Low- and High-Temperature Supercritical CO₂ Extraction Efficiencies of Organics from Environmental Solids. *Anal. Chem.*,66, 4005-4012
21. **Kreuzig R. et al.** (2000). Use of supercritical fluid extraction in the analysis of pesticides in soil *J. Biochemistry and Biophysics. Methods*, 43, 403–409.
22. **Gonçalves C. et al.** (2006). Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1110, 6–14.
23. **Burkhardt Mark R., et al.** (2005). Pressurized liquid extraction using water/isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for semivolatile organic compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and alkylated PAH homolog groups in sediment. *Analytica Chimica Acta*, 549, 104–116
24. **Dadkhah Ali A., et al.** (2002). Hot water extraction with in situ wet oxidation: PAHs removal from soil. *Journal of Hazardous Materials*, B93, 307–320
25. **Lesueur C., et al.** (2008). Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–ion trap–mass spectrometry. *Talanta*, 75, 284–293
26. **Villaverdea Jaime, et al.** (2008). Priority pesticides and their degradation products in river sediments from Portugal. *Science of the total environment*, 390, 507-511
27. **Fuentes Edwar, et al.** (2007). Parameters affecting microwave-assisted extraction of organophosphorus pesticides from agricultural soil. *Journal of Chromatography A*, 1169, 40–46
28. **Gonc C., et al.** (2005). Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 65, 1179–1189

29. **Tor Ali, et al.** (2006). Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta*, 559, 173–180
30. **Banjoo D. R., et al.** (2005). Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *Journal of Chromatography A*, 1066, 9–18
31. **Suna Fusheng, et al.** (1998). Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. *Analytica Chimica Acta*, 364, 1-11.
32. **EPA.** (1997) Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods (SW-846). Environmental Protection Agency, USA.
33. **Gevao B., et al.** (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*, 108, 3-14
34. **Matouq M. A., et al.** (2008). Degradation of dissolved diazinon pesticide in water using the high frequency of ultrasound wave. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 869–874
35. **WHO** (1998). Environmental Health Criteria 202: Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organization, Geneva, p. 883.
36. **Neff JM.** (1979). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. Applied Science Publishers, London.
37. **Hilla Shemer, Karl G.** (2007). Linden Aqueous photodegradation and toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbons fluorene, dibenzofuran, and dibenzothiophene. *Water Research*, 41, 853 – 861.
38. **Muhammad Asif, et al.** (2009). Geosynthesis of dibenzothiophene and alkyl dibenzothiophenes in crude oils and sediments by carbon catalysis. *Organic Geochemistry*, 40, 895–901.
39. **The Index Merck, (2001),** 13th Ed. Merck & Co. Inc. N. J. USA.
40. **Footprint.** (2006-2009). Functional Tools for Pesticide risk assessment and management. European Commission, part of the 6th sixth Framework Programme for Research and Technological Development. (<http://www.eu-footprint.org>). Consultado: octubre de 2009.
41. **ASTDR.** Agency of toxic substances & disease registry. (<http://www.atsdr.cdc.gov>). Consultado: octubre de 2009.
42. **CERCLA.** (2007). Priority List of Hazardous Substances. The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act (CERCLA). Consultado: octubre de 2009.

43. **ORIS, J. T. and GIESY, J. P.** (1986). Photoinduced toxicity of anthracene to juvenile bluegill sunfish; photoperiod effects and predictive hazard evaluation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 5, 761–8.
44. **ORIS, J. T. and GIESY, J. P.** (1987). The photoinduced toxicity of PAH to larvae of the fathead minnow. *Chemosphere*, 16, 1395–404.
45. **Kastner M., Breuerjammali M., and Mahro B.** (1994). Enumeration and characterization of the soil microflora from hydrocarbon-contaminated soil sites able to mineralize polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41, 267–273.
46. **McGillivray AR. and Shiaris MP.** (1994). Relative role of eukaryotic and prokaryotic microorganisms in phenanthrene transformation in coastal sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1154–1159.
47. **McGinnis GD. Et al.** (1988). Characterization and laboratory testing soil treatability studies for creosote and pentachlorophenol sludges and contaminated soil. USEPA Report No. 600/2–88/055, R.S. Kerr Environmental Laboratory, Ada, OK, USA.
48. **Herbes SE. and Schwall LR.** (1978). Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristine and petroleum contaminated sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 35, 306–316.
49. **Farrington JW., et al.** (1983). US ‘Mussel Watch’ 1976–1978: an overview of the trace metal, DDE, PCB, hydrocarbon, and artificial radionuclide data. *Environmental Science and Technology*, 17, 490–496.
50. **Lamoureux EM., et al.** (1999). Chemical and biological availability of sediment-sorbed hydrophobic organic contaminants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 1733–1741.
51. **Organización Mundial de la Salud (OMS).** (1992). Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Ginebra, Suiza. 128 p.
52. **ASTDR.** Agency of toxic substances & disease registry. Toxicological Profile Information Sheet. (<http://www.atsdr.cdc.gov>). Consultado: octubre de 2009.
53. **Ascheiro A., et al.** (2006). Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 60, 197–203.
54. **Fleeger J., et al.** (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *The Science of the Total Environment*, 317, 207–233.
55. **Pacheco M.L., et al.** (2003). Supramolecular interactions of humic acids with organic and inorganic xenobiotics studied by capillary electrophoresis. *Chemosphere*, 51, 95–108.

56. **Sattar M.A., et al.** (1990). Fate of organophosphorous pesticides in soils. Chemosphere, 20, 387-396.
57. **Bavcon M., et al.** (2003). Investigations of the determination and transformations of diazinon and malathion under environmental conditions using gas chromatography coupled with a flame ionisation detector. Chemosphere, 50, 595–601.
58. **Eskilsson C., et al.** (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A, 902, 227–250.
59. **Luque-García, et al.** (2004) Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications. Talanta, 571–577.
60. **Pastor, et al.** (1997). Efficiency of the microwave-assisted extraction of hydrocarbons and pesticides from sediments. Analytica Chimica Acta 344, 241-249.
61. **Lopez-Avila, et al.** (1994). Microwave-Assisted Extraction of Organic Compounds from Standard Reference Soils and Sediments. Analytical Chemistry, 66, 1097-1106.
62. **Adré Loupy.** (2006). Microwaves in Organic Synthesis. 2nd edition. Wiley-VCH.
63. **Scott A.** (1993). Understanding Microwaves. Wiley- Interscience. pp. 3-19.
64. **Luque de Castro M.D., Priego Capote F.** (2007). Analytical applications of ultrasound. Techniques and instrumentation in analytical chemistry, Vol. 26, Elsevier. Pp. 1-60.
65. **Manson T.J., Lorimer J.P.** (2002). Applied Sonochemistry. The uses of power ultrasound in chemistry and processing. Wiley-VCH. Pp. 25-59.
66. **Kennet S., et al.** (1999). Acoustic cavitation and its chemical consequences. Philosophical Transactions of the Royal Society A, 1-21.
67. **Huang W., et al.** (2006). The evolution of the cavitation bubble driven by different sound pressure. Ultrasonics, 44, e407–e410.
68. **Doktycz J.S., Sulslick K.** (1990). Interparticle collisions driven by ultrasound. Science, 247, 1067-1069.
69. **Wikipedia,** (2009). **Sediment.** (<http://en.wikipedia.org/wiki/Sediment>). Consultado: Noviembre de 2009.
70. **Bridge R., Demicco R.** (2008). Earth surface processes, landforms and sediment deposits. Cambridge University Press, UK.
71. **Lick Wilbert.** (2009). Sediment and Contaminant transport in surface waters. CRC, USA.
72. **Montgomery D.** (2007). Diseño y análisis de experimentos. 2ª ed. Limusa-Wiley, México.
73. **Miller & Miller.** (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. 4ª ed. Prentice Hall, España.

74. **Universidad de Oviedo.** Departamento de Psicología. Prueba de Levene. (http://www.psico.uniovi.es/Dpto_Psicologia/metodos/tutor.5/levne.html). Consultado: Dic. 2009.
75. **University of Idaho.** Fisher's least significant difference. (www.webpages.uidaho.edu/~brian/stat401ch9_02.pdf). Consultado: Dic. 2009.
76. **Avendaño M.** (2004). Inventario de gasterópodos terrestres y dulceacuícolas del área focal de Ixcan, Chiapas. Informe final* del Proyecto Y015. Instituto de Historia Natural y Ecología, Chiapas.