



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

INFLUENCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA EN LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE LA ATRAZINA Y DOS DE SUS METABOLITOS DE DEGRADACIÓN EN MUESTRAS ACUOSAS. Caso de estudio canales de Xochimilco, Cd.Mx., México

TESIS

PARA OPTAR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Química ARANYS DEL CARMEN BORJA URZOLA

Tutor: Doctora. María del Carmen Durán Domínguez
Facultad de Química

México, Cd.Mx. Enero de 2017



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

INFLUENCIA DE LA MATERIA ORGÁNICA EN LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA
DE LA ATRAZINA Y DOS DE SUS METABOLITOS DE DEGRADACIÓN EN
MUESTRAS ACUOSAS. Caso de estudio canales de Xochimilco, Cd.Mx., México

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Química ARANYS DEL CARMEN BORJA URZOLA

México, Cd.Mx. 2017

JURADO

PRESIDENTE Dra. Telma Gloria Castro Romero

VOCAL Dra. María Salud Pérez Gutiérrez

VOCAL Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero

VOCAL Dra. María Irene Cano Rodríguez

SECRETARIO Dr. Pandiyan Sarasvathi Thangarasu

Tutor principal

**Dr.-Ing. María del Carmen Durán
Domínguez**

Sustentante

Química Aranys del Carmen Borja Urzola

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ LA EXPERIMENTACIÓN:

Laboratorios E-301, 302, 303, de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, Edificio E-3, Alimentos y Química Ambiental, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM

PRESENTACIÓN EN EVENTOS

Arany del Carmen Borja-Urzola, Marisela Bernal-González, María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa. Desarrollo de un método para la determinación de atrazina y dos de sus metabolitos de degradación en matriz acuosa. Caso de estudio canales de Xochimilco, Ciudad de México, México. *VI Congreso Iberoamericano de Química Analítica y Encuentro Nacional de Química Ambiental*. 15 al 18 de noviembre de 2016. Cancún, Quintana Roo.

ARTICULO

Arany del Carmen Borja-Urzola, Marisela Bernal-González, María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa. Desarrollo de un método para la determinación de atrazina y dos de sus metabolitos de degradación en matriz acuosa. Caso de estudio canales de Xochimilco, Ciudad de México, México. *Memory in extensive*. **DMQA-15**. *VI Congreso Iberoamericano de Química Analítica y Encuentro Nacional de Química Ambiental*. 15 al 18 de noviembre de 2016. Cancún, Quintana Roo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de posgrado otorgada bajo el número de becario 589210 y al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM por la formación académica brindada.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo parcial para la adquisición de reactivos y materiales a través del Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química, PAIP, Clave 5000-9067.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico por su ayuda a través de los proyectos PAPIME claves EN103704, PE101709 y PE100514.

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez por su apoyo y colaboración durante los dos años de maestría y a los Miembros del Comité Evaluador por las observaciones y comentarios realizados para mejorar la versión final del documento.

Al personal académico de los Laboratorios 301-303 del Conjunto E de la Facultad de Química por todo su apoyo en el quehacer diario del laboratorio y en especial a la Dra. Marisela Bernal González por toda la ayuda brindada y sus oportunos comentarios en la realización de este proyecto.

Al Doctor Alfonso Durán Moreno por facilitarme la realización de la parte experimental al brindarme su apoyo para el uso del equipo de cromatografía de gases.

A la Maestra Elsa Valiente Riveros, Directora General del Programa de Restauración Ecológica y Desarrollo, A.C., así como a José Luis Severiano Domínguez por su colaboración en la realización del muestreo realizado en el sistema de Canales de Xochimilco.

A mis compañeros de maestría por todos los momentos que compartimos juntos y que sin duda hicieron más fácil estos dos años de estudio. A los niños/niñas del laboratorio por todas las horas compartidas en el laboratorio, por las palabras de aliento y por los buenos momentos. Muchas gracias por ser mi hogar a lo largo de estos años.

A mis padres, hermanos y tíos.

Soy lo que soy, gracias a todo lo que ustedes hacen por mí.

“El químico es esa extraña clase de mortales incitados por un impulso casi insano de buscar su deleite entre humo y vapor, hollín y fuego, veneno y podredumbre, aún entre todas esas malignidades yo vivo tan dulcemente, que moriría si lo cambiara por lugares con el rey de Persia”

Johann Joachim Becker

*“Acta Laboratotii Chymica Monacensis, seu Physica Subtarrances”
(1669)*

DECLARATORIA

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

Química Arany del Carmen Borja Urzola

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	
LISTA DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA	16
1.1. INTRODUCCIÓN	16
1.2. OBJETIVOS	17
1.3. HIPÓTESIS	18
1.4. ALCANCES	18
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	19
2.1. PLAGUICIDAS	19
2.1.1. Efectos de los plaguicidas en la salud	21
2.1.2. Plaguicidas en agua	22
2.2. ATRAZINA	23
2.3. EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	24
2.4. MATERIA ORGÁNICA	31
2.5. CASO DE ESTUDIO: CANALES DE XOCHIMILCO	32
CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	35
3.1. MATERIALES	35
3.2. REACTIVOS	35
3.3. SISTEMA CROMATOGRÁFICO	36
3.4. OTROS EQUIPOS Y ACCESORIOS EMPLEADOS	36
3.5. METODOLOGÍA	36
3.5.1. Preparación de disoluciones estándar de plaguicidas	36
3.5.2. Condiciones cromatográficas óptimas	36
3.5.3. Evaluación del sistema cromatográfico	37
3.5.3.1. Linealidad	37
3.5.3.2. Precisión	37
3.5.3.3. Límite de detección y límite de cuantificación	37
3.5.4. Optimización de proceso de extracción en fase sólida	38
3.5.4.1. Volumen de muestra	38
3.5.4.2. Tipo de disolvente	38
3.5.4.3. Volumen de disolvente	39
3.5.4.4. Diseño factorial 2 ⁴	39
3.5.5. Influencia de la materia orgánica en el proceso de extracción en fase sólida de la ATZ, DEA y DIA	40
3.5.5.1. Preparación de la solución de ácidos húmicos	40

3.5.5.2. Influencia de la materia orgánica	40
3.5.6. Estabilidad de los compuestos una vez retenidos en los cartuchos	41
3.5.7. Validación del método optimizado	41
3.5.7.1. Linealidad	41
3.5.7.2. Recobro	42
3.5.7.3. Precisión	42
3.5.7.4. Reproducibilidad	42
3.5.7.5. Límite de detección y límite de cuantificación	42
3.5.7.6. Estabilidad de la muestra	42
3.5.8. Aplicación del método en muestras reales. Caso de estudio canales de Xochimilco, Cd. México	42
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1. Evaluación del sistema cromatográfico	44
4.2. Optimización de la extracción en fase sólida	46
4.3. Influencia de la materia orgánica en el proceso de extracción en fase sólida	54
4.4. Validación del método	57
4.5. Aplicación en muestras reales: Caso de estudio canales de Xochimilco	60
4.6. Estabilidad de los compuestos una vez retenidos en los cartuchos	63
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
5.1. CONCLUSIONES	65
5.2. RECOMENDACIONES	66
CAPÍTULO 6. ANEXOS	67
6.1. Determinación de carbono orgánico no purgable	67
6.2. Protocolo de muestreo	69
6.3. Procedimiento de lavado y limpieza del material utilizado en cromatografía	70
6.4. Manejo, tratamiento y disposición de los residuos generados durante el desarrollo experimental	71
6.5. Determinación de la recta de calibrado, coeficiente de correlación e intervalo de confianza de la pendiente. Límites de detección y cuantificación. <i>Evaluación de la linealidad para la deisopropilatrazina (ejemplo)</i>	71
6.5.1. Límite de detección y límite de cuantificación	74
6.6. Cromatogramas de los puntos 1, 3 y 7 (Muestras Canales de Xochimilco)	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrilo
ATZ	Atrazina
CICOPLAFEST	Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas fertilizantes y sustancias tóxicas, México
DEA	Desetilatrazina
DIA	Deisopropilatrazina
EFS	Extracción en fase sólida (<i>SPE</i> por sus siglas en inglés: Solid Phase Extraction)
C₁₈	Fase adsorbente de octadecilo ligado a sílice
OASIS HBL	Cartuchos con fase adsorbente de polidivinilbenceno-N-vinilpirrolidona
EL-EL	Extracción líquido-líquido
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
IC	Intervalo de confianza
r	Coefficiente de correlación de Pearson
MEFS	Microextracción en fase sólida (<i>SPME</i> por sus siglas en inglés: <i>Solid Phase Microextraction</i>)
MSD	Detector selectivo de masas, por sus siglas en inglés
CG	Cromatografía de gases
FID	Detector de ionización de flama, por sus siglas en inglés
CONP	Carbono orgánico no purgable
CV	Coefficiente de variación
%R	Porcentaje de recuperación
MO	Materia Orgánica
SDB, SDVB o PSDB	Poliestireno divinilbenceno

LISTA DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pág.
Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas (CICOPLAFEST, 2004)	19
Tabla 2. Propiedades químicas y físicas de los compuestos de estudio	23
Tabla 3. Característica de los cartuchos utilizados en la extracción en fase sólida	35
Tabla 4. Condiciones óptimas de operación del cromatógrafo <i>Agilent 7890 A</i> para la separación de los analitos	37
Tabla 5. Propiedades químicas y físicas de los solventes utilizados (20-25°C)	39
Tabla 6. Factores del diseño factorial 2 ⁴	39
Tabla 7. Matriz de diseño experimental	40
Tabla 8. Método de extracción optimizado para la EFS de la ATZ, DEA y DIA	41
Tabla 9. Evaluación de la linealidad del sistema cromatográfico en un intervalo de 15- 60 µg/L, n=12. Intervalo de confianza del 95%	45
Tabla 10. Coeficiente de variación (%CV) para cada uno los compuestos como representación de la precisión del sistema. Solución de 60 µg/L, n=6, nivel de confianza del 95%	45
Tabla 11. Matriz del diseño experimental y los %R para cada uno de los experimentos realizados	51
Tabla 12. Análisis de varianza para el %R	52
Tabla 13. Método de extracción optimizado para la EFS de la ATZ, DEA y DIA	54
Tabla 14. Contenido de materia orgánica (mg/L) expresada como carbono orgánico no purgable, CONP, para las muestras sintéticas	54
Tabla 15. Evaluación de la linealidad método de extracción en fase sólida en un intervalo de 15 -60 µg/L, n=12. Intervalo de confianza del 95%	57
Tabla 16. Coeficiente de variación (%CV) para cada uno de los compuestos después del proceso de extracción en fase sólida como evaluación de la precisión del método. Muestra de 3 µg/L, n=5	58
Tabla 17. Coeficientes de variación para cada uno de los compuestos evaluados a diferentes niveles de concentración	58
Tabla 18. Porcentaje de recuperación de cada uno de los compuestos a diferentes niveles de concentración en agua superficial	59
Tabla 19. Comparación de los parámetros de linealidad del método optimizado usando agua ultrapura y agua superficial	60
Tabla 20. Resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de las muestras provenientes de los canales de Xochimilco	60
Tabla 21. Resultados de la determinación de ATZ, DEA y DIA en los canales de Xochimilco. Muestras sin adición de estándar	61

Tabla	Pág.
Tabla 22. Coeficientes de variación para cada uno de los compuestos después de las 4 semanas de almacenamiento	64
Tabla 23. Valores obtenidos para cada uno de los sitios muestreados	68
Tabla 24. Zonas y coordenadas de los puntos muestreados en el sistema de canales de Xochimilco	69
Tabla 25. Resultados de la calibración realizada para la deisopropilatrastina en un rango de 15-60 µg/L	71
Tabla 26. Resultados obtenidos para determinar el límite de detección y de cuantificación de la deisopropilatrastina	74

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
Figura 1. Distribución de los plaguicidas en el ambiente (Martínez-Pérez, 1996)	20
Figura 2. Transporte de los plaguicidas en el ambiente (INECC, 2015b)	21
Figura 3. Estructura química de la atrazina, desetilatrastina y deisopropilatrastina	23
Figura 4. Sistema utilizado para la extracción en fase sólida (Moldoveanu, 2015)	25
Figura 5. Esquema del proceso de extracción (Moldoveanu, 2015)	28
Figura 6. Estructura química de un adsorbente inorgánico unido a una superficie orgánica. Ejemplo, Sílice	29
Figura 7. Estructura química del polímero SDB	30
Figura 8. Localización de la delegación Xochimilco	32
Figura 9. Montaje del sistema de extracción para determinar el volumen de fuga	38
Figura 10. Cromatograma correspondiente a la inyección de 1 µL de una mezcla estándar de ATZ, DEA y DIA a una concentración de 200 µg/L.. Columna ZB-5 (5% fenil-poliisiloxano – 30 m de largo * 0.25 mm de diámetro interno* 0.25 µm de espesor de fase)	44
Figura 11. Esquema experimental de la estimación del volumen de fuga	47
Figura 12. Estructura química de la fase polimérica poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona (WATERS, 2016a)	47
Figura 13. Cromatograma de los puntos 1, 3 y 7 de las muestras de Xochimilco	62
Figura 14. Representación del contenido de carbono orgánico no purgable	67
Figura 15. Mapa con la distribución de las zonas de muestreo en el sistema de canales de Xochimilco (García, 2016)	70
Figura 16. Valores críticos de la distribución F(0.05)	73
Figura 17. Valores críticos de la distribución t de Student	74

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica	Pág.
Gráfica 1. Efecto del disolvente en el cartucho OASIS HBL. Resultados de las extracciones individuales de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L	48
Gráfica 2. Efecto del disolvente en el cartucho C ₁₈ . Resultados de las extracciones individuales de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L	49
Gráfica 3. Volumen de disolvente en los cartuchos OASIS HBL. Resultados de la extracción de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L	50
Gráfica 4. Volumen de disolvente en los cartuchos C ₁₈ . Resultados de la extracción de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L	50
Gráfica 5. Diagrama de Pareto estandarizado para el %R	52
Gráfica 6. Residuos versus predichos	53
Gráfica 7. Superficie de respuesta estimada para el % de Recuperación	53
Gráfica 8. Influencia de la MO en la EFS utilizando los cartuchos HBL	55
Gráfica 9. Influencia de la MO en la EFS utilizando los cartuchos C ₁₈	55
Gráfica 10. Efecto del pH en la EFS utilizando los cartuchos HBL	56
Gráfica 11. Estabilidad de los compuestos en la fase HBL	63
Gráfica 12. Estabilidad de los compuestos en la fase C ₁₈	64
Gráfica 13. Curva de calibración para la determinación de carbono orgánico no purgable	68

RESUMEN

Se desarrolló un método por extracción en fase sólida (EFS y *SPE*, por sus siglas en inglés: solid phase extraction) seguido por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (EFS-CG-*FID*) para la extracción e identificación de la atrazina (ATZ), y dos de sus metabolitos de degradación: desetilatrizona (DEA) y deisopropilatrizona (DIA) en agua superficial. La extracción de los analitos se realizó por EFS utilizando dos fases adsorbentes: octadecil ligado a sílice (C_{18}) y polidivinilbenceno-N-vinilpirrolidona (OASIS HBL), optimizando las variables: volumen de muestra, tipo y volumen de disolvente. La elección de la fase adsorbente para la aplicación en matrices reales se realizó por medio de un diseño factorial 2^4 en el que se evaluaron cuatro factores: (A) tipo de fase, (B) tipo de disolvente, (C) volumen de muestra y (D) volumen de disolvente. La identificación de cada compuesto se realizó comparando los tiempos de retención proporcionados por los estándares. Los cartuchos OASIS HBL se utilizaron para evaluar la influencia de la materia orgánica (MO) en el proceso de EFS, para ello, se utilizó un estándar de ácidos húmicos, y se realizaron pruebas variando el pH, contenido de MO. El método optimizado fue validado mediante la evaluación del coeficiente de correlación de Pearson (r), límite de detección, límite de cuantificación, precisión y exactitud en un intervalo de 15-60 $\mu\text{g/L}$. El método reportó valores de recobro entre el 97-109% para la DIA, 90-102% para la DEA y entre 87-100% para la ATZ; y valores de precisión (%CV) menores del 2%. La metodología EFS-CG-*FID* presentó una adecuada linealidad para cada uno de los compuestos con valores de r de 0.992 para la DIA, 0.995 para la DEA y 0.996 para la ATZ. Los límites de detección y cuantificación se encuentran entre 2.24 – 2.8 $\mu\text{g/L}$ y 2.78 – 5.4 $\mu\text{g/L}$ respectivamente. Se analizaron muestra reales provenientes de 8 puntos de muestreo de los canales de Xochimilco divididos en 4 zonas: urbana, transición, con uso de agroquímicos (invernaderos) y libre de agroquímicos (orgánica). El método fue satisfactoriamente aplicado y se encontraron concentraciones de DIA y DEA solamente en dos puntos: 14.65 $\mu\text{g/L}$ y 12.02 $\mu\text{g/L}$ para DIA (2 puntos) y de 3.66 $\mu\text{g/L}$ para la DEA (1 punto). El método desarrollado (EFS-CG-*FID*) permite el análisis simultáneo de la ATZ, DEA y DIA en agua superficial, lo que demuestra la aplicabilidad de la EFS en la extracción de contaminante en matrices ambientales cuando se encuentran en concentraciones trazas.

Palabras clave: Materia orgánica, extracción en fase sólida, atrazina, desetilatrizona, deisopropilatrizona, muestras acuosas, canales de Xochimilco, Cd. México

ABSTRACT

A method using solid phase extraction (SPE) was developed. It was followed by gas chromatography using a flame ionization detector (SPE-GC-FID) for the extraction and identification of atrazine (ATZ) and two of its degradation metabolites, deethylatrazine (DEA) and deisopropylatrazine (DIA) in surface water. The extraction procedure using SPE employed two adsorbent phases: octadecyl- C_{18} -silica and polydivinylbenzene-N-vinylpyrrolidone (OASIS HBL), optimizing the variables: sample volume and solvent type and volume. The selection of the adsorbent phase for its application to real matrices was carried out using a factorial design 2^4 evaluating four factors: (A) phase type, (B) solvent type, (C) sample volume, and (D) solvent volume. The identification of each compound was performed comparing the retention times obtained for the standards. The OASIS HBL cartridges were used to evaluate the influence of organic matter in the EFS process. A standard of humic acid was employed in tests varying pH values and organic matter content. The best method was validated using the Pearson correlation coefficient evaluation, the detection limit, the quantification limit, precision, and accuracy in a range of 15 – 60 $\mu\text{g/L}$. The method used gave recovery values between 97-109% for DIA, 90-102% for DEA, and 87-100% for ATZ with precision (%VC) values of less than 2%. The methodology SPE-CG-FID rendered a suitable linearity for each compound with r values of 0.992 for DIA, 0.995 for DEA, and 0.996 for ATZ. The detection and quantification limits were between 2.24 – 2.8 $\mu\text{g/L}$ y 2.78 – 5.4 $\mu\text{g/L}$. Real samples were analyzed. These came from 8 points from Xochimilco's Channels (Mexico City) in 4 zones: urban, transition, greenhouses using agrochemicals, and organic agriculture. The method was applied satisfactorily. Only in two points were found DIA and DEA. Concentrations found were 14.65 $\mu\text{g/L}$ and 12.02 $\mu\text{g/L}$ for DIA (2 points), and 3.66 $\mu\text{g/L}$ for DEA (1 point). With the developed method (SPE-CG-FID) the simultaneous analyses of ATZ, DEA, and DIA in surface water is possible, demonstrating the applicability of SPE for the extraction of these pollutants from environmental matrices when these are in trace concentrations.

Key Words: Organic matter, solid phase extraction, atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, aqueous samples, Xochimilco channels, Mexico City

CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas ha jugado un papel importante en la calidad de los cultivos y en la producción de alimentos desde su introducción en el mercado. Sin embargo, su uso descontrolado y excesivo ha inducido al deterioro de la mayoría de los suelos utilizados en la agricultura y sus ecosistemas, creando una problemática ambiental de gran interés y preocupación a nivel mundial (Herrero-Hernández *et al.*, 2013; Palma *et al.*, 2014).

Los plaguicidas de la familia de las triazinas; como la atrazina, son utilizados en cultivos de hojas grandes como el maíz, el sorgo, el trigo, entre otros (Hansen *et al.*, 2013; WHO, 2011), por lo que es común encontrar la presencia de este compuesto y sus metabolitos de degradación en cuerpos de agua superficial, subterránea y en sedimentos (Amaral *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2003; Segura *et al.*, 2011; WHO, 2011).

La atrazina es considerada actualmente como un contaminante emergente al que se requiere darle seguimiento en los cuerpos de agua, ya que algunas investigaciones demuestran su función como disruptor endocrino en peces y anfibios (Hayes *et al.*, 2002; WHO, 2011) y es clasificada como un posible generador de cáncer en los seres humanos (Caballero *et al.*, 2016a).

La determinación de compuestos orgánicos en matrices ambientales requiere de una etapa de preconcentración antes del análisis cromatográfico ya que en la mayoría de los casos estos compuestos son encontrados en el ambiente en concentraciones trazas (Caballero *et al.*, 2016b). Las técnicas de preparación de muestras más utilizadas para el análisis de herbicidas triazínicos en matrices acuosas incluye: extracción líquido-líquido (ELL), extracción en fase sólida (EFS y *SPE* por sus siglas en inglés), microextracción en fase sólida (MEFS y *SPME* por sus siglas en inglés) (Price y Kelton, 2013). Recientemente, las tendencias a desarrollar procesos que sean amigables con el ambiente ha llevado al desarrollo de metodologías de preparación de muestras donde el consumo de disolventes se ve reducido (De Oliveira-Arias *et al.*, 2014) y, por tanto, mejoran los límites de detección al tener un extracto más concentrado.

Las técnicas de extracción miniaturizadas presentan una gran ventaja al momento de extraer analitos en concentraciones trazas en muchas matrices. La EFS es considerada hoy en día uno de los métodos de extracción por excelencia debido, a que permite la obtención de extractos limpios y concentrados para su posterior análisis por cromatografía (Moldoveanu, 2015; Pawliszyn, 2012). Sin embargo, cuando se aplica la EFS para extraer pesticidas en muestras de aguas naturales con altos contenidos de materia orgánica se necesita investigar la selectividad, idoneidad y eficiencia del adsorbente frente a los analitos a extraer ya que, pueden ocurrir interacciones químicas y físicas entre los pesticidas y la materia orgánica que afectan la eficiencia de la técnica (Poerschmann *et al.*, 1997; Senseman *et al.*, 1995; Sturm *et al.*, 1998; Warren *et al.*, 1991).

La matriz inicial juega un papel muy importante en la elección del método de extracción debido a que sus componentes pueden interactuar con el analito de interés y disminuir la eficiencia del método seleccionado (Li y Lee, 2011; Li y Minor, 2015; Urruty y Montury, 1996).

Debido a esto, esta investigación estudió la influencia de la materia orgánica en el proceso de extracción en fase sólida de la atrazina y dos de sus metabolitos: desetilatrazina, deisopropilatrazina; comparando la eficiencia de la extracción utilizando dos fases adsorbentes: Octadecil ligada a sílice (C_{18}) y poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona (Oasis HBL). Se realizó un diseño experimental para optimizar la metodología evaluando las principales variables del proceso (tipo de adsorbente, volumen de muestra, volumen y tipo de disolvente) y la validación de la metodología que sea seleccionada con el propósito de aplicar el método en la determinación de la atrazina y sus metabolitos de degradación en muestras de agua superficial provenientes de los canales de la zona lacustre de Xochimilco en la Ciudad de México. Cabe destacar que esta zona de estudio es considerada como Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO.

1.2. OBJETIVOS

General:

Evaluar la influencia de la materia orgánica (MO) en la extracción en fase sólida (EFS) de la atrazina (ATZ) y dos de sus metabolitos: desetilatrazina (DEA) y deisopropilatrazina (DIA) en muestras acuosas.

Específicos:

- Diseñar un método analítico para la extracción, determinación y cuantificación de manera conjunta a la atrazina, la desetilatrazina y la deisopropilatrazina en muestras acuosas aplicando la extracción en fase sólida y la cromatografía de gases con detector de fotoionización de flama (CG-FID)
- Comparar el porcentaje de recuperación de la ATZ, DEA y DIA en las diferentes fases adsorbentes evaluadas: Octadecil ligada a sílice y el polímero poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona
- Validar la metodología propuesta
- Evaluar los compuestos de interés en muestras reales provenientes de 8 puntos seleccionados en los canales de Xochimilco, tomando en cuenta el contenido de materia orgánica en cada uno de ellos
- Evaluar la estabilidad de los compuestos una vez retenidos en cada una de las fases.

1.3. Hipótesis

La materia orgánica representada por los ácidos húmicos interfiere en la selectividad, idoneidad y eficiencia de la extracción de la atrazina y sus principales metabolitos cuando se emplea la extracción en fase sólida como técnica de preparación de muestras en el análisis de agua superficial.

1.4. Alcances

La presente investigación se limita al diseño y optimización de un método analítico para la determinación de la atrazina y dos de sus metabolitos de degradación: desetilatrazina y deisopropilatrazina utilizando la extracción en fase sólida en muestras de agua sintéticas para su posterior aplicación en la determinación de estos contaminantes en el sistema de canales de Xochimilco, Ciudad de México. Así mismo, se evalúa la influencia de la materia orgánica en la recuperación de los compuestos utilizando ácidos húmicos como solución estándar. El estudio se realiza a nivel de laboratorio mediante ensayos con muestras sintéticas variando la concentración de ATZ, DIA, DEA y materia orgánica. Solamente se aplicó el método desarrollado en ocho muestras puntuales de los canales de Xochimilco para ver si el método era adecuado para su propósito.

CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. PLAGUICIDAS

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier tipo de plaga o enfermedades que afecten directamente la producción y obtención de alimentos, animales o flores de alta calidad comercial (De Gerónimo *et al.*, 2014; FAO, 2014). El destino ambiental de los plaguicidas es muy complejo, por lo que después de su aplicación estos pueden desplazarse a través del aire y el agua hasta regiones lejanas de su fuente original, donde pueden ser retenidos por algunos organismos vivos, incluidos los seres humanos; hasta alcanzar concentraciones perjudiciales para la salud y para el equilibrio de los diferentes ecosistemas naturales (PNI, 2007).

Cabe resaltar que no sólo los plaguicidas causan efectos adversos en el ambiente; muchas veces las impurezas que contienen (las dioxinas en los herbicidas) ocasionan una problemática ambiental asociada al uso no moderado de estas sustancias en manos de personas que no cuentan con el entrenamiento adecuado. Otro problema radica en la falta de aplicación de la legislación existente en los lugares donde son aplicados (Laxma Reddy y Kim, 2015; Lintelmann *et al.*, 2003; Mostafalou y Abdollahi, 2012; Palma *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2013).

Los plaguicidas pueden clasificarse de varias maneras: en función del propósito con el que son usados (organismo que se desea eliminar), según la estructura química del compuesto y/o por su grado de toxicidad (Laxma Reddy y Kim, 2015). La clasificación más aceptada respecto a los plaguicidas es la que tiene en cuenta el organismo al que va dirigida la acción de control. Dentro de esta clasificación se encuentran los insecticidas, fungicidas, herbicidas, alguicidas, rodenticidas, entre otros (Palma *et al.*, 2014). En la Tabla 1 se puede ver de manera más detallada la clasificación de los plaguicidas siguiendo este patrón de clasificación.

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas (CICOPLAFEST, 2004)

CLASE	USO	GRUPO QUÍMICO	EJEMPLOS
Insecticidas	Control de artrópodos	Organoclorados Organofosforados Carbamatos Piretroides	DDT Malatión Carbofurán Aletrina
Fungicidas	Control de hongos y levaduras	Organomercuriales Ditiocarbamatos Clorofenoles Nitrofenoles	Binapacril Mancozeb Clorotalonil
Herbicidas	Control de hierba y maleza	Fenoxiacéticos Carbamatos Triazinas Dinitroanilinas	CMPP Profam Atrazina Simazina

Tabla 1. Continuación

CLASE	USO	GRUPO QUIMICO	EJEMPLOS
Rodenticidas	Controlan ratas y roedores	Arsenicales Tioureas Hidroxicumarinas	Arsenito de sodio Promurit Difenacum
Molusquicidas	Control de moluscos	Carbamatos	Metiocarb

Los mecanismos de transporte ambiental de los plaguicidas explican su distribución en el ambiente desde la fuente emisora hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano. La distribución de los plaguicidas en el ambiente (Figura 1) involucra los movimientos de los gases, líquidos y partículas sólidas dentro de un ambiente determinado y a través de las interfaces entre el aire, el agua, sedimento, suelo, plantas y animales (Barbash, 2014; Delcour *et al.*, 2014).



Figura 1. Distribución de los plaguicidas en el ambiente (Martínez-Pérez, 1996)

Los estudios sobre los mecanismos de degradación de los plaguicidas en el ambiente permiten determinar la velocidad con la que estos compuestos se degradan y a la vez identificar la manera como afectan las diferentes esferas ambientales y a los organismos que no son considerados como objetivo; ya que estos tienden a bioacumularse en las cadenas tróficas y pueden persistir en el ambiente durante periodos muy prolongados (Aranguré *et al.*, 2011). Al ser aplicados, los plaguicidas sufren una serie de procesos que definen su destino en el ambiente (Figura 2), siendo la degradación biológica y química, los procesos predominantes (Holvoeta *et al.*, 2007; La Farré *et al.*, 2008).

Dichos procesos pueden llevar a una completa mineralización de los compuestos o a la formación de productos de degradación (metabolitos primarios y secundarios) que pueden

ser igual o más tóxicos que el compuesto inicial y con niveles de concentraciones ambientales incluso más elevadas (Richardson, 2008).

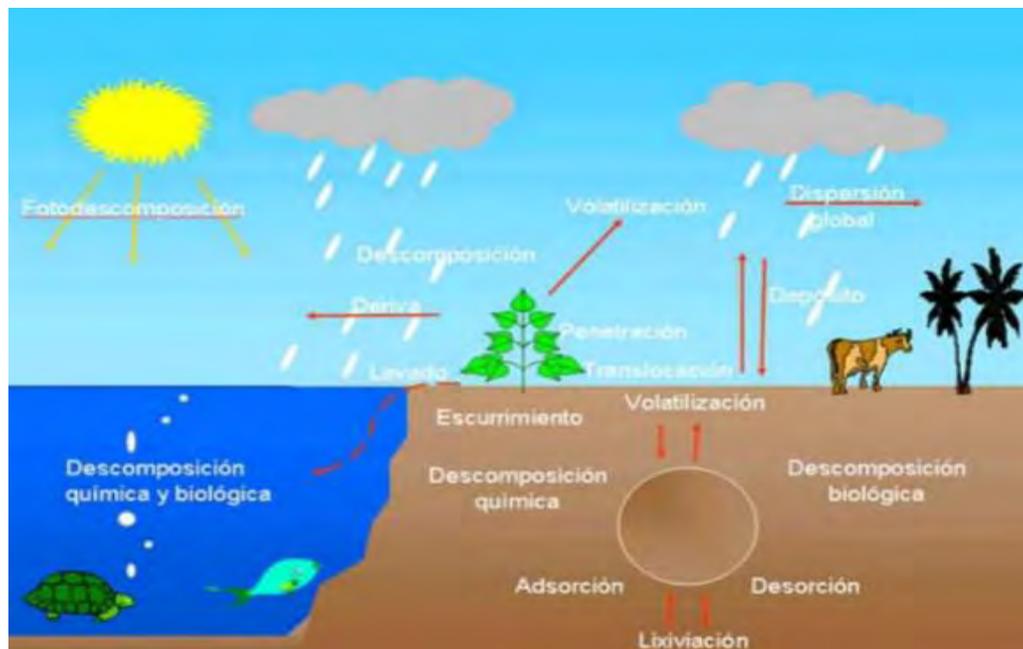


Figura 2. Transporte de los plaguicidas en el ambiente (INECC, 2015b)

2.1.1. Efectos de los plaguicidas en la salud

El uso de plaguicidas representa un riesgo para los seres humanos debido a que son creados y utilizados para controlar y eliminar plagas; sin embargo, muchas veces la exposición (individual o combinada a través del aire, suelo, agua y alimentos) a estas sustancias es ignorada por tratarse de concentraciones pequeñas (INECC, 2015a).

Los agricultores y las personas del entorno están expuestos a los plaguicidas en muchas situaciones u operaciones relativas que involucran el uso de plaguicidas. Por ejemplo (OMS, 2004):

- Mezclado/carga
- Aplicación
- Venta, transporte y almacenamiento
- Mantenimiento de equipos de fumigación
- Reingreso al área tratada
- Derrames
- Eliminación

Las vías principales por las cuales los plaguicidas pueden ingresar al organismo son: por la piel (absorción cutánea), la nariz (inhalación), la boca (ingestión) y ojos (Niño, 2010; OMS, 2004). Al ser solubles en grasas, se pueden acumular en los tejidos adiposos de los mamíferos para luego biomagnificarse aumentando en cientos o miles de veces su concentración, a medida que van subiendo en la cadena alimenticia (Cejudo *et al.*, 2012).

El contacto con los plaguicidas a largo plazo puede perturbar la función de los diferentes órganos del cuerpo, incluyendo el sistema nervioso, endocrino, inmunológico, reproductivo, renal, cardiovascular, respiratorio (Mostafalou y Abdollahi, 2012). Hay evidencia científica que asocia la exposición a los plaguicidas con enfermedades crónicas como: el cáncer, el Parkinson, el Alzheimer, la esclerosis múltiple, la diabetes entre otras (Baltazar *et al.*, 2014; Gauthier *et al.*, 2001; Karam *et al.*, 2004; Waliszewski *et al.*, 2003; Zuñiga *et al.*, 2012).

2.1.2. Plaguicidas en agua

La liberación de aguas residuales sin tratamiento previo en lagos y ríos, el vertido de residuos industriales y la escorrentía proveniente de los campos dedicados a la agricultura y que son tratados con plaguicidas constituyen hoy en día la mayor fuente de contaminación de las aguas dulces. Cuando los plaguicidas se utilizan a escala masiva, pueden contaminar los acuíferos y provocar la contaminación del agua para consumo humano (OPS, 2000).

Las aguas pueden contaminarse con plaguicidas por medio de la aplicación directa de sustancias, el arrastre directo desde suelos fumigados, las fumigaciones aéreas, lluvias y por vertidos industriales. Las aguas superficiales situadas en las zonas aledañas a las áreas agrícolas son más vulnerables a la contaminación con plaguicidas (OPS, 2000). Debido a esto, surge la principal preocupación ya que la mayoría de estos cuerpos de agua son destinados al consumo humano y además se ha demostrado que la contaminación de las aguas superficiales puede tener efectos ecotoxicológicos para la flora y fauna acuáticas (Magnusson *et al.*, 2013). Algunos autores han reportado la presencia de plaguicidas en ríos y aguas subterráneas en diferentes lugares del mundo (Holvoeta *et al.*, 2007; Lintelmann *et al.*, 2003; Mostafalou y Abdollahi, 2012; Palma *et al.*, 2014).

Las aguas subterráneas son propensas a la contaminación por los plaguicidas que no se fijan a los suelos, como sucede con el alaclor, el aldicarb, la atrazina, la bentazona, el carbofurano, el isoproturón, el dibromuro de etileno, y la simazina. En muchos acuíferos, los niveles de estas sustancias superan los recomendados por la OMS (OPS, 2000).

Actualmente hay estudios que indican la presencia de plaguicidas y sus productos de transformación en aguas superficiales, residuales, sedimentos y peces (Aranguré *et al.*, 2011; Hernández y Hansen, 2011). Se ha reportado la presencia de plaguicidas organofosforados y triazinas en mayor abundancia (De Gerónimo *et al.*, 2014; Kuranchie-Mensah *et al.*, 2012; Meffe y De Bustamante, 2014; Palma *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2013).

2.2. ATRAZINA

La atrazina (2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina) es el compuesto más conocido del grupo de los herbicidas triazínicos (Jablonowski *et al.*, 2011). Su aplicación, al igual que la de sus metabolitos está prohibida en los países de la Unión Europea y en los Estados Unidos la USEPA tiene controlado su forma de aplicación (USEPA, 2015).

Su uso como herbicida se centra en los cultivos de hojas anchas y gramíneas como el maíz, sorgo, caña de azúcar, piña, césped y huertos (Hansen *et al.*, 2013; USEPA, 2015). Debido a sus propiedades fisicoquímicas como la elevada solubilidad en agua, baja adsorción en el suelo y la alta persistencia en el ambiente, está vinculada a muchos problemas ambientales de contaminación y con daños endocrinos en peces y anfibios (Benotti *et al.*, 2009; USEPA, 2015).

La atrazina ha dado lugar a una contaminación generalizada en aguas subterráneas y superficiales al igual que en la atmósfera (Graymore *et al.*, 2001; Rodríguez-González *et al.*, 2013). Una vez que la atrazina entra en el ambiente sufre una serie de procesos que llevan a su descomposición originando productos de degradación (Figura 3 y Tabla 2) mucho más tóxicos como los es la desetilatrazina (DEA) y deisopropilatrazina (DIA).

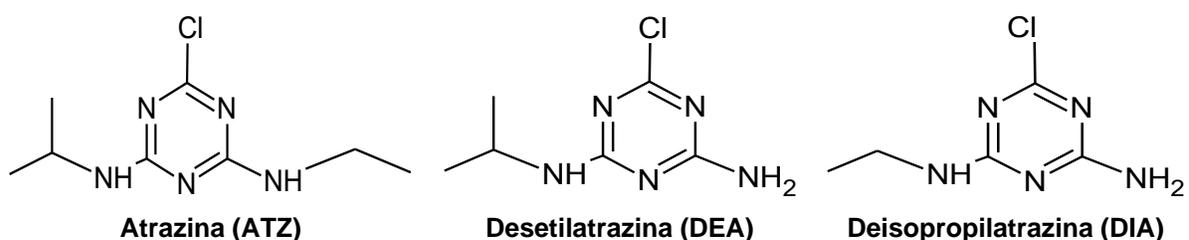


Figura 3. Estructura química de la atrazina, desetilatrazina y deisopropilatrazina

Tabla 2. Propiedades químicas y físicas de los compuestos de estudio

Nombre/Fórmula molecular	Atrazina (2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina)	Desetilatrazina (2-cloro-4-amina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina)	Deisopropilatrazina (2-cloro-4-amina-6-etilamina-1,3,5-triazina)
Fórmula molecular	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	C ₆ H ₁₀ ClN ₅	C ₅ H ₈ ClN ₅
Número CAS	1912-24-9	6190-65-4	1007-28-9
Masa* molecular	215.68 g/mol	187.63 g/mol	173.60 g/mol
Punto de ebullición	368.5 ± 25 °C a 1 atm	389.6 ± 25 °C a 1 atm	397.6 ± 25 °C a 1 atm
Punto de fusión	175-177 °C	133 °C	177-179 °C
Densidad	1.23 g/mL a 22 °C	1.377 g/mL a 20 °C	1.455 g/mL a 20 °C
pKa	2.27 ± 0.10 a 25 °C	3.79 ± 0.10 a 25 °C	3.85 ± 0.10 a 25 °C

*Masa y peso no son sinónimos (Anónimo, 2016)

La atrazina y sus principales metabolitos de degradación se dispersan en el ambiente y pueden persistir por muchos años (Kovacic y Zupancic-Kralj, 2006). Su persistencia bajo condiciones frías y secas y a pH neutro ha llevado a que algunos países de clima frío con suelos de textura fina, como Suecia, prohíban el uso de la atrazina (Graymore *et al.*, 2001).

La atrazina está incluida en el anexo del Convenio de Estocolmo como contaminante orgánico persistente (COP); convenio firmado por México en 2001 y que entró en vigencia el 17 de mayo de 2004 (SEMARNAT, 2016). La norma mexicana NOM-127-SSA-1994 (ITVER, 2016) que define los límites de calidad y algunos de los procesos de tratamientos a los que debe someterse el agua para su potabilización, incluye la concentración de algunos plaguicidas como parámetro de calidad; sin embargo, la atrazina aún no es considerada en esta normativa a pesar de que en otros países su uso ya ha sido prohibido debido a su gran toxicidad.

La atrazina y sus metabolitos siempre se encuentran a niveles de trazas en el ambiente. En los EE.UU., el límite permitido para la atrazina en agua para consumo humano es de 3 µg/L (USEPA, 2003), mientras que la Unión Europea fijó límites de 0.1 µg/L y la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera una concentración de 2 µg/L para la ATZ y de 100 µg/L para la ATZ y sus metabolitos (EFSA, 2015).

Debido a las bajas concentraciones permitidas para la atrazina por los diferentes entes reguladores se hace necesario el desarrollo de metodologías analíticas que permitan obtener extractos a partir de matrices ambientales con una concentración alta y así, poder asegurar un buen análisis al aplicar métodos de separación (cromatografía de gases o líquidos) acoplados a detectores como el de ionización de flama (*FID*), y de espectrometría de masas (EM).

Anteriormente, la extracción líquido-líquido era la técnica analítica que más se utilizaba en la preparación de muestras para análisis cromatográfico; sin embargo, con la inclusión de la química verde y de la idea del desarrollo de procesos amigables con el ambiente, la extracción en fase sólida empezó a remplazar la extracción líquido-líquido convirtiéndose así en una de las técnicas de preparación de muestras más empleadas en la preconcentración de analitos en muestras acuosas. La atrazina puede ser recuperada utilizando adsorbentes convencionales como la fase C₁₈; sin embargo, la alta polaridad de sus metabolitos puede llevar a porcentajes de recuperación muy pobres (Min *et al.*, 2008).

2.3. Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida (EFS) es una de las técnicas de preparación de muestras para análisis cromatográfico más conocidas en el ámbito ambiental debido a que es muy útil al momento de extraer contaminantes en concentraciones traza de matrices acuosas, concentrar analitos y limpiar extractos antes de su análisis (Hurtado-Sánchez *et al.*, 2013; Pawliszyn, 2012).

La extracción en fase sólida consiste en cargar una solución (muestra) en una cantidad pequeña de un compuesto químico en estado sólido, que por lo general se encuentra contenido en unas pequeñas columnas o discos, conocidos como cartuchos que son capaces de adsorber o retener compuestos de una polaridad específica para luego ser desorbidos del adsorbente con un disolvente afín a su polaridad, para su posterior análisis por cromatografía de gases o cromatografía de líquidos (Andrade-Eiroa *et al.*, 2015a).

Estos cartuchos son colocados en un colector a vacío en el que se lleva a cabo el proceso de extracción (Figura 4). Sin embargo, la mayoría de las metodologías que se desarrollan por EFS no llevan un proceso de optimización con anterioridad, por lo que en muchos casos no se hace énfasis en las implicaciones teóricas de la técnica (principios químicos de afinidad, volumen de fuga, volumen óptimo de disolvente) y la mayoría de los ensayos se realizan por prueba y error proporcionando porcentajes de eficiencia muy bajos (Andrade-Eiroa *et al.*, 2015a).

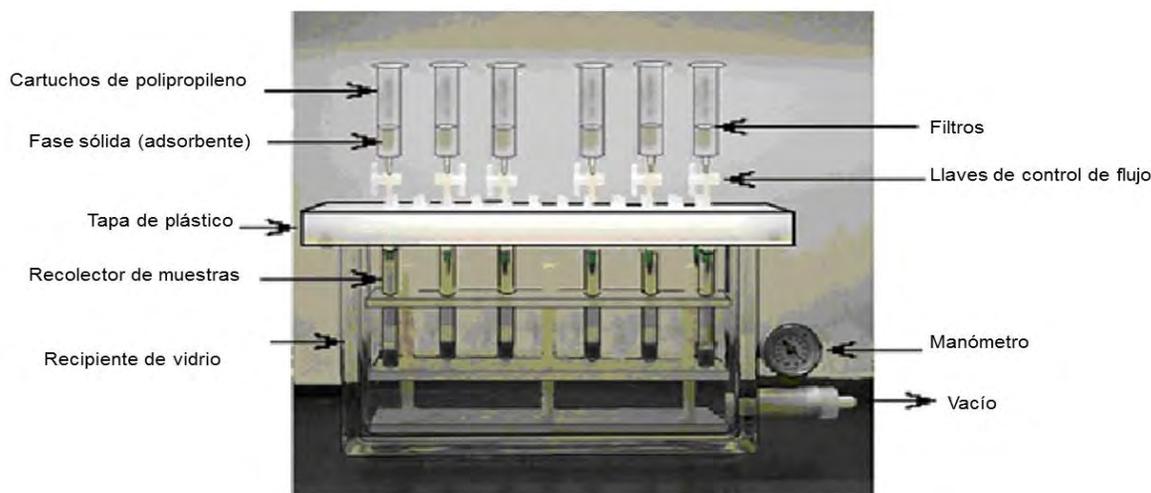


Figura 4. Sistema utilizado para la extracción en fase sólida (Moldoveanu, 2015)

La eficiencia de la EFS depende de algunos parámetros que deben ser optimizados hasta alcanzar la mayor recuperación de los analitos (Moldoveanu, 2015). Estos parámetros se enlistan a continuación:

- **Tipo y cantidad de la fase adsorbente:** la elección de la fase es fundamental para la recuperación de los analitos. La EFS puede ser una técnica selectiva para un grupo determinado de compuestos siempre y cuando se trabaje en las condiciones adecuadas (Andrade-Eiroa *et al.*, 2015b).

- **Capacidad del cartucho (volumen de fuga):** el volumen de fuga es uno de los aspectos operacionales de la EFS que más influencia tiene en la eficiencia del proceso. Al trabajar con un adsorbente que contiene sitios activos en los que se lleva a cabo la retención de uno o varios analitos, es necesario y de gran importancia conocer el volumen de muestra máximo que puede pasarse por el cartucho sin ocasionar una saturación de los sitios activos del adsorbente y así poder asegurar la retención de los compuestos a lo largo de todo el proceso (Wells, 2003).
- **Volumen y tipo de disolvente para la desorción de los analitos:** este es el factor más influyente al momento de desarrollar un método específico para una familia de compuestos. El disolvente elegido debe romper la atracción producida entre el analito y la fase sólida, debe ser lo suficientemente fuerte para desorber toda la cantidad del analito que se encuentra retenida y así usar la menor cantidad posible para obtener un extracto concentrado, consideración especial cuando se trabaja con concentraciones traza.
- **Aspectos operacionales de la EFS:** entre los aspectos operacionales que involucra la EFS, el más importante es el flujo (mL/min) con el que se pasa la muestra a través del cartucho. La adsorción de los analitos por parte de la fase sólida requiere de un tiempo de equilibrio, por lo que se recomienda trabajar a un flujo constante entre los 5 y 10 mL/min. Otro aspecto importante es el tratamiento previo de la muestra; en algunos casos es necesario ajustar el pH de la muestra para aumentar la afinidad entre la fase y el analito, si la muestra tiene sólidos suspendidos se recomienda una etapa previa de filtrado o centrifugación (Moldoveanu y David, 2015).

El procedimiento de preparación de muestras por medio de la EFS consiste en una serie de pasos con una gran importancia en la eficiencia del proceso (Moldoveanu, 2015; Pawliszyn, 2012).

Los pasos a seguir se mencionan a continuación:

1. **Acondicionamiento del cartucho:** consiste en activar la fase adsorbente dependiendo de su afinidad con el agua, se recomienda usar de 2 a 4 veces el volumen de capacidad del cartucho. En esta etapa es importante eliminar las impurezas que pueda contener el cartucho, por lo que se hace uso de disolventes orgánicos para producir el arrastre.
2. **Carga de la muestra:** en esta etapa se procede a pasar por el cartucho el volumen seleccionado de la muestra. Para obtener una máxima eficacia de retención de los analitos se hace necesario controlar el caudal de la muestra (mL/min), se recomienda trabajar a una velocidad de flujo lenta para que los analitos puedan alcanzar un equilibrio con la fase y así favorecer el proceso de retención (Min *et al.*, 2008). El volumen de la muestra es una variable que en el método de extracción en fase sólida puede conducir a porcentajes de

recuperación bajos o a una saturación del adsorbente si se manejan cantidades de muestra no optimizadas.

3. **Lavado:** la etapa de lavado permite eliminar cualquier interferencia causada por la matriz. En esta etapa es importante conocer la afinidad de los analitos con el disolvente a utilizar de tal manera que se pueda evitar que estos sean eluidos junto con las interferencias. En la mayoría de los casos se utiliza agua tipo I para realizar el lavado de los cartuchos.

4. **Secado:** con la finalidad de mejorar el rendimiento de la extracción se hace circular aire a través de la columna durante 2 a 10 minutos (Moldoveanu y David, 2015) y en otros casos se puede usar centrifugación (Li y Lee, 2001).

5. **Elución:** se utiliza un solvente con una alta afinidad por los analitos con tal de desorber el 100% de los analitos retenidos en la fase. Se requiere utilizar un volumen pequeño de solvente con tal de asegurar un factor alto de concentración.

En la Figura 5 se puede observar una esquematización de los pasos que implica el proceso de extracción.

Los materiales usados como adsorbentes en la EFS se pueden clasificar basándose en la naturaleza del material adsorbente (Moldoveanu, 2015):

- Materiales inorgánicos porosos
- Materiales inorgánicos porosos unidos a una superficie orgánica
- Polímeros orgánicos sintéticos
- Polímeros orgánicos naturales
- Otros materiales

Estos materiales son muy similares a los usados como fase estacionaria en cromatografía; sin embargo, difieren en el tamaño de partícula del adsorbente, siendo más grandes en los cartuchos para EFS que en las columnas cromatográficas (Moldoveanu, 2015).

Los adsorbentes utilizados en la EFS solamente se emplean en un solo procedimiento de extracción y luego son desechados, pero, en algunos casos, estos cartuchos pueden ser limpiados y regenerados para próximas extracciones (Hurtado- Sánchez *et al.*, 2013; Moldoveanu, 2015).

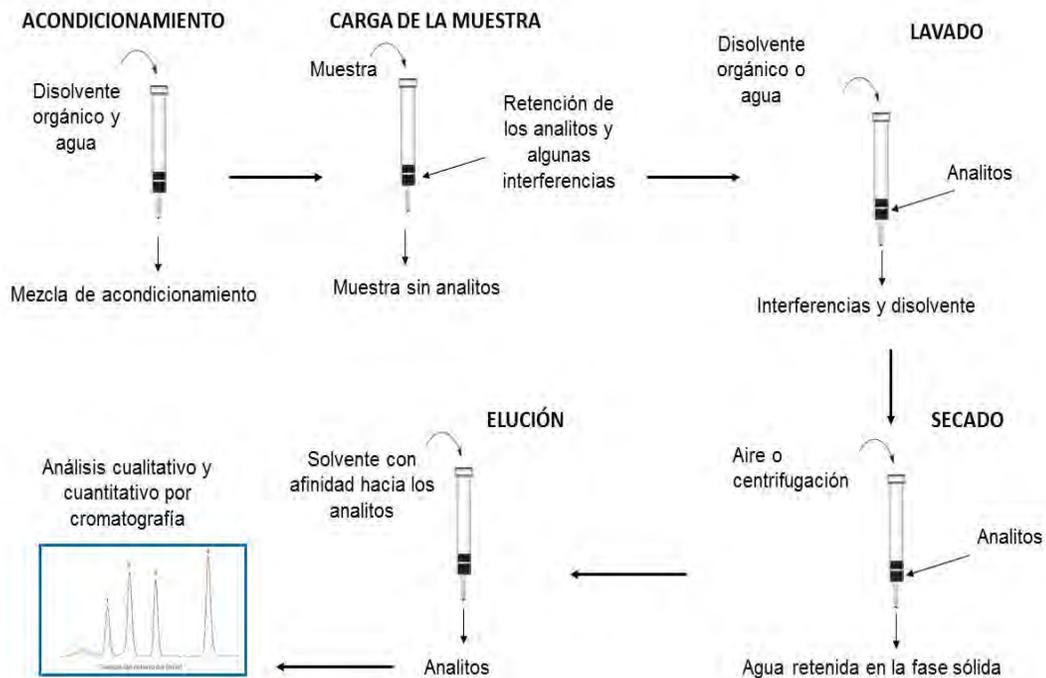


Figura 5. Esquema del proceso de extracción (Moldoveanu, 2015)

- **Materiales inorgánicos porosos**

Entre estos materiales se encuentra una diversidad de compuestos químicos. Los que más se utilizan en la EFS son: sílice hidratada, florisil, hidroxiapatita, alúmina (óxido de aluminio), magnesia (óxido de magnesio), zirconia (óxido de zirconio), etc. Estos materiales tienden a ser muy porosos, a tener un carácter polar fuerte y pueden ser usados para la retención de compuestos polares.

- **Materiales inorgánicos porosos unidos a una superficie orgánica**

La sílice es la fase sólida que más se utiliza de los materiales inorgánicos porosos. Puede ser usada sin realizarle modificaciones químicas, sin embargo, en el mercado puede ser encontrada en forma modificada con cadenas de grupos alquilo. Estos grupos alquilo tienen longitud variable y un ejemplo de ello, son las fases C₈ (octilo ligado a sílice) y C₁₈ (octadecilo ligado a sílice).

La sílice es un sólido amorfo, poroso que contiene grupos polisiloxanos (Si-O-Si) y grupos silanoles (Si-OH) que le permiten a los sitios activos del adsorbente retener compuestos polares y una superficie débilmente ácida (Winefordner, 2003). La sílice (Figura 6) está unida

covalentemente a un grupo alquilo por un proceso de derivatización química (Moldoveanu, 2015).

Entre las fases sólidas más utilizadas se encuentra la sílice C₁₈, en la cual los solutos apolares son retenidos con gran facilidad; sin embargo, en el caso de los analitos con polaridad media o baja los porcentajes de recuperación han sido menores al 100% (Pichon *et al.*, 1996).

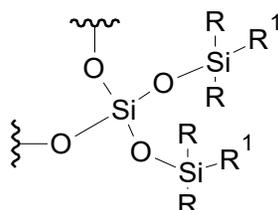


Figura 6. Estructura química de un adsorbente inorgánico unido a una superficie orgánica. Ejemplo, Sílice

- **Polímeros orgánicos sintéticos**

Los adsorbentes poliméricos se introdujeron en la EFS con la finalidad de proporcionar una mayor variedad en la aplicación de la EFS ya que antes de su aparición la mayoría de los métodos desarrollados eran para determinar compuestos polares.

El primer polímero sintetizado fue el poliestireno divinilbenceno (*SDB*, *SDVB* o *PSDB*) (Winefordner, 2003). Contaba con la ventaja de ser 100% orgánico, estable en todo el rango de pH y con atracciones predecibles hacia cierto tipo de compuestos debido a la ausencia de los grupos silanoles presentes en la sílice (Figura 7). El SDB posee una selectividad diferente a la C₁₈, ya que los anillos aromáticos y el grupo vinilo le otorgan una estructura química con propiedades diferentes proporcionándole la capacidad de retener compuestos más polares (Andrade-Eiroa, 2015a).

La versión mejorada del polímero SDB es la fase contenida en los cartuchos OASIS HBL, introducida en 1996 por Waters Corporation. Este adsorbente es un polímero sintético de divinilbenceno y N-vinilpirrolidona. Las letras HBL significan balance hidrofílico-lipofílico (Waters, 2016b). Ha demostrado tener muchas aplicaciones en la EFS ya que es capaz de retener compuestos polares y no polares. Algunos autores reportan que el componente hidrofílico confiere una buena humectabilidad a la resina y una tasa mucho más rápida de

transferencia de masa de la fase acuosa, mientras que la parte lipofílica proporciona una retención de fase inversa de analitos.

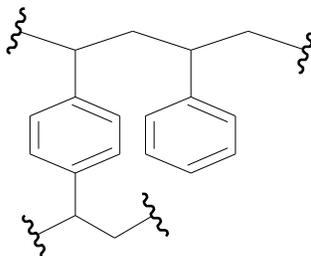


Figura 7. Estructura química del polímero SDB

Los materiales hidrofílicos-lipofílicos están diseñados para retener compuestos en un rango amplio de polaridades y son estables en todo el rango de la escala de pH (Huck y Bonn, 2000; Rodríguez-Mozaz *et al.*, 2007; Waters, 2016a).

- **Polímeros orgánicos naturales**

Los polímeros orgánicos naturales que se utilizan con frecuencia en la EFS son el almidón, la celulosa y la quitosana (Arias *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2016). Con respecto a la quitosana, ésta presenta características químicas: gran área superficial, biocompatibilidad, biodegradabilidad, facilidad de regeneración de la superficie, hidrofobicidad, capacidad de adsorción (Cao *et al.*, 2015; Peng *et al.*, 2016); que la hacen un adsorbente alternativo en la técnica de extracción en fase sólida (Naing *et al.*, 2016).

La variedad de fases sólidas que existe en el mercado ha ayudado a que la EFS siga siendo la técnica de preparación de muestras que más se utiliza para el análisis ambiental de trazas en matrices acuosas. Respecto a la atrazina, ésta ha sido extraída de muestras de agua superficial utilizando la EFS y diferentes fases adsorbentes. Min *et al.* (2008) aplicaron la extracción en fase sólida y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para extraer ATZ, DEA y DIA con nanotubos de carbono como adsorbente en muestras de agua y suelos obteniendo porcentajes de recuperación en un rango de 72.27 – 109.68%. Rodríguez-González *et al.* (2013) desarrollaron un método utilizando la EFS combinada con cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) para extraer de agua superficial nueve herbicidas triazínicos incluidos la atrazina, utilizando cartuchos con fase adsorbente de poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona (Oasis HBL) obteniendo recuperaciones del 93%. Amaral *et al.* (2014) utilizaron la EFS y la espectroscopía electrónica para cuantificar ATZ, DEA y DIA en muestras de agua, para lo cual utilizaron cartuchos de C₁₈ obteniendo porcentajes de recuperación de los analitos de 83 al 116%.

2.4. MATERIA ORGÁNICA

En la selección de un método de preparación de muestras adecuado para el análisis cromatográfico, se requiere conocer la naturaleza y las características físicas y químicas de la matriz donde se encuentran los analitos (Stashenko y Martínez, 2011). Cada matriz difiere en sus componentes y en muchos casos la eficiencia de la técnica seleccionada depende del control que se les dé a las interferencias presentes en cada matriz con el fin de lograr una recuperación total de los analitos en el extracto final (Stashenko y Martínez, 2011; Moldoveanu, 2015).

La materia orgánica es uno de los principales componentes de las aguas superficiales. Es una mezcla de algunos heteroátomos (oxígeno, nitrógeno, fósforo) y de sustancias orgánicas donde los ácidos húmicos y fúlvicos predominan. La presencia de la materia orgánica en las aguas superficiales, ríos y lagos está relacionada con las características del suelo y los restos de materiales vegetales (Zhang *et al.*, 2010).

Las sustancias húmicas son los principales constituyentes del humus (materia orgánica del suelo) y precursores potenciales de combustibles fósiles. En los sistemas acuáticos la materia orgánica actúa como filtro solar, fuente de alimentos, quelante de metales, fotosintetizador y constituye uno de los reservorios más grande de carbón orgánico en la Tierra (Li y Minor, 2015; Zhang *et al.*, 2010).

El contenido de materia orgánica en aguas superficiales expresada en concentración de ácidos húmicos comúnmente es de 1-5 mg/L y en algunos casos puede exceder los 10 mg/L. Algunos autores reportan concentraciones de materia orgánica entre 1.6 mg/L y 3.1 mg/L (Lee *et al.*, 2015).

Debido a que la materia orgánica constituye una de las reservas más grandes de carbono en los ecosistemas, en los últimos años se ha impulsado la investigación de su composición química con la finalidad de entender su participación en el ciclo del carbono (Hansell y Carlson, 2015a). La EFS ha sido utilizada para extraer materia orgánica de agua de ríos y lagos para su posterior caracterización por técnicas infrarrojas (Hansell y Carlson, 2015b).

Li *et al.* (2016) lograron retener materia orgánica de aguas naturales usando el adsorbente sólido estireno-divinilbenceno y la extracción en fase sólida. La recuperación del carbono orgánico fue del 89%.

Sin embargo, al momento de aplicar la EFS para la determinación de contaminantes orgánicos en aguas superficiales la materia orgánica se considera como una posible interferencia en el proceso de extracción, lo que lleva a una disminución de la eficiencia de los procesos. La materia orgánica puede interactuar con los contaminantes orgánicos creando compuestos con estructuras químicas muy complejas y de gran masa molecular (Di

Corcia *et al.*, 1999; Kovacic y Zupancic-Kralj, 2006; Li y Lee, 2011; Pichon *et al.*, 1996; Sturn *et al.*, 1998)

Agbekodo *et al.* (1996) estudiaron la influencia de la materia orgánica en la remoción de atrazina y simazina utilizando nanofiltración. Ellos encontraron que la materia orgánica puede complejarse con este tipo de herbicidas dando lugar a un compuesto con mayor masa molecular lo cual disminuye la eficiencia del proceso de remoción. García-de-Llasera *et al.* (2007) realizaron un estudio para evaluar la influencia que tenían los ácidos húmicos disueltos en agua superficial al momento de realizar la extracción en fase sólida como método de preparación de muestra; encontrando un efecto negativo en el rendimiento de la extracción al momento de tratar compuestos polares como la deisopropilatrazina y desetilatraxina debido a una posible formación de complejos entre los plaguicidas y los ácidos húmicos.

2.5. Caso de estudio: Canales de Xochimilco en la Ciudad de México

La delegación de Xochimilco representa el 7.9% de la superficie del Distrito Federal (INEGI, 2016b). Colinda al norte con las delegaciones de Tlalpan, Coyoacán, Iztapalapa y Tláhuac; al este con las delegaciones de Tláhuac y Milpa Alta; al sur con las delegaciones de Milpa Alta y Tlalpan; al oeste con la delegación Tlalpan (Figura 8).



Figura 8. Localización de la delegación Xochimilco

<http://www.zonu.com/images/500X0/2009-09-17-5232/La-delegacin-de-Xochimilco.gif>

Xochimilco tiene una particular importancia dentro del país debido a la existencia de las chinampas (islas o jardines flotantes)¹. Gracias a las chinampas, la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (*UNESCO*, por sus siglas en inglés: *United Nations Educational Scientific and Cultural Organization*) proclamó el sistema de chinampas como Patrimonio Cultural de la Humanidad en 1987. Sin embargo, esta declaración ha estado en dos ocasiones en peligro debido al deterioro ecológico inducido por el crecimiento de la población (RAMSAR, 2016).

Xochimilco es la región productora de hortalizas y flores más importantes de la Ciudad de México (Legorreta, 2004). Desde el 2 de febrero de 2004 hace parte de la lista RAMSAR (Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como hábitat de aves acuáticas), cuyo objetivo principal es promover la conservación y el uso racional de los humedales. Sin embargo, en la delegación de Xochimilco el deterioro es muy notorio. La causa principal de la pérdida de calidad ambiental se le atribuye a la mala calidad que presenta el agua que conforma sus canales (Díaz-Torres *et al.*, 2013). El uso de agroquímicos como auxiliares en la actividad agrícola que se realiza en las chinampas y zonas urbanas ha originado un problema de contaminación ambiental de gran importancia en el sistema acuático de Xochimilco (Alcántara, 2014).

Según datos publicados por el INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), actualmente Xochimilco cuenta con una población total de 415,007 personas que tienen como actividad primaria las actividades agrícolas de siembra, cosecha de cultivos, producción de flores y maderas (INEGI, 2016b). El sistema de canales de Xochimilco se encuentra dividido en cuatro zonas de acuerdo con el uso que se les da a las chinampas:

- 1) Zona chinampera: la actividad principal es la agricultura tradicional como la realizaban en tiempos prehispánicos (RAMSAR, 2016).
- 2) Zona urbana: la principal actividad que se realiza es la residencial, se encuentran la mayoría de las viviendas que hacen parte del sistema de chinampas.
- 3) Zona turística: también está considerada dentro de la zona urbana, pero la principal actividad está relacionada con el sector turístico.
- 4) Zona mixta: en esta zona se encuentran zonas con una creciente mancha urbana y zonas donde prevalecen las actividades agrícolas.

¹ Palabra de origen náhuatl, de *chinámitl*, tejido de ramas o cañas y *pan*, encima de. "Terreno de corta extensión en los lagos del Valle de México, donde se cultivan legumbres y flores. Originariamente las chinampas se formaban sobre un tepechtle o chinámitl de cañas o ramas cubierto por tierra vegetal, de donde venía la idea de que eran jardines flotantes (Clavijero, 2009). Las chinampas son meramente pequeños islotes ya consolidados y fijos, donde se cultivan hortalizas o jardines pequeños" (Cabrera, 2002)

Los canales de Xochimilco son una especie de humedal permanente que se encuentra en una cuenca cerrada donde no existen mareas y la conexión con el mar u otros cuerpos de agua es nula. La profundidad de los canales varía considerablemente de un lugar a otro, se pueden encontrar algunos sitios con profundidad de 60 cm, y zonas con profundidades entre los 3 a 6 m (RAMSAR, 2016).

Según la ficha informativa acerca de los humedales de la RAMSAR (2016), en Xochimilco se pueden encontrar agua de dos tipos: naturales y de mala calidad. Las aguas naturales son las que se encuentran cerca de las áreas montañosas y que ha recorrido distancias cortas y su flujo es rápido; mientras que las aguas de mala calidad son las que conforman el sistema de canales de la zona lacustre ya que son alimentados en parte con agua tratada y residual, con contenidos de compuestos químicos inorgánicos (sales, metales) y orgánicos (hidrocarburos, grasas, aceites, herbicidas, plaguicidas y desechos químicos producidos por las actividades agrícolas).

Hay estudios que evidencian la presencia de algunos contaminantes orgánicos tanto en agua, suelo y sedimentos de los canales de Xochimilco, Ciudad de México. Chavéz-López *et al.* (2011) y Alcántara (2014) determinaron la presencia de metil paration en el suelo de una chinampa ubicada en la zona agrícola y la presencia de pesticidas organoclorados y organofosforados, respectivamente. Estas referencias indican que en Xochimilco el uso de plaguicidas es evidente, por lo que, es necesario el seguimiento de la calidad del agua que forma al sistema de canales para ayudar y prevenir su deterioro.

CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. Materiales

Las características de los cartuchos utilizados en el proceso de extracción en fase sólida empleados en la realización de este proyecto de investigación, se presentan a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Característica de los cartuchos utilizados en la extracción en fase sólida

Parámetros	Cartuchos 1	Cartuchos 2
Marca	Chromabond C ₁₈	Oasis HBL Waters
Fase	Octadecil- sílice modificada	Poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona
Cantidad de fase/capacidad	500 mg/ 6 mL	200 mg/ 6 mL
Tamaño de poro	60Å	88 Å
Tamaño de partícula	45 µm	33.4 µm

- Sistema de vacío tipo *Manifold*
- Adaptadores para cargar la muestra en los cartuchos
- Material de vidrio Pyrex: matraces aforados de 50, 25 y 5 mL
- Viales para cromatografía Waters de 2 mL y septo de silicona
- Viales con tapón de rosca de 4, 15 y 30 mL
- Frascos Pyrex de 500 mL
- Micropipeta Transferpette Brand de 100- 1000 µL
- Pipetas Pasteur
- Filtros de Nylon de 0.20 µm Sun Sri
- Acrodiscos de Nylon 0.45 µm
- Frascos Pyrex de 500 mL

3.2. Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico

- Metanol HPLC (CAS: 90-93-03, pureza 99.97%) J.T. Baker
- Acetonitrilo HPLC (CAS: 9017-03, pureza 99.9%) J.T. Baker
- Diclorometano (CAS: 75-09-2, Pureza 99.9%) ChromAR
- Deisopropilatrazina (CAS: 1007-28-9, pureza 98.9%) ChemService
- Desetilatrastina (CAS: 6190-65-4, pureza 98.4%) ChemService
- Atrastina (CAS: 1912-24-9, pureza 98.6%) ChemService
- Hidróxido de Sodio (CAS: 1310-73-20, pureza 98.4%) J.T. Baker
- Ácidos húmicos (CAS: 68131-04-4) Sigma Aldrich
- Nitrógeno de alta pureza (pureza: 99.99%) Infra, S.A. DE C.V.
- Agua ultrapura tipo 1

3.3. Sistema cromatográfico

- Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies Series 7890 A* con detector de ionización de flama (*FID*)
- Columna capilar Zebron ZB-5 (5% Fenil-polisiloxano) (30 m largo* 0.25 mm diámetro interno * 0.25 µm de espesor de fase)
- Automuestreador e inyector *Agilent Technologies 7683B*
- Software de control 7890 *FID* (Ms Top)
- Software de procesamiento de datos *ChemStation data analysis application*
- Helio grado cromatográfico (pureza: 99.98%) Infra, S.A. DE C.V.
- Hidrógeno de alta pureza (pureza: 99.99%) Infra, S.A. DE C.V.
- Aire extraseco PraXair

3.4. Otros equipos y accesorios empleados

- Sistema de extracción *Manifold*
- Analizador de carbono orgánico total SHIMADZU (TOC-VCSN)
- Vortex Science MED-MX-S
- Balanza de trazas AT21 Comparator
- Medidor pH digital Thermo electron corporation
- Limpiador Ultrásónico digital Cole-Palmer
- Mufla LINDBERG
- Centrifuga Eppendorff
- Sistema de vaporización Mini-vap CRS

3.5. Metodología

3.5.1. Preparación de disoluciones estándar de plaguicidas

Se prepararon soluciones patrón de cada uno de los compuestos estudiados: DIA, DEA y ATZ a una concentración de 100000 µg/L en acetonitrilo. Las soluciones se almacenaron a una temperatura de 4°C en frascos color ámbar.

Las disoluciones utilizadas en la experimentación para elaborar las curvas de calibración y el resto de los análisis se prepararon a partir de las soluciones ya mencionadas haciendo disoluciones hasta obtener la concentración deseada.

3.5.2. Condiciones cromatográficas óptimas

El análisis de la ATZ, DEA y DIA se realizó haciendo uso de la cromatografía de gases con detector de ionización flama (*FID*). Las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases fueron evaluadas utilizando una mezcla de los compuestos de 200 µg/L y probando diferentes temperaturas en el puerto de inyección y en el detector, al igual que diferentes

rampas de temperatura, con la finalidad de lograr una buena separación entre los compuestos y obtener picos con buena resolución. Las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases que permitieron la separación de los compuestos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones óptimas de operación del cromatógrafo Agilent 7890 A para la separación de los analitos

INYECTOR	HORNO	DETECTOR
Inyección: Splitless (sin división) Condiciones T: 280°C P: 101.863 kPa (14.774 psi) V de inyección: 1 uL	Columna: ZB5 (30m* 0,25mm* 0,25 µm) Flujo He: 1,127mL Programa de temperatura (1) 80°C 2 min (2) 48°C/min 176°C 0 min (3) 6°C/min 212°C 1 min	T: 250°C Frecuencia: 50 Hz/0,04 min Relación gases H ₂ : 35 mL/min Aire: 350 mL/min He (<i>make up</i>): 35 mL/min

3.5.3. Evaluación del sistema cromatográfico

3.5.3.1. Linealidad

Una vez optimizado el método por cromatografía de gases se realizó el estudio de la linealidad del sistema haciendo uso de la calibración por estándar externo. Se elaboraron curvas de calibración para cada uno de los compuestos en un intervalo de concentraciones de 15- 60 µg/L. Cada solución se inyectó por duplicado y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r).

3.5.3.2. Precisión

La precisión del sistema cromatográfico se evaluó por medio de las áreas de los picos correspondientes a 6 inyecciones de una solución estándar de 60 µg/L de una mezcla de DIA, DEA y ATZ analizadas en un mismo día y durante 6 días. Con los datos obtenidos se determinó la media (Y), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV).

3.5.3.3. Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección y el de cuantificación se determinaron preparando una mezcla de los compuestos a 2 µg/L. La solución se inyectó 10 veces y al área obtenida se le calculó el promedio y la desviación estándar. Se preparó la solución a 2 µg/L por ser la concentración mínima que se lograba analizar sin dificultad con las condiciones cromatográficas propuestas.

3.5.4. Optimización del proceso de extracción en fase sólida

Se comparó la eficiencia de la EFS de la ATZ, DEA y DIA utilizando dos fases adsorbentes: sílice modificada con grupos octadecilo (C_{18}) y la fase polimérica poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona (OASIS HBL). La extracción se realizó utilizando una estación de vacío de 12 posiciones (*Manifold*). Para la optimización de la EFS se evaluó el volumen de la muestra, el disolvente de elución (Composición y volumen). Todos los experimentos se realizaron por duplicado y se evaluó la recuperación obtenida por comparación de las áreas de los analitos con aquellas obtenidas por inyección directa de la mezcla de estándares.

3.5.4.1. Volumen de muestra

Para establecer el volumen de muestra máximo que se puede pasar a través de los cartuchos sin tener pérdidas de los compuestos, se evaluó el volumen de ruptura de cada uno de los compuestos en cada uno de los cartuchos.

Inicialmente los cartuchos fueron acondicionados con 6 mL de metanol y 6 mL de agua desionizada tipo 1 durante 5 min cada uno. Los cartuchos se colocaron en línea (Figura 9) y se pasaron 200 mL de una muestra que contenía todos los analitos a una concentración de 50 $\mu\text{g/L}$ a un flujo constante de 5 mL/min. Una vez cargado el volumen total de muestra se realizó la elución de los compuestos en cada uno de los cartuchos utilizando 4 mL de acetonitrilo. El objetivo de este procedimiento fue determinar si los compuestos se fugaban del cartucho inicial sin ser retenidos por las fases adsorbentes al pasar los 200 mL de muestra.



Figura 9. Montaje del sistema de extracción para determinar el volumen de fuga

3.5.4.2. Tipo de disolvente

Los disolventes de extracción evaluados fueron: acetonitrilo, metanol, diclorometano y una mezcla 50:50 (V/V) de acetonitrilo: metanol. En la Tabla 5 se muestran las propiedades

químicas y físicas de los solventes utilizados. Cada prueba se realizó por duplicado aplicando el procedimiento indicado en el inciso 4.1. El procedimiento se realizó por separado para cada uno de los disolventes.

Tabla 5. Propiedades químicas y físicas de los solventes utilizados (20-25°C)

	Índice de polaridad	Constante dieléctrica	Solubilidad en agua (%p/p)	Densidad (g/mL)	Viscosidad (mNs/m ²)	Punto de ebullición (°C)
Acetonitrilo	5.8	37	100	0.786	0.37	81.6
Metanol	5.1	33	100	0.791	0.32	64.6
Diclorometano	3.1	9.1	1.6	1.33	0.44	40.7

3.5.4.3. Volumen de disolvente

Para evaluar este parámetro se realizó la preparación de muestras como se indica en el inciso 3.5.4.1 y al momento de hacer la elución se pasaron porciones individuales de 2 mL de disolvente y se recolectaron en viales limpios para su posterior análisis por CG/FID. En total se pasaron 14 mL de disolvente (7 porciones) y los experimentos se realizaron por duplicado.

3.5.4.4. Diseño factorial 2⁴

Con el fin de evaluar la influencia de los parámetros previamente estudiados en la extracción de la ATZ, DEA y DIA se eligieron cuatro factores principales: Tipo de fase (**A**), tipo de disolvente (**B**), volumen de muestra (**C**) y volumen de disolvente (**D**). El diseño factorial de tipo 2^k se fija a dos niveles para cada uno de los factores: un nivel alto (+1) y un nivel bajo (-1). El diseño experimental realizado se encuentra descrito en las Tablas 6 y 7. La respuesta experimental estudiada fue la eficiencia de la extracción expresada en términos de porcentajes de recuperación o recobro (%R) y todos los experimentos se hicieron por duplicado de manera aleatoria.

Tabla 6. Factores del diseño factorial 2⁴

Variables	factores	unidades	Niveles	
			-1	+1
1	A :Fase	-	C ₁₈	HBL
2	B :Tipo de disolvente	-	ACN	Mezcla
3	C : Volumen de muestra	mL	2	4
4	D : Volumen de disolvente	mL	100	200

Tabla 7. Matriz de diseño experimental

N°	A	B	C	D	A	B	C	D
1	-1	-1	-1	-1	C ₁₈	ACN	100	2
2	-1	1	1	-1	C ₁₈	Mezcla	200	2
3	1	1	-1	1	HBL	Mezcla	100	4
4	1	-1	1	1	HBL	ACN	200	4
5	-1	1	1	1	C ₁₈	Mezcla	200	4
6	1	1	1	-1	HBL	Mezcla	200	2
7	1	-1	-1	1	HBL	ACN	100	4
8	1	1	-1	-1	HBL	Mezcla	100	2
9	-1	-1	1	1	C ₁₈	ACN	200	4
10	-1	1	-1	-1	C ₁₈	Mezcla	100	2
11	1	1	1	1	HBL	Mezcla	200	4
12	1	-1	1	-1	HBL	ACN	200	2
13	-1	1	-1	1	C ₁₈	Mezcla	100	4
14	-1	-1	-1	1	C ₁₈	ACN	100	4
15	-1	-1	1	-1	C ₁₈	ACN	200	2
16	1	-1	-1	-1	HBL	ACN	100	2

3.5.5. Influencia de la materia orgánica en el proceso de extracción en fase sólida de la ATZ, DEA y DIA

3.5.5.1. Preparación de la solución de ácidos húmicos

La solución de ácidos húmicos se preparó utilizando un estándar de sal de sodio de ácido húmico (CAS: 68131-04-4) proporcionado por Sigma Aldrich. Se pesaron 10 mg de la sal y se disolvieron en 100 mL de agua desionizada y se ajustó el pH a 7.

La solución de ácidos húmicos se agitó durante 24 horas a 300 rpm y se guardó en un recipiente color ámbar en refrigeración a 4°C.

El contenido de carbono orgánico no purgable (CONP y NPOC por sus siglas en inglés) se cuantificó utilizando un analizador de carbono orgánico total marca SHIMADZU y una curva de calibración de 0 a 35 mg/L de contenido de carbono.

3.5.5.2. Influencia de la materia orgánica

Para evaluar la influencia de la materia orgánica en la EFS, se prepararon muestras fortificadas de una mezcla de compuestos a 50 µg/L con adiciones diferentes de materia orgánica (3, 5 y 10 mg/L). Estas muestras se dejaron en agitación durante 2 horas y se almacenaron por 24 horas a una temperatura de 4°C. Para estudiar si el pH de la muestra era un factor importante para tener en cuenta se prepararon soluciones fortificadas a 50 µg/L de los compuestos y 5 mg/L de ácidos húmicos a diferentes valores de pH (3, 7 y 10).

3.5.6. Estabilidad de los compuestos una vez retenidos en los cartuchos

En los laboratorios de análisis ambiental en muchos casos se necesita procesar un gran número de muestras en un solo día, lo cual es una limitante para el operador ya que muchas veces no es posible la implementación inmediata de una metodología de extracción. Por lo que se hace necesario y de mucha utilidad evaluar la estabilidad de los compuestos una vez retenidos en los cartuchos cuando se utiliza la EFS.

Para evaluar la estabilidad de la ATZ, DEA y DIA una vez retenidos en cada una de las fases estudiadas, se tomaron 5 cartuchos y se les hicieron pasar 200 mL de muestra de una concentración de 50 µg/L. Una vez retenidos los compuestos en los cartuchos estos se empacaron en papel aluminio y se guardaron en refrigeración a 4°C. Durante 4 semanas se evaluó la estabilidad, es decir cada semana se tomaba un cartucho y se eluía con 4 mL de una mezcla acetonitrilo: metanol y se realizaba el análisis por CG/FID.

3.5.7. Validación del método optimizado

Una vez concluido el diseño factorial 2⁴ se realizó la validación del método que se describe en la Tabla 8. En la validación del método se evaluaron los siguientes parámetros de acuerdo con las guías de validación internacionales (Eurachem, 2016) y usando como referencias algunas publicaciones recientes donde se realiza la validación de métodos desarrollados con fines de investigación (Min *et al.*, 2008; Moawed *et al.*, 2015; Rodríguez-González *et al.*, 2013).

Tabla 8. Método de extracción optimizado para la EFS de la ATZ, DEA y DIA

FASE	OASIS HBL	Acondicionamiento: 6 mL de metanol y 6 mL de agua desionizada durante 5 min cada uno. Volumen de muestra: 200 mL a un flujo constante entre 5- 10 mL/min Lavado: 10 ml de agua desionizada. Secado: centrifugar durante 10 min a 3500 rpm Elución: 4 ml de una mezcla 50:50 acetonitrilo:metanol
Volumen de muestra	200 mL	
Tipo de disolvente	Mezcla (ACN:MeOH)	
Volumen de disolvente	4 mL	

3.5.7.1. Linealidad

Para evaluar la linealidad del método se prepararon muestras fortificadas a diferentes concentraciones en agua ultrapura en un intervalo de 15- 60 µg/L y se procesaron individualmente con la metodología que se describe en la Tabla 8. La curva se preparó por duplicado.

3.5.7.2. Recobro

La recuperación del método fue evaluada por medio del recobro, para ello se prepararon muestras fortificadas en un intervalo de concentraciones de 15-60 $\mu\text{g/L}$ utilizando agua superficial proveniente de los canales de Xochimilco. Es necesario enfatizar que el agua superficial fue recolectada en una zona de los canales de Xochimilco donde se dedican a la agricultura orgánica, es decir, que no hay uso de plaguicidas.

3.5.7.3. Precisión

La precisión del método fue evaluada en términos de la repetibilidad y precisión intermedia. Para la repetibilidad se prepararon cinco muestras de 30 $\mu\text{g/L}$ y se procesaron en un solo día con la finalidad de hallar el coeficiente de variación (CV). La precisión intermedia se evaluó preparando 6 muestras 30 $\mu\text{g/L}$ y se procesaron en dos días (lotes de 3).

3.5.7.4. Reproducibilidad

Para la reproducibilidad se prepararon por triplicado tres soluciones a diferentes concentraciones (15, 30 y 50 $\mu\text{g/L}$). Un analista diferente procesó un lote de muestras.

3.5.7.5. Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección y el límite de cuantificación se determinaron usando 200 mL de agua ultrapura fortificada con una concentración de 2 $\mu\text{g/L}$. Se prepararon cinco soluciones y se procesaron utilizando el método detallado en la Tabla 8. A cada una de las muestras se les determinó el promedio y la desviación estándar.

3.5.7.6. Estabilidad de la muestra

La estabilidad de la muestra se monitoreó durante el tiempo que se tardó en realizar la validación. Para ello se preparaba diariamente una solución de a 200 $\mu\text{g/L}$ y se comparaba el área obtenida con la registrada en la curva de calibración.

3.5.8. Aplicación en muestras reales. Caso de estudio canales de Xochimilco

El método optimizado y validado se utilizó para determinar la presencia de los compuestos estudiados (DIA, DEA y ATZ) en los canales de Xochimilco, Cd.Mx., México. Para el muestreo de los canales se dividió el sistema en cuatro localidades: Zona urbana, zona sin uso de agroquímicos (orgánica), zona de transición, zona con uso de agroquímicos (invernaderos y cultivos) y se seleccionaron dos puntos por zona para un total de 8 sitios de muestreo. Ver anexo 6.2 (Protocolo de muestreo).

Las muestras se guardaron en recipientes color ámbar y se refrigeraron a 4°C cuidando que el tiempo de almacenamiento desde el día de muestro hasta el procesamiento de la muestra no excediera los 10 días. A las muestras se les determinó el pH, la temperatura y el contenido de materia orgánica expresado como CONP.

El análisis de las muestras se realizó utilizando el método de estándar externo (sin adición de estándar) y la adición patrón para comprobar la presencia de cada uno de los compuestos en caso de observar algún pico cercano a los tiempos de retención proporcionados por los estándares. Las muestras fueron previamente filtradas usando filtros de membrana de 0.45 µm y los extractos fueron limpiados antes de su inyección en el cromatógrafo haciéndolos pasar por una columna con sulfato de sodio (Na_2SO_4) y florisil previamente activado a 600°C por 12 horas.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación del sistema cromatográfico

En la Figura 10 se muestra un cromatograma de una mezcla de 200 µg/L de los compuestos estudiados con su respectivo tiempo de retención. Observando el cromatograma se puede inferir que el orden de elución de los compuestos se debe a su masa molecular, lo cual está relacionado con el impedimento estérico de cada compuesto y las interacciones que ocurre entre ellos, así como la fase química presente en la columna de separación. Se observa que el primero en eluir es la DIA a los 7.694 min (173.60 g/mol), seguido por la DEA a los 7.770 min (187.63 g/mol) y por último la ATZ a los 8.510 min (215.68 g/mol); debido al parecido de las masas moleculares entre la DIA y DEA fue necesario optimizar las condiciones cromatográficas para lograr una resolución adecuada de los compuestos y poder utilizar el método con fines cuantitativos.

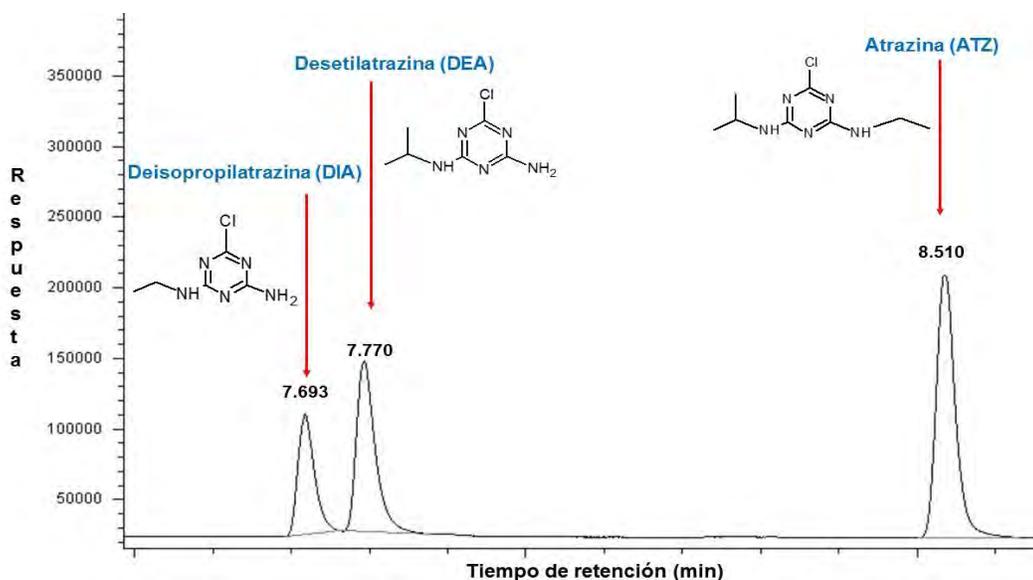


Figura 10. Cromatograma correspondiente a la inyección de 1 µL de una mezcla estándar de ATZ, DEA y DIA a una concentración de 200 µg/L. Columna ZB-5 (5% fenil-poliisiloxano – 30 m de largo * 0.25 mm de diámetro interno* 0.25 µm de espesor de fase)

La linealidad se determinó para cada uno de los compuestos y la ecuación de calibración fue determinada por el método matemático de regresión lineal. El mejor ajuste a una línea recta entre la respuesta del *FID* y la concentración se evaluó por medio del coeficiente de correlación de Pearson (*r*) y usando como criterio de aceptación su cercanía a un valor de uno. En la Tabla 9 se presentan las características de las rectas obtenidas para cada uno de los compuestos. Las rectas presentan un valor de “*r*” entre 0.987 y 0.994 lo que demuestra

que existe una relación lineal entre la respuesta del detector y la concentración de cada uno de los analitos.

La sensibilidad del sistema para cada uno de los compuestos se evaluó con la pendiente de la ecuación lineal obtenida. La mayor sensibilidad la presenta la ATZ con una pendiente de 1752 y la deisopropilatrizona presenta la menor sensibilidad con una pendiente de 677. La sensibilidad indica la variación de la respuesta al cambiar la concentración de analito, por lo que el detector percibe con mayor facilidad los cambios de concentración referentes a la atrazina al momento de proporcionar una respuesta. La sensibilidad del equipo se ve reflejada en el límite de detección (LD); se puede observar que la atrazina presenta el menor límite de detección (2.70 µg/L). Ver anexo 6.5

Tabla 9. Evaluación de la linealidad del sistema cromatográfico en un intervalo de 15-60 µg/L, n=12. Intervalo de confianza del 95%

Compuesto	Pendiente (m)	Intercepto (b)	r	Ecuación y = mx+ b	LD (µg/L)	LC (µg/L)	F _{Fisher}	I.C. de la pendiente
DIA	677	-3299	0.993	y= 677x -3299	2.77	6.02	720	± 56
DEA	956	-2746	0.994	y= 956x -2746	3.05	5.00	930	± 70
ATZ	1752	-532	0.987	y= 1752x -532	2.70	4.12	387	± 198

La F de Fisher tabulada para 1 grado de libertad en el numerador y 10 grados de libertad en el denominador es de 4.965. Si la F_{Fisher} calculada > F_{Fisher} tabulada la ecuación del modelo lineal puede usarse con fines predictivos. En la Tabla 9 se pueden ver los valores de F hallados para la ecuación lineal de cada compuesto, estos valores de F son mayores que el valor tabulado, por lo que las ecuaciones lineales halladas pueden ser usadas con propósitos de predicción.

La precisión del sistema cromatográfico indica el grado de relación entre los resultados individuales obtenidos al analizar varias inyecciones de una misma solución en el cromatógrafo de gases bajo las mismas condiciones en un mismo día (repetibilidad) y a lo largo de un periodo determinado (precisión intermedia). La precisión se expresa en términos del coeficiente de variación (CV), siendo en cromatografía de gases un valor aceptable de CV un porcentaje menor o igual a 5%. Sin embargo, en este trabajo se tomó como criterio de aceptación un valor menor o igual al 2%. En la Tabla 10 se muestran los valores de CV obtenidos para cada uno de los compuestos estudiados a partir de 6 inyecciones directas de 1 µL de una solución estándar con concentración de 60 µg/L, analizadas en un mismo día y durante 6 días.

Tabla 10. Coeficiente de variación (%CV) para cada uno los compuestos como representación de la precisión del sistema. Solución de 60 µg/L, n=6, nivel de confianza del 95%

COMPUESTO	%CV (Repetibilidad)	%CV (precisión intermedia)
DIA	1.9	1.82
DEA	1.4	1.97
ATZ	1.2	2

Se observa que los valores obtenidos en términos de repetibilidad son menores al 2%, lo cual indica que el sistema cromatográfico es preciso para los compuestos estudiados y presenta una buena repetibilidad al momento de analizar una misma inyección bajo las mismas condiciones. Los %CV para la precisión intermedia de cada uno de los compuestos sigue evidenciando la precisión del sistema con respecto a la respuesta de los analitos cada vez que se realiza un análisis.

4.2. Optimización de la extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida es una de las técnicas de preparación de muestras para análisis cromatográfico que más se utiliza en la actualidad; sin embargo, al ser una técnica multivariable necesita una optimización del proceso con objeto de obtener un mejor recobro de los analitos a estudiar.

En este estudio se optimizaron por separado las variables: volumen de muestra, tipo de disolvente y volumen de disolvente en la fase C_{18} y en la de los cartuchos OASIS HBL.

- **Volumen de muestra**

El volumen de fuga es considerado uno de los parámetros más importante al expresar la eficiencia del proceso de extracción en fase sólida. Principalmente consiste en conocer el volumen de muestra que se puede aplicar a través del cartucho sin que los compuestos de interés presenten pérdidas (Bielicka-Daszkiwicz y Voelkel, 2009; Poole *et al.*, 2000). En otras palabras, se refiere al volumen máximo de muestra que se puede aplicar en los cartuchos sin ocasionar una saturación de los sitios activos y asegurar valores de rendimiento cercanos al 100%. Mientras no se llegue al volumen de fuga, la respuesta obtenida para cada compuesto en cada uno de los extractos será similar a la respuesta obtenida por inyección directa de la misma cantidad en una solución estándar.

En cromatografía de líquidos resulta muy conveniente hallar este parámetro por que la técnica permite el desarrollo de una parte experimental no muy compleja de realizar. Sin embargo, al trabajar con cromatografía de gases y al estar limitados al uso de solamente disolventes orgánicos volátiles, esta parte experimental requiere una etapa extra de secado y redisolución de las muestras acuosas en otro tipo de disolventes para poder ser analizadas en el CG.

El volumen de muestra óptimo de la DIA, DEA y ATZ en esta experimentación, se logró estimar, haciendo pasar 200 mL de una muestra de 50 $\mu\text{g/L}$ a través de cada una de las fases utilizando el montaje mostrado en la Figura 11. El objetivo de dicho experimento era observar si la fase adsorbente lograba saturarse con los analitos permitiendo que una parte de ellos pasaran sin ser retenidos o, en su defecto, que existiera poca afinidad entre la fase y los compuestos.



Figura 11. Esquema experimental de la estimación del volumen de fuga

Se observó que en los cartuchos OASIS HBL los tres analitos de interés eran retenidos sin ningún problema, ya que al realizar la elución en el primer cartucho y analizar por CG/FID se observaba una recuperación entre el 80-100% para cada uno de los compuestos; mientras que en el extracto del segundo cartucho no se encontraban los picos característicos de los compuestos, lo que indica que la DIA, DEA y ATZ presentan afinidad por la fase polimérica lo que favorece la retención.

En la fase C₁₈ se observó una baja recuperación de la DIA (50%), mientras que la recuperación de la DEA y ATZ estuvo por encima del 80%. Al analizar el extracto del segundo cartucho se lograba identificar el pico característico de la DIA con un recobro cercano al 30%. En la fase C₁₈ la retención de los compuestos apolares se realiza de manera eficiente; sin embargo, al trabajar con compuestos de media o débilmente polares la retención es baja (Pichon *et al.*, 1996), tal es el caso de la deisopropilatrazina. La fase de los cartuchos OASIS HBL (poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona) maneja un intervalo de polaridades mucho mayor que la C₁₈. Este material es un adsorbente con capacidad hidrofílica y lipofílica (Figura 12) lo que lo hace ideal para extraer compuestos polares, así como no polares.

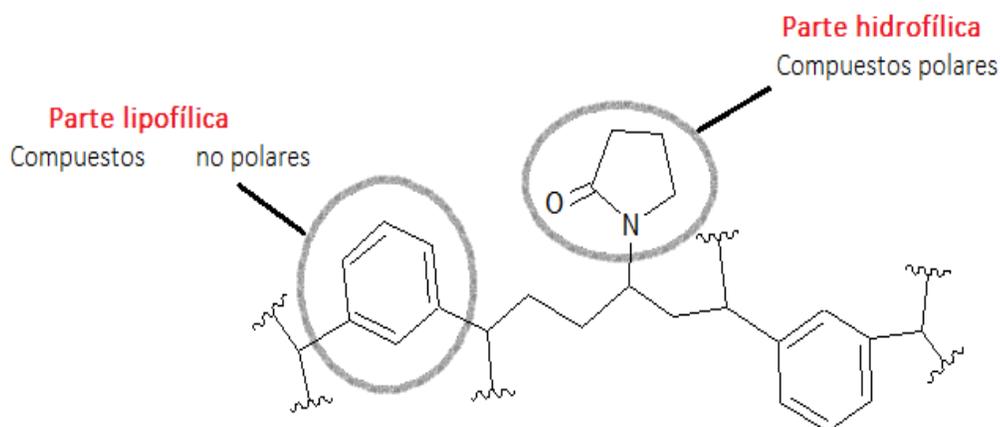
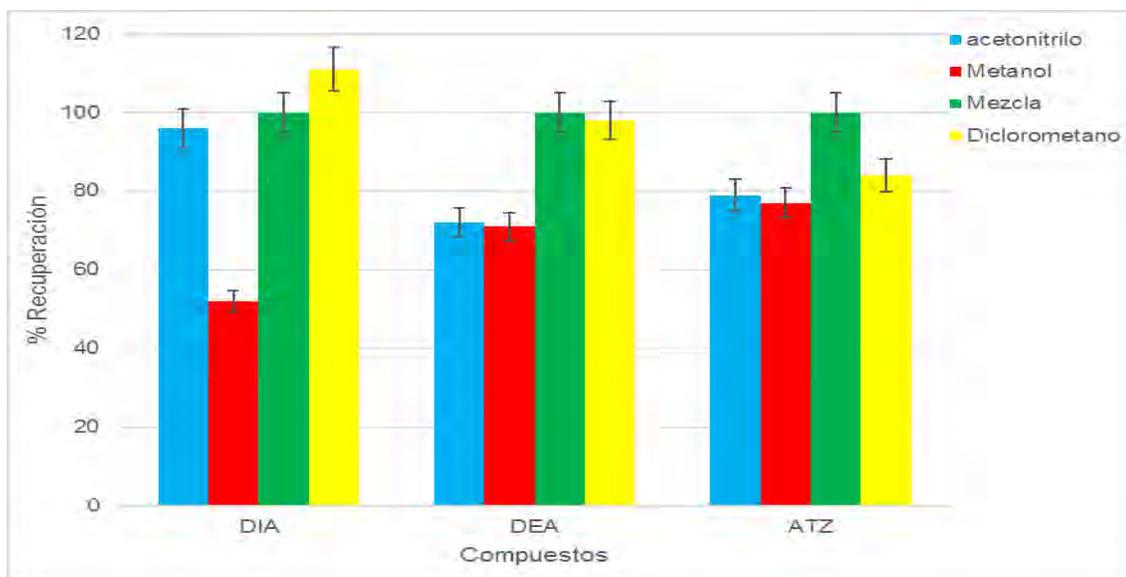


Figura 12. Estructura química de la fase polimérica poli-divinilbenceno-N-vinilpirrolidona (WATERS, 2016a)

• **Disolvente de extracción**

Los disolventes de extracción evaluados fueron: acetonitrilo, metanol, diclorometano y una mezcla 50:50 de acetonitrilo: metanol (ACN: MOH).

En la Gráfica 1 se muestran los resultados obtenidos para la fase polimérica (HBL).



Gráfica 1. Efecto del disolvente en el cartucho OASIS HBL. Resultados de las extracciones individuales de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L

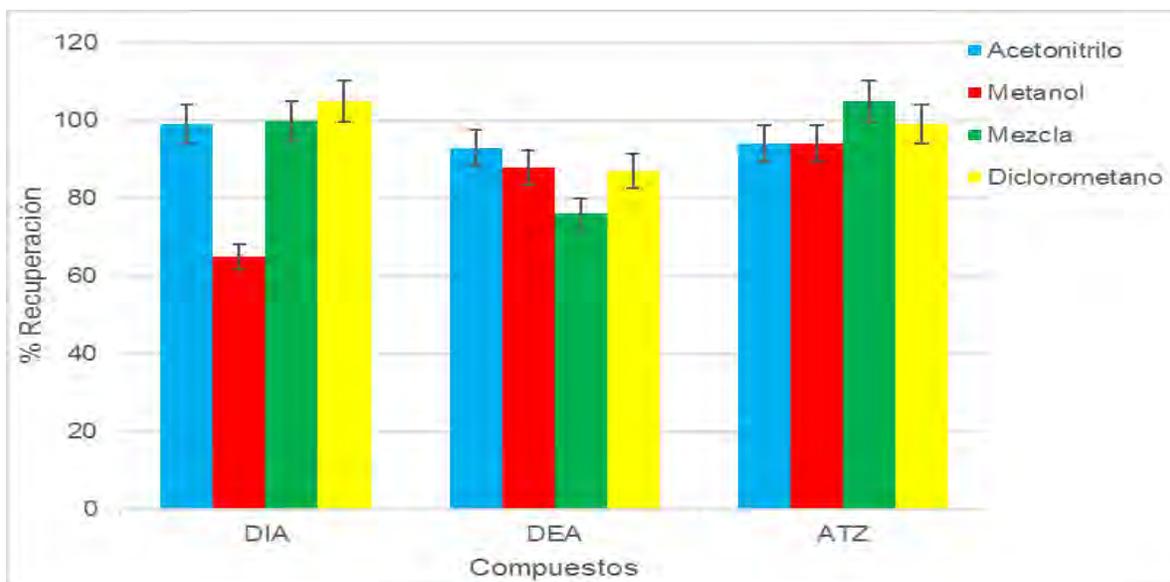
Se puede observar que la DIA presenta porcentajes de recuperación por encima del 100% cuando se utiliza diclorometano como disolvente de elución, sin embargo, al utilizar acetonitrilo y la mezcla 50:50 los porcentajes de recuperación se mantienen cerca del 100%.

La elución de la DEA y la ATZ presenta el mismo orden de afinidad por los disolventes utilizados, la mezcla de acetonitrilo y metanol favorecen su recuperación con porcentajes cercanos al 100%.

La polaridad es una característica muy importante de los disolventes, por lo tanto, estos resultados indican que los compuestos estudiados son completamente solubles en la mezcla 50:50 de acetonitrilo y metanol lo que ayuda a vencer las fuerzas intermoleculares que los mantienen unidos a la fase polimérica y por consiguiente logran ser eluidos completamente.

Los resultados obtenidos para la fase C₁₈ se muestran en la Gráfica 2. En este caso se puede ver que la DIA presenta el mismo comportamiento que en los OASIS HBL, su elución se ve favorecida por el diclorometano, seguida por el acetonitrilo y la mezcla 50:50.

La elución de la ATZ también presenta el mismo comportamiento, sin embargo, la eficiencia de la elución para la DEA es mayor cuando se utiliza acetonitrilo.



Gráfica 2. Efecto del disolvente en el cartucho C_{18} . Resultados de las extracciones individuales de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a $50 \mu\text{g/L}$

- **Volumen de disolvente**

La cantidad del disolvente de elución juega un papel muy importante en la extracción en fase sólida. De la cantidad de disolvente empleada depende la total elución de los analitos retenidos en la fase adsorbente y por tanto es un factor influyente en el recobro de los compuestos (Moldoveanu, 2015; Moldoveanu y David, 2015; Poole *et al.*, 2000).

Para evaluar este parámetro se tomaron varias porciones de disolvente y se hicieron pasar a través del cartucho en cantidades de 2 mL para su posterior análisis por cromatografía de gases.

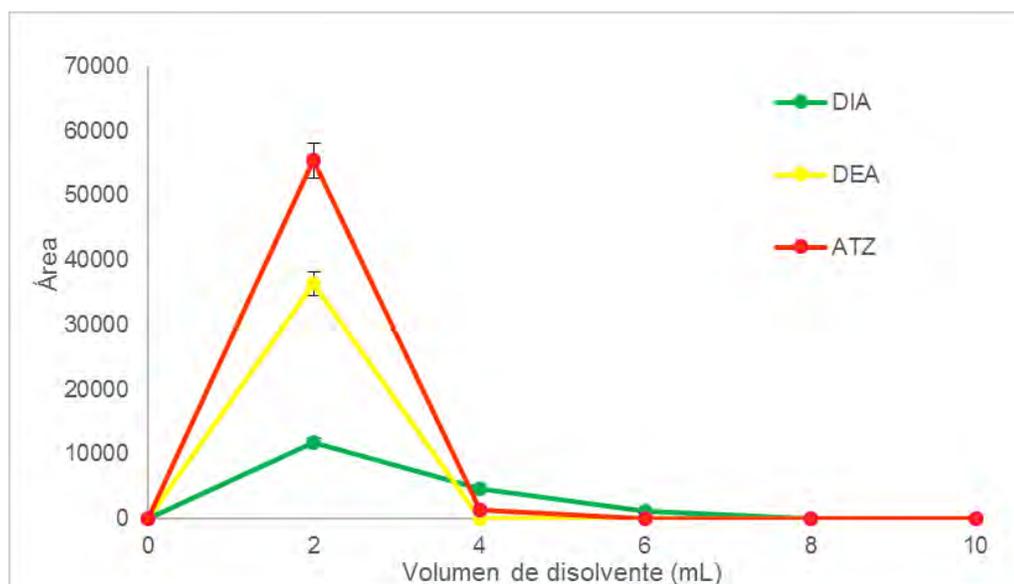
En la Gráfica 3 se observa el perfil de elución de cada uno de los compuestos en los cartuchos OASIS HBL.

Se puede observar que en la primera porción de 2 mL se logró una completa elución de la DEA y la ATZ, mientras que en la segunda porción de disolvente aún se lograba detectar una pequeña concentración de la DIA. Por tanto, el volumen óptimo de elución para los cartuchos HBL corresponde a 4 mL de disolvente.

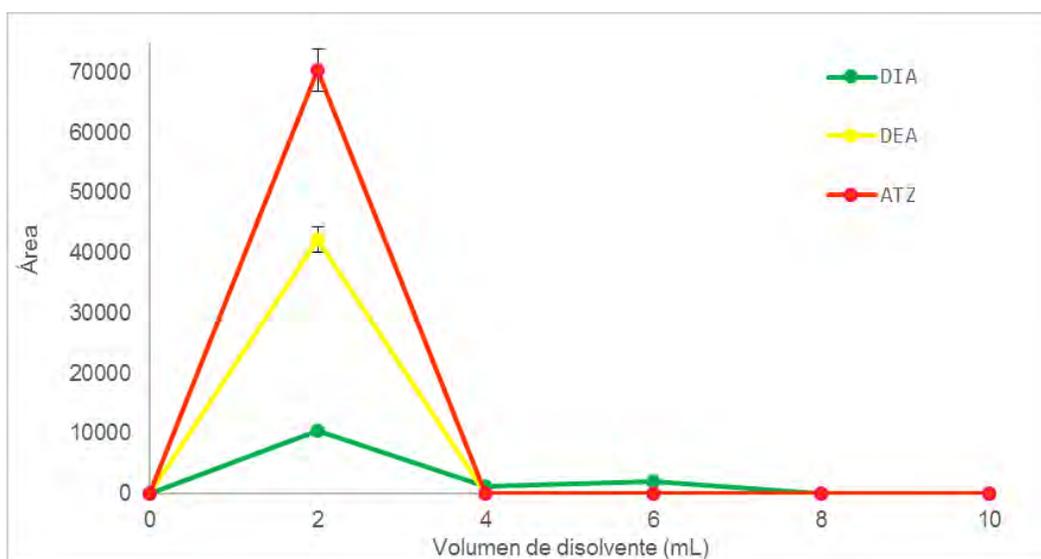
El perfil de elución de los compuestos en la C_{18} se describe en la Gráfica 4. Se puede observar que en la primera porción de 2 mL se eluyeron todos los compuestos, lo que demuestra una vez más que existe una baja retención de los compuestos por parte de los cartuchos C_{18} .

Debido a que uno de los objetivos de este trabajo era diseñar un método analítico que pudiera extraer en un solo paso a los tres compuestos se seleccionó el acetonitrilo y la

mezcla 50:50; y las cantidades 2 y 4 mL para evaluar cada factor en el diseño factorial 2^4 en los niveles altos y bajos y así poder conocer la influencia de cada uno de estos parámetros en la eficiencia del proceso de extracción en fase sólida de la atrazina y sus dos principales metabolitos.



Gráfica 3. Volumen de disolvente en los cartuchos OASIS HBL. Resultados de la extracción de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L



Gráfica 4. Volumen de disolvente en los cartuchos C₁₈. Resultados de la extracción de una mezcla sintética de DIA, DEA y ATZ a 50 µg/L

- Diseño factorial 2⁴

Un diseño factorial facilita el estudio de optimización de técnicas multivariantes en las que la respuesta del analito está sujeta a las variaciones que puedan existir en cada factor (Amadori y Cordeiro, 2013; Latrous El Atrache *et al.*, 2013). Con el fin de evaluar la influencia de los parámetros previamente estudiados en la extracción de la ATZ, DEA y DIA se eligieron cuatro factores principales: Tipo de fase (A), tipo de disolvente (B), volumen de muestra (C) y volumen de disolvente (D).

El diseño factorial de tipo 2^k se fija a dos niveles para cada uno de los factores: un nivel alto (+1) y un nivel bajo (-1). El diseño experimental y los resultados obtenidos están representados en la Tabla 11. La respuesta experimental estudiada fue la eficiencia de la extracción expresada en términos de porcentajes de recuperación o recobro (%R) haciendo uso del programa estadístico *STATGRAPHICS CENTURIAN XVI*.

Tabla 11. Matriz del diseño experimental y los %R para cada uno de los experimentos realizados

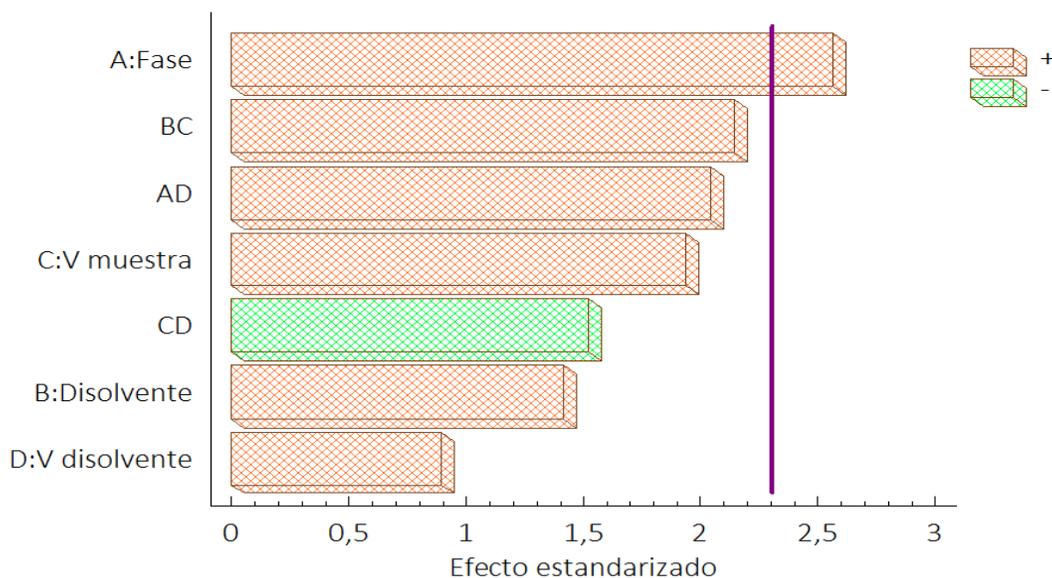
1	A	B	C	D	A	B	C	D	%R
1	-1	-1	-1	-1	C ₁₈	ACN	100	2	91
2	-1	1	1	-1	C ₁₈	Mezcla	200	2	99
3	1	1	-1	1	HBL	Mezcla	100	4	100
4	1	-1	1	1	HBL	ACN	200	4	99
5	-1	1	1	1	C ₁₈	Mezcla	200	4	100
6	1	1	1	-1	HBL	Mezcla	200	2	100
7	1	-1	-1	1	HBL	ACN	100	4	100
8	1	1	-1	-1	HBL	Mezcla	100	2	93
9	-1	-1	1	1	C ₁₈	ACN	200	4	80
10	-1	1	-1	-1	C ₁₈	Mezcla	100	2	82
11	1	1	1	1	HBL	Mezcla	200	4	100
12	1	-1	1	-1	HBL	ACN	200	2	92
13	-1	1	-1	1	C ₁₈	Mezcla	100	4	85
14	-1	-1	-1	1	C ₁₈	ACN	100	4	90
15	-1	-1	1	-1	C ₁₈	ACN	200	2	94
16	1	-1	-1	-1	HBL	ACN	100	2	86

ACN, Acetonitrilo, Mezcla, acetonitrilo-metanol (50-50)

En la Tabla 11 se observa que el menor porcentaje de recuperación se obtuvo al trabajar con la fase C₁₈ (80%) y los valores más altos de recuperación (100%) en su mayoría están dados por la fase polimérica, lo que muestra nuevamente que existe una ventaja en los adsorbentes poliméricos frente a la C₁₈ al momento de extraer compuestos de baja polaridad.

La Gráfica 5 muestra la influencia de los factores principales en la recuperación de los compuestos. Se puede observar que el único factor que tiene influencia en el porcentaje de recobro de los compuestos es el tipo de fase y esto se debe a que si no existe afinidad de los compuestos por la fase adsorbente no ocurrirá la retención de los compuestos y por tanto no

se logrará separarlos de la matriz (Moldoveanu y David, 2015). Esto se evidencia en el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) donde a un nivel de confianza del 95% el único de los factores que presenta un efecto importante en la respuesta es el tipo de fase (Tabla 12).



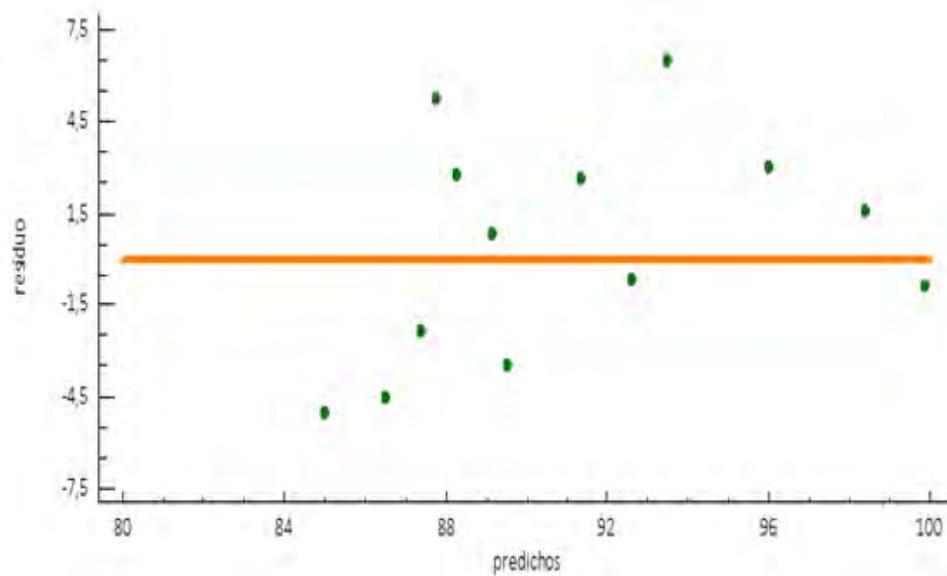
Gráfica 5. Diagrama de Pareto estandarizado para el %R

Tabla 12. Análisis de varianza para el %R

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Fase	150.063	1	150.063	6.58	0.0334
B:Disolvente	45.5625	1	45.5625	2.00	0.1953
C:V muestra	85.5625	1	85.5625	3.75	0.0888
D:V disolvente	18.0625	1	18.0625	0.79	0.3995
AD	95.0625	1	95.0625	4.17	0.0755
BC	105.063	1	105.063	4.61	0.0642
CD	52.5625	1	52.5625	2.30	0.1675
Error total	182.5	8	22.8125		
Total (corr.)	734.438	15			

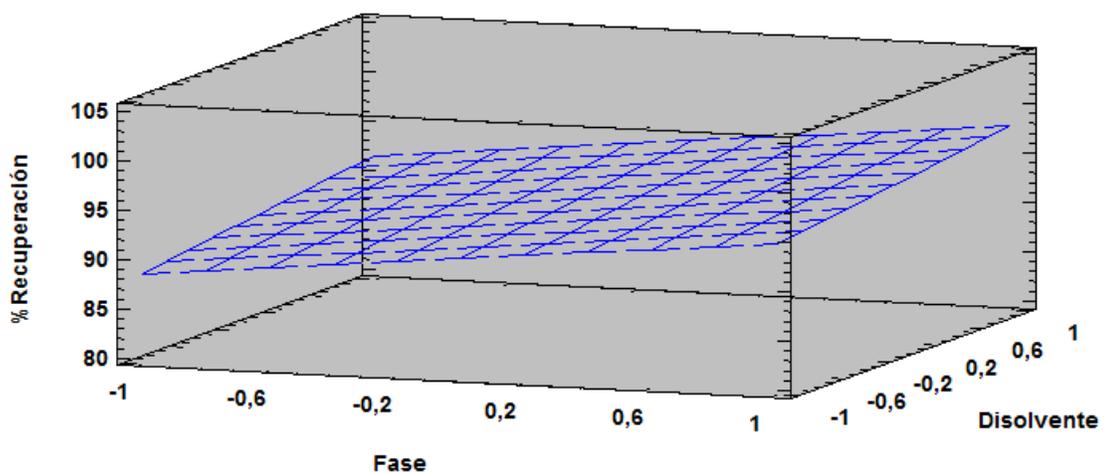
*Gl: grados de libertad

La Gráfica 6 muestra los residuos *versus* los datos predichos del diseño. Esta gráfica es muy importante ya que en un diseño de experimentos se requiere trabajar de manera aleatoria. Se puede observar que el modelo es adecuado para los datos obtenidos de la experimentación, ya que se ve que no siguen una distribución definida a través de la frecuencia.



Gráfica 6. Residuos versus predichos

Los diseños factoriales permiten optimizar la respuesta que se evalúa en el diseño. La Gráfica 7 describe los valores del % de recuperación que se pueden obtener en función de los factores fases y tipo de disolvente. Se observa que el mayor porcentaje de recuperación que se puede obtener es de 104.5% y para eso se tiene que trabajar en el nivel alto del factor fase (OASIS HBL) y en cualquiera de los niveles de los demás factores evaluados. En la Tabla 13 se describe el método seleccionado, el cual utiliza los niveles altos de cada factor.



Gráfica 7. Superficie de respuesta estimada para el % de Recuperación

Tabla 13. Método de extracción optimizado para la EFS de la ATZ, DEA y DIA

FASE	OASIS HBL	Acondicionamiento: 6 mL de metanol y 6 mL de agua desionizada durante 5 min cada uno Volumen de muestra: 200 mL a un flujo entre 5- 10 mL/min Lavado: 10 mL de agua desionizada. Secado: Durante 10 min a 3500 rpm Elución: 4 mL de una mezcla 50:50 acetonitrilo:metanol
Volumen de muestra	200 mL	
Tipo de disolvente	Mezcla 50:50(ACN:MeOH)	
Volumen de disolvente	4 mL	

4.3. Influencia de la materia orgánica en el proceso de extracción en fase sólida

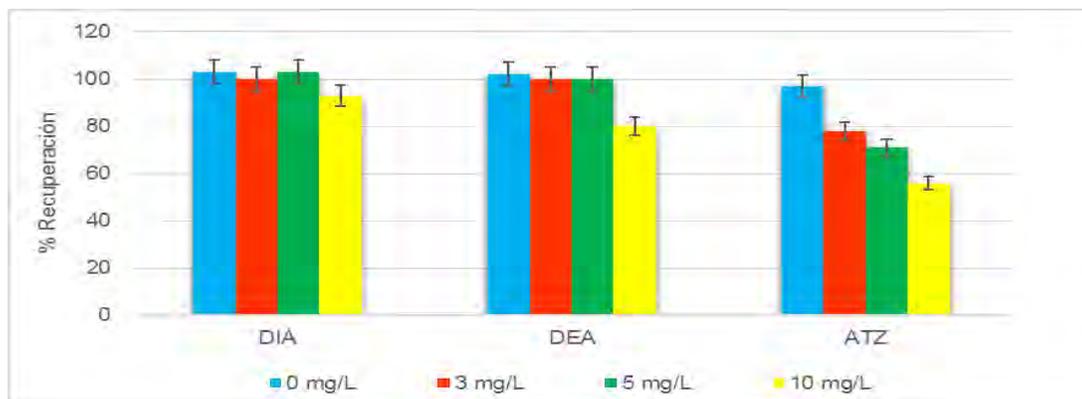
Las concentraciones de ácidos húmicos en las muestras sintéticas fueron seleccionadas a partir de las concentraciones que se encuentran en las aguas naturales (0, 3, 5 y 10 mg/L). A cada una de las muestras se les realizó la prueba de CONP para conocer la concentración real de materia orgánica. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Contenido de materia orgánica (mg/L) expresada como carbono orgánico no purgable, CONP, para las muestras sintéticas

Concentración añadida (mg/L)	Concentración real (CONP) (mg/L)
0	0
3	3.080
5	4.210
10	8.530

La primera prueba para evaluar la influencia de la materia orgánica en la extracción en fase sólida de la ATZ, DEA y DIA se realizó preparando una solución sintética que contenía una concentración de 50 µg/L de los compuestos de interés, pH 7 y diferentes concentraciones de ácidos húmicos (0, 3, 5 y 10 mg/L) para un total de 4 soluciones. La preparación de muestras se realizó como se indica en el inciso 3.5.4.1 para los cartuchos C₁₈ y con la metodología optimizada descrita en la Tabla 13 para los HBL.

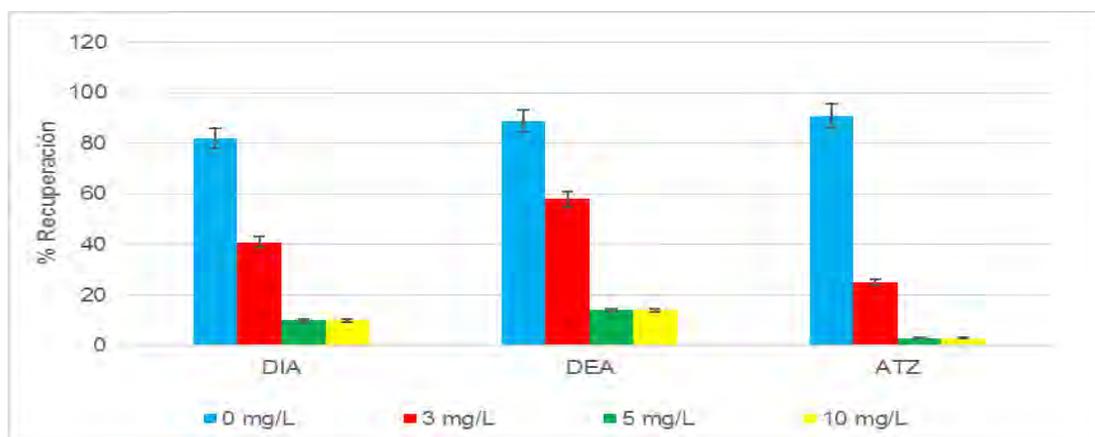
Los resultados obtenidos para los cartuchos HBL se observan en la Gráfica 8. Se muestra que el porcentaje de recuperación de la DIA y la DEA prácticamente se mantiene constante al variar la concentración de materia orgánica hasta 5 mg/L. Sin embargo, la eficiencia de la extracción se ve disminuida con respecto a la atrazina desde una concentración de materia orgánica de 3 mg/L.



Gráfica 8. Influencia de la MO en la EFS utilizando los cartuchos HBL, pH= 6.5 -7

Este comportamiento está relacionado con la polaridad de los compuestos ya que, de los tres analitos estudiados, la atrazina es la que presenta el carácter más apolar y algunos autores han reportado que existe una asociación significativa de los compuestos hidrofóbicos con los ácidos húmicos que puede conducir a la formación de complejos de gran masa molecular debido a las interacciones producidas por los grupos fenólicos que contienen los ácidos húmicos (Kovacic y Zupancic-Kralj, 2006). Sin embargo, la fase poli-divil-N-Vinilpirrolidona contenida en los cartuchos HBL presenta un carácter lipofílico- hidrofílico que permite retener compuestos polares como no polares, por lo que la disminución de la recuperación de la atrazina puede estar asociada a una baja afinidad entre la atrazina y la mezcla 50:50 de acetonitrilo: metanol cuando se encuentra interaccionando en solución con los ácidos húmicos.

En la Gráfica 9 se observan los resultados obtenidos para la fase C₁₈. Se puede ver una disminución del porcentaje de recuperación para cada uno de los analitos a partir de una concentración de 3 mg/L.

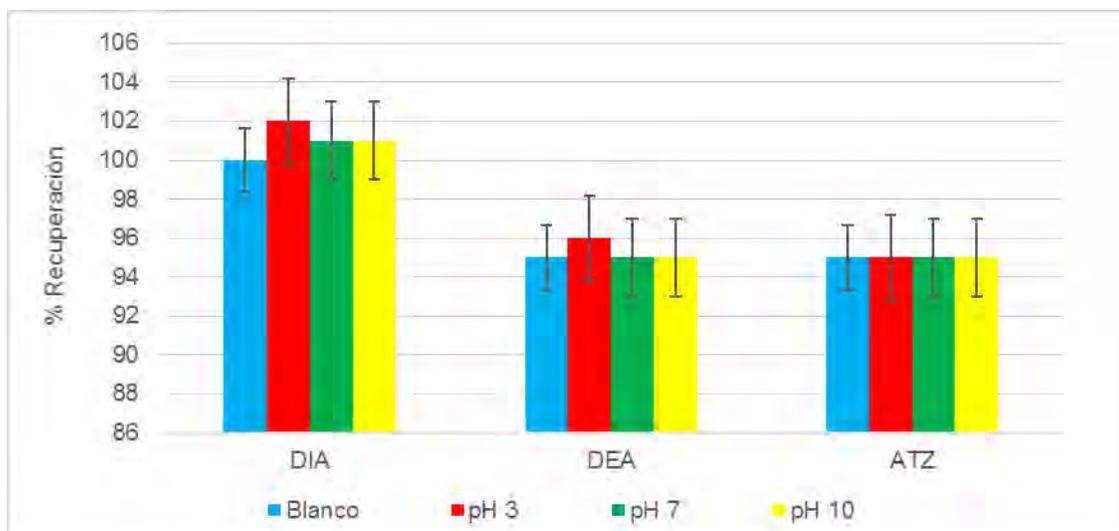


Gráfica 9. Influencia de la MO en la EFS utilizando los cartuchos C₁₈, pH= 6.5 -7

Además de la participación que tiene la polaridad en la asociación de los compuestos estudiados con los ácidos húmicos es importante considerar en el caso de la C₁₈ la saturación de los sitios activos por la materia orgánica, ya que la disminución del porcentaje de extracción refleja que los compuestos no están siendo retenidos por la fase. Al momento de realizar el proceso se observó que los cartuchos presentaban una coloración marrón. También este comportamiento puede deberse a una baja afinidad entre el compuesto y el disolvente de elución una vez que está asociado con el ácido húmico (Johnson *et al.*, 1991).

La importancia de evaluar el efecto del pH en la asociación de los ácidos húmicos con la atrazina, desetilatrizona y deisopropilatrizona radica en la coextracción de los ácidos húmicos y fúlvicos junto con los contaminantes orgánicos al momento de acidificar muestras reales (Pichon *et al.*, 1996). Esta coextracción de los ácidos húmicos y fúlvicos genera un pico de gran tamaño al inicio de los cromatogramas que impide la determinación de los compuestos más polares. Otra razón importante es que las moléculas que contienen los ácidos húmicos pueden tener una configuración diferente dependiendo del pH en el que se encuentren en solución. Estos grupos que en su mayoría son OH pueden interaccionar fácilmente en una muestra acidificada (pH 3) pero no en una a pH neutro (pH 7). A pH 7 los ácidos húmicos se encuentran presentes en la fracción coloidal (sólidos suspendidos) y son eliminados en la mayoría de los casos cuando se filtran las muestras.

El efecto del pH solamente fue evaluado para el cartucho HBL y los resultados se muestran en la Gráfica 10. Se puede observar que el porcentaje de recuperación de la atrazina en presencia de ácidos húmicos a diferentes valores de pH no se ve afectada. La recuperación se mantiene constante sin importar el valor de pH debido a que la fase polimérica contenida en los cartuchos OASIS HBL es estable en todo el intervalo de pH y en este caso también se mantiene estable a pesar de la interacción de la materia orgánica con la atrazina.



Gráfica 10. Efecto del pH en la EFS utilizando los cartuchos HBL, 5 mg/L de materia orgánica

La Gráfica 10 también muestra una pequeña variación en la recuperación de las DIA y la DEA, efecto que puede ser despreciable al no ser significativo si consideramos el coeficiente de variación reportado para cada uno de los compuestos al momento de ser analizados en el cromatógrafo de gases.

Es interesante la estabilidad presentada por la fase de los cartuchos OASIS HBL en todo el intervalo de pH. Según fuentes bibliográficas al momento de estudiar la influencia de la materia orgánica en la extracción de pesticidas polares variando el pH de la muestra se puede observar un efecto negativo en la recuperación de los analitos al trabajar a pH ácidos. A pH 7 los ácidos húmicos no son coextraídos del cartucho, pero en el cromatograma se puede observar un pequeño levantamiento de la línea base (Pichon *et al.*, 1996). Algunos autores explican este comportamiento debido a la presencia de grupos fenólicos en los ácidos húmicos (Li y Lee, 2001).

4.4. Validación del método

Linealidad del método

La linealidad del método fue evaluada en un rango de 15 a 60 µg/L, para ello se utilizó agua ultrapura con fortificaciones de los tres analitos. En la Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los analitos estudiados.

Tabla 15. Evaluación de la linealidad método de extracción en fase sólida en un intervalo de 15-60 µg/L, n=12. Intervalo de confianza del 95%

Compuesto	Pendiente (m)	Intercepto (b)	r	Ecuación y= mx+ b	LD* (µg/L)	LC* (µg/L)	F _{Fisher}	I.C de la pendiente
DIA	456	-2819	0.992	y = 456x- 2819	2.8	5.4	642	± 40
DEA	926	-15	0.995	y = 926x- 15	2.24	2.82	1091	± 63
ATZ	1707	-4385	0.996	y = 1707x- 4385	2.39	2.78	1578	± 93

LD, límite de detección y LC, límite de cuantificación, n=5
I.C., intervalo de confianza

En la Tabla 15 se observa que los coeficientes de correlación de Pearson son mayores al 0.99; lo que indica que el método diseñado y optimizado presenta una relación entre la concentración de los analitos y la respuesta del método. Las pendientes con valores positivos muestran que existe una dependencia lineal positiva entre las dos variables.

La sensibilidad del método para cada uno de los analitos fue evaluada con la pendiente obtenida en cada una de las rectas. La mayor sensibilidad es presentada por la atrazina con una pendiente de 1707 y la menor por la DIA con una pendiente de 456; esto indica que el método presenta una mejor respuesta lineal al variar la concentración de atrazina. La sensibilidad del método para la atrazina se ve reflejada en el límite de detección (LD); se puede observar que la atrazina presenta el menor límite de detección (2.78 µg/L).

Los valores de F hallados para la ecuación lineal de cada compuesto son mayores que al valor F tabulado (4.965), por lo que las ecuaciones lineales halladas pueden ser usadas con propósitos de predicción.

Precisión del método

La precisión del método indica la relación entre los resultados obtenidos al realizar varias veces el mismo ensayo bajo las mismas condiciones en un mismo día (repetibilidad) y a lo largo de un período determinado (precisión intermedia). La precisión se expresa en términos del coeficiente de variación (CV). Para la validación del método se consideró un valor aceptable de CV igual o menor al 2%.

En la Tabla 16 se observan los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión del método optimizado. Se puede ver que el CV para cada compuesto en la evaluación de la repetibilidad no presentó valores superiores al 2%. La precisión intermedia para la DIA presenta un valor de 2.18, sin embargo, a pesar de estar por arriba del criterio de aceptación se considera que existe precisión en el método al realizar el procedimiento de EFS.

Tabla 16. Coeficiente de variación (%CV) para cada uno de los compuestos después del proceso de extracción en fase sólida como evaluación de la precisión del método. Muestra de 3 µg/L, n=5

COMPUESTO	%CV (Repetibilidad)	%CV (precisión intermedia)
DIA	1.5	2.18
DEA	1.85	1.81
ATZ	1.37	1.95

Reproducibilidad

La reproducibilidad del método fue evaluada por dos analistas durante dos días. En la Tabla 17 se presentan los coeficientes de variación para cada uno de los compuestos a diferentes niveles de concentración. Se puede observar que ninguno de los coeficientes obtenidos es superior al 2% por lo que el método es reproducible al momento de ser aplicado por distintos analistas.

Tabla 17. Coeficientes de variación para cada uno de los compuestos evaluados a diferentes niveles de concentración

Compuesto	15 µg/L	30 µg/L	50 µg/L
DIA	1.46	1.22	0.70
DEA	0.77	1.36	1.08
ATZ	1.20	1.14	0.36

Recobro

El recobro es el parámetro más importante a considerar al validar una metodología, es quien determina el porcentaje de recuperación de los compuestos una vez que están en contacto con la matriz de la muestra que se desea analizar. En la Tabla 18 se muestran los porcentajes de recuperación para cada uno de los compuestos después de procesar muestras a diferentes niveles de concentración utilizando como matriz agua superficial proveniente de los canales de Xochimilco, México.

Tabla 18. Porcentaje de recuperación de cada uno de los compuestos a diferentes niveles de concentración en agua superficial

Nivel	[µg/L]	DIA	DEA	ATZ
1	15	97	95	87
2	20	109	93	96
3	30	106	90	98
4	40	107	102	100
5	50	97	95	100
6	60	109	94	96

Se puede observar que el menor porcentaje de recuperación (87%) se obtuvo para la ATZ a una concentración de 15 µg/L, mientras que para los otros niveles de concentración la recuperación estuvo por encima del 90%, lo que indica, que el método optimizado es adecuado para determinar DIA, DEA y ATZ con exactitud a diferentes concentraciones en muestras reales.

Si se analizan los recobros obtenidos para la DIA se observan valores por encima del 90%, estos resultados muestran que se logró obtener un método que permite una buena recuperación de la DIA, ya que de los tres compuestos es el que presenta mayor dificultad de extracción al utilizar la fase C₁₈. Una vez más se logra observar la ventaja de las fases poliméricas frente a las fases de sílice modificadas al determinar analitos de mediana polaridad. Los bajos porcentajes de recuperación en los niveles de 15 y 20 µg/L pueden estar relacionado con las limpiezas que se les realizaron a los extractos una vez eluidos del cartucho para eliminar algunas interferencias como la clorofila.

En la Tabla 19 se pueden comparar los principales parámetros de linealidad entre las ecuaciones halladas para las muestras fortificadas en agua ultrapura y las muestras fortificadas con agua superficial. Se observa que los coeficientes de correlación de Pearson disminuyeron, sin embargo, su valor aún presenta una buena cercanía a un valor de 1. Los cambios más drásticos se aprecian para los valores del intercepto de la ecuación. Esto puede deberse a que se incluyó una etapa de limpieza de los extractos debido a que presentaban una coloración verde que se le atribuyó a la presencia de clorofila en el sistema de Canales de Xochimilco. Se requiere optimizar esta etapa de limpieza para mejorar los coeficientes de correlación y disminuir el intervalo de confianza de la pendiente.

Tabla 19. Comparación de los parámetros de linealidad del método optimizado usando agua ultrapura y agua superficial

compuesto	Ecuación (sin matriz)	Ecuación (en matriz)	r (sin matriz)	R (en matriz)	I.C de la pendiente (sin matriz)	I.C de la pendiente (en matriz)
DIA	y = 456x- 2819	y = 483x- 3020	0.992	0.977	± 40	± 74
DEA	y = 926x- 15	y = 927x- 2124	0.995	0.963	± 63	± 183
ATZ	y = 1707x- 4385	y = 1713x- 6478	0.996	0.983	± 93	± 226

4.5. Aplicación en muestras reales: Caso de estudio canales de Xochimilco

El método validado se aplicó en la determinación de la atrazina, desetilatrastina y deisopropilatrastina en muestras reales provenientes de 8 sitios de muestreo de los canales de Xochimilco.

A cada una de las muestras se le determinó el pH y la temperatura en campo mediante el uso de un multiparametro y el contenido de materia orgánica (mg/L). Los resultados obtenidos y las especificaciones de cada sitio de muestreo se detallan en la Tabla 20.

Tabla 20. Resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de las muestras provenientes de los canales de Xochimilco

punto	Zona	pH	Materia orgánica (mg/L)
1	Urbana	7.2	1.29
2		8.3	1.37
3	Uso de agroquímicos	8.0	1.63
4		8.6	1.65
5	Transición	7.9	1.47
6		8.8	1.35
7	orgánica	8.2	1.29
8		7.43	1.54

Se puede observar que los valores de materia orgánica se mantuvieron constantes para cada uno de los puntos muestreados y que en ninguno de los casos excedieron los 2 mg/L. Por lo que el método propuesto pudo ser aplicado sin esperar que ocurriera alguna interferencia debido a la influencia de la materia orgánica en la EFS.

Análisis de las muestras sin fortificaciones

Las muestras fueron procesadas como se indica en el inciso 3.5.8 y se les aplicó el método por EFS descrito en la Tabla 13 señalada arriba. Al realizar las determinaciones de los analitos se empleó una etapa de limpieza debido a que después que se hizo la elución de los cartuchos se observaba una coloración verde en los extractos debida al alto contenido de materia vegetal en el sistema de canales. Las muestras se limpiaron haciéndolas pasar por unas pequeñas columnas empacadas con sulfato de sodio anhidro y sílice.

En la Tabla 21 se pueden observar los resultados obtenidos. El primer análisis de las muestras se realizó sin la adición de estándares, se logró determinar la presencia de la DIA en tres de los puntos muestreados correspondientes a: la zona urbana, zona con uso de agroquímicos y en la zona orgánica; y, la presencia de la DEA en la zona orgánica. Se reportan dos valores de concentración, donde el más alto corresponde al valor determinado con la ecuación lineal de la DEA y DIA, mientras que el valor menor corresponde a la concentración determinada en la muestra obtenida de los canales de Xochimilco. Con estos resultados es notable la aplicación de la extracción en fase sólida como técnica de concentración.

Tabla 21. Resultados de la determinación de ATZ, DEA y DIA en los canales de Xochimilco. Muestras sin adición de estándar

Punto	Zona	DIA			DEA			ATZ		
		Tr	Área	[µg/L]	Tr	Área	[µg/L]	Tr	Área	[µg/L]
1	Urbana	7.693	2663	12.02	-	-	-	-	-	-
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Uso de agroquímicos	7.694	3865	14.65	-	-	-	-	-	-
4		-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Transición	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6		-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	orgánica	7.695	1360	9.16	7.781	3378	3.66	-	-	-
8		-	-	-	-	-	-	-	-	-

Estas muestras provienen de tres zonas diferentes del sistema de canales por lo que la presencia de este compuesto podría estar relacionado con el destino ambiental de la atrazina una vez entra en el ambiente, ya que la atrazina puede sufrir fenómenos de degradación que llevan a la formación de sus metabolitos y estos pueden dispersarse y ser encontrados en lugares diferentes de donde son aplicados.

En la Figura 13 se observan los cromatogramas obtenidos para estos puntos.

Para ratificar la presencia de estos compuestos se les adicionó a las muestras una concentración conocida de cada uno de los compuestos y se les realizó el proceso de extracción. Se logró comprobar la presencia de la DIA en el punto 1 y 3 (Zona urbana y Zona

con uso de agroquímicos) y de la DEA en el punto 7 de la zona orgánica. Los cromatogramas con la adición estándar se pueden ver en la sección de anexos.

En México, se ha logrado determinar la atrazina en diferentes sectores agrícolas en concentraciones mucho más altas que las recomendadas por las entidades reguladoras en otros países. Estos resultados proporcionan evidencias de un problema de contaminación debido al uso de atrazina como herbicida.

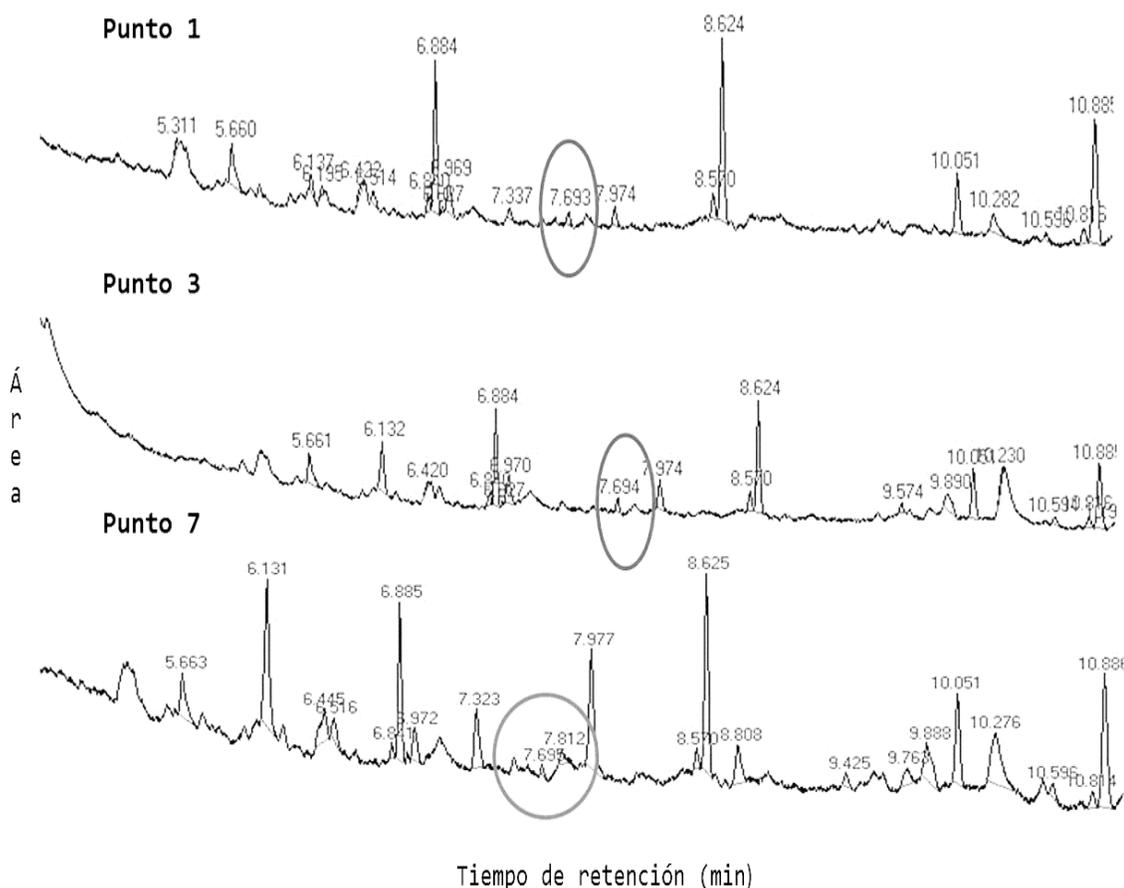


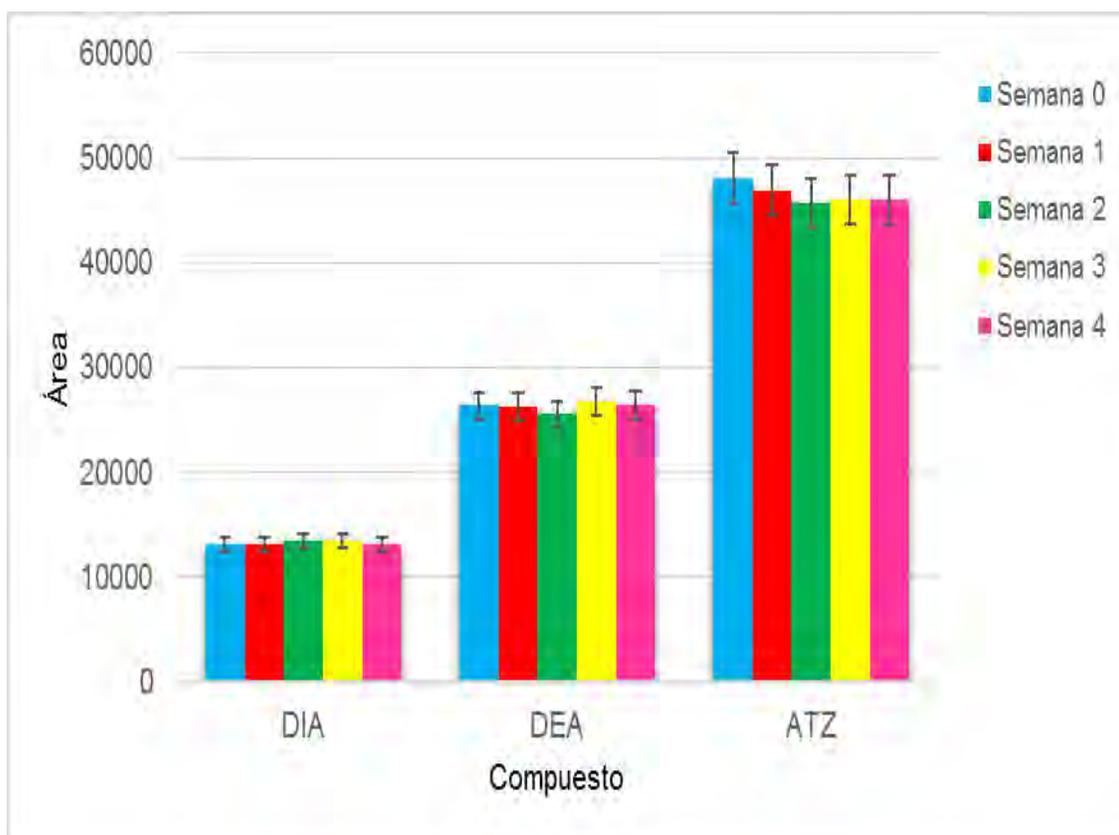
Figura 13. Cromatograma de los puntos 1, 3 y 7 de las muestras de Xochimilco

4.6. Estabilidad de los compuestos una vez retenidos en los cartuchos

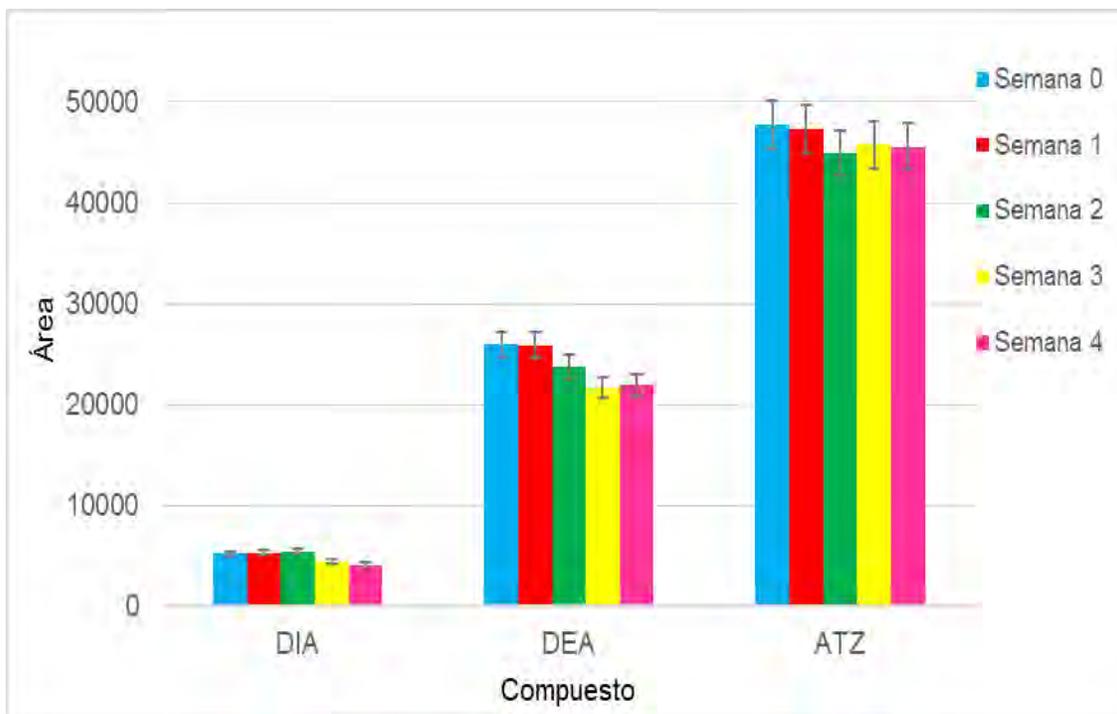
Debido a que los plaguicidas pueden ser degradados por muchos factores, tales como la hidrólisis y la acción microbiana. Se evaluó la estabilidad de la DIA, DEA y ATZ una vez retenidos en cada una de las fases adsorbentes evaluadas con la finalidad de conocer si las condiciones de almacenamiento eran las adecuadas para guardar los cartuchos sin eluir y

procesarlos al momento de análisis. La estabilidad se evaluó durante 4 semanas en las que los cartuchos estuvieron en refrigeración a 4°C y empacados en papel aluminio para evitar la degradación por la luz.

Los resultados obtenidos para cada una de las fases se muestran en las Gráficas 11 y 12. Se puede observar que la mayor estabilidad la presentan los compuestos cuando están retenidos en la fase HBL. Durante las 4 semanas no hubo variación en el área de los compuestos al momento de realizar el análisis cromatográfico, por lo que las condiciones de almacenamiento son óptimas para conservar las muestras antes de la elución de los compuestos retenidos en los cartuchos ya que no sufren degradación los analitos. La fase C₁₈ presenta variación en el área de los analitos después de la segunda semana, por lo que si se trabaja con la C₁₈ lo más adecuado sería no excederse de dos semanas de almacenamiento previos al análisis.



Gráfica 11. Estabilidad de los compuestos en la fase HBL



Gráfica 12. Estabilidad de los compuestos en la fase C₁₈

Estos resultados son ratificados por el CV de variación para cada uno de los analitos durante las 4 semanas de almacenamiento en cada una de las fases (Tabla 22). Se puede observar que los coeficientes de variación en los cartuchos HBL no son superiores al 2%, por lo que están por debajo del criterio de aceptación ($CV \leq 2\%$) con el que se realizó este trabajo.

Tabla 22. Coeficientes de variación para cada uno de los compuestos después de las 4 semanas de almacenamiento

Compuesto	HBL	C ₁₈
DIA	1.30	12.5
DEA	1.65	8.64
ATZ	2.00	2.60

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos, general y específicos, se señalan a continuación las conclusiones de esta investigación:

- El método diseñado y optimizado por el diseño factorial 2^4 permite extraer, determinar y cuantificar de manera simultánea a la ATZ, DEA y DIA en matrices acuosas aplicando la extracción en fase sólida con la fase polimérica: polidivinilbenceno-N-vinilpirrolidona contenida en los cartuchos OASIS HBL
- El diseño factorial 2^4 indicó que el único factor que influye en la recuperación de la ATZ, DEA y DIA en matrices acuosas es el tipo de fase ya que tiene un efecto estadísticamente significativo en la respuesta evaluada en el diseño
- El polímero polidivinilbenceno-N-vinilpirrolidona contenido en los cartuchos OASIS HBL presenta una mejor recuperación de los compuestos estudiados frente a la fase de octadecilo ligado a sílice. La recuperación de los compuestos se presenta entre un 80 y 100% mientras que en la C_{18} la DIA se recupera alrededor de un 50% ya que la C_{18} presenta poca afinidad por los compuestos de mediana polaridad
- La recuperación de la DEA y DIA no se ve afectada por el contenido de materia orgánica en un intervalo de concentración de 3-10 mg/L en matrices acuosas cuando se trabaja con muestras sintéticas preparadas con ácidos húmicos. Sin embargo, la ATZ presenta una disminución en el porcentaje de recobro al estar en solución junto con una concentración de ácidos húmicos superior a los 3 mg/L. la ATZ puede asociarse con la materia orgánica por ser un compuesto apolar y desfavorecer su retención en la fase polimérica
- La recuperación de la atrazina no se ve afectada por la materia orgánica cuando se tienen soluciones con diferentes valores de pH (3, 7 y 10) gracias a la estabilidad de los cartuchos OASIS HBL en todo el intervalo de pH
- El método analítico resultó ser específico, lineal y preciso en el intervalo de concentraciones estudiadas (15-60 $\mu\text{g/L}$). El recobro para todos los compuestos fue superior al 80% lo que evidencia que se logró obtener un método con buenos porcentajes de recuperación
- El método analítico fue validado con la cuantificación de la DIA y DEA en muestras de agua superficial provenientes del sistema de canales de Xochimilco

- Los compuestos pueden ser retenidos en los cartuchos OASIS HBL y almacenados durante 4 semanas, a 4°C y bajo condiciones controladas de luz ya que presentan estabilidad una vez retenidos y no se produce una variación mayor al 2% al momento de realizar el análisis cromatográfico después de la elución. La fase C₁₈ presenta variación en el área de los analitos después de la segunda semana, por lo que si se trabaja con la C₁₈ lo más adecuado sería no excederse de dos semanas de almacenamiento previos al análisis.

5.2. RECOMENDACIONES

Con base en los resultados de esta investigación se recomienda continuarla con los siguientes puntos.

- Está investigación pone en manifiesto una vez más la ventaja de los polímeros como fases adsorbentes al ser empleados en la extracción en fase sólida, por lo que sería interesante variar el tipo de polímero y darle prioridad a los que se encuentran disponibles en la naturaleza para así disminuir los costos de análisis
- Se recomienda realizar más muestreos en el sistema de canales de Xochimilco para corroborar la presencia de estos compuestos ya que son considerados como contaminantes emergentes y requieren de importancia por parte de las entidades gubernamentales
- Se recomienda procesar las muestras y analizarlas en un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas para asegurar la presencia de estos compuestos por su espectro de masas y no por medio de la adición de estándares
- Se recomienda hacer uso de un estándar interno para asegurar la calidad del análisis por tratarse de concentraciones traza

CAPÍTULO 6. ANEXOS

6.1. DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO NO PURGABLE

Las determinaciones de contenido de materia orgánica se realizaron utilizando un analizador de carbono orgánico total de SHIMADZU CORPORATION (TOC-V_{CPH/CPN}). Las muestras fueron previamente filtradas con un filtro de nylon de 0.20µm para eliminar los sólidos suspendidos y asegurar el buen funcionamiento del equipo. Una vez filtradas las muestras, se colocaron en un matraz y se introdujeron en el equipo. El equipo se encarga de acidificar las muestras en un rango de pH entre 2-3, luego burbujea aire para eliminar el contenido de carbono inorgánico y calcular el contenido de carbono orgánico total. Sin embargo, el contenido de carbono orgánico no purgable (CONP) es diferente al contenido de carbono orgánico total, ya que el CONP hace referencia al carbono orgánico presente en las muestras que no puede ser purgado por no ser volátil. Cuando una muestra contiene carbono orgánico purgable el contenido de carbono orgánico no puede ser medido por el método de CONP. Y cuando el contenido de carbono orgánico no purgable es grande, la cantidad que puede volatilizarse durante el burbujeo es muy pequeña, por lo que el contenido de carbono orgánico total puede expresarse como carbono orgánico no purgable. En las aguas naturales, tratadas y purificadas el contenido de carbono orgánico purgable es muy pequeño, por lo que los valores de CONP pueden referirse al contenido de carbono orgánico total (Shimadzu, 2003).

En la Figura 14 se puede observar la representación gráfica arrojada por el equipo para el contenido de carbono orgánico no purgable.

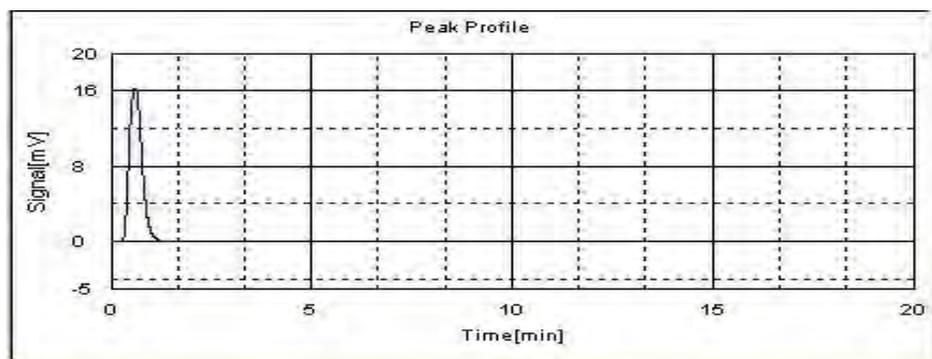
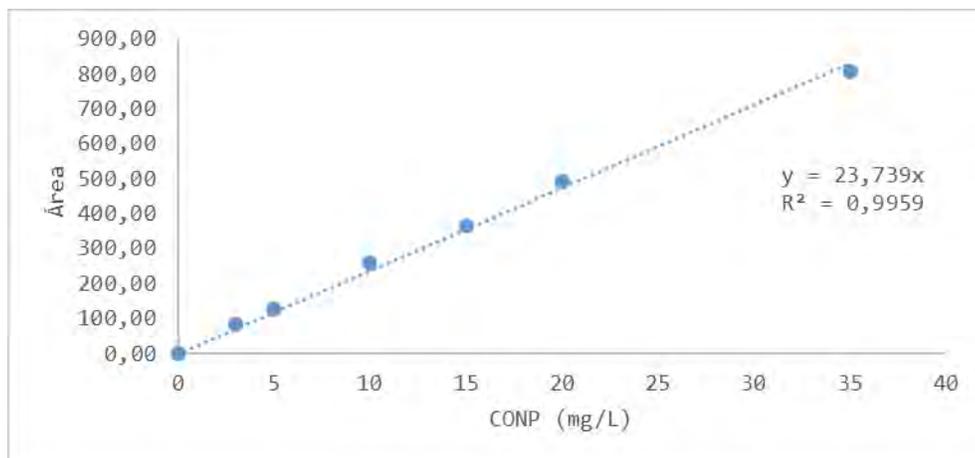


Figura 14. Representación del contenido de carbono orgánico no purgable

En la Gráfica 13 se muestra la curva de calibración realizada en un rango de 0-35 mg/L de carbono orgánico no purgable para el análisis de las muestras sintéticas elaboradas para el estudio de la influencia de la materia orgánica en la extracción en fase sólida de la atrazina, desetilatrizina y deisopropilatrizina y para el análisis de contenido de materia orgánica en las muestras provenientes de los 8 sitios de muestreo de los canales de Xochimilco.



Gráfica 13. Curva de calibración para la determinación de carbono orgánico no purgable (Nota de la autora: El paquete de Excel cambia los puntos decimales por comas en las gráficas)

En la Tabla 23 se muestran los valores obtenidos para cada uno de los sitios de muestreo y un ejemplo de cómo se calculó el contenido de materia orgánica para cada una de las muestras.

Tabla 23. Valores obtenidos para cada uno de los sitios muestreados

Punto	Zona	Área	Promedio	CV	[mg/L]
1	Urbana	30.65	30.85	1.85	1.29
		31.49			
		30.40			
2		32.67	32.52	0.42	1.37
		32.49			
		32.40			
3	Uso de agroquímicos	38.77	38.76	0.25	1.63
		38.85			
		38.66			
4		39.73	39.21	1.18	1.65
		39.04			
		38.85			
5	Transición	34.78	34.99	1.33	1.47
		35.53			
		34.68			
6		31.98	31.98	0.88	1.35
		32.26			
		31.70			
7	Orgánica	30.38	30.86		1.29
		31.16			
		30.54			
8		36.79	36.67	0.40	1.54
		36.51			
		36.72			

6.2. PROTOCOLO DE MUESTREO

Con la finalidad de aplicar el método analítico desarrollado se realizó el análisis de 8 muestras provenientes de los canales de Xochimilco. Las muestras recolectadas se tomaron de la parte superficial de los puntos descritos en la Tabla 24 y en la Figura 15.

El agua colectada fue almacenada en recipientes de vidrio color ámbar previamente lavados y etiquetados por sitios de muestreo. Se tomaron aproximadamente 1 L de agua por punto de muestreo y se transportaron en una hielera a 4 °C (para evitar procesos de degradación de la muestra) a las instalaciones de los Laboratorios 301-302-303 de Ingeniería química ambiental y de química ambiental ubicados en el Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron guardadas en un cuarto frío a 4°C durante aproximadamente 10 días.

Tabla 24. Zonas y coordenadas de los puntos muestreados en el sistema de canales de Xochimilco

Tipo de actividad	Número de muestra	Coordenadas del punto de muestreo (mayo 6 de 2016)
Zona urbana	1	N 19° 15' 54.3" O 99° 05' 37.7"
	2	N 19° 15' 41.2 " O 99° 04' 59.2 "
Zona chinampera con uso de agroquímicos (invernaderos y cultivos)	3	N 19° 15' 53.4 " O 99° 05' 08.4 "
	4	N 19° 15' 57.6 " O 99° 05' 19.1 "
Zona de transición o mixta	5	N 19° 16' 0.06 " O 99° 05' 13.4 "
	6	N 19° 16' 0.06 " O 99° 05' 13.4 "
Zona chinampera sin uso de agroquímicos (orgánica)	7	N 19° 16' 19.7 " O 99° 05' 23.3 "
	8	N 19° 16' 24.6 " O 99° 05' 14.2 "

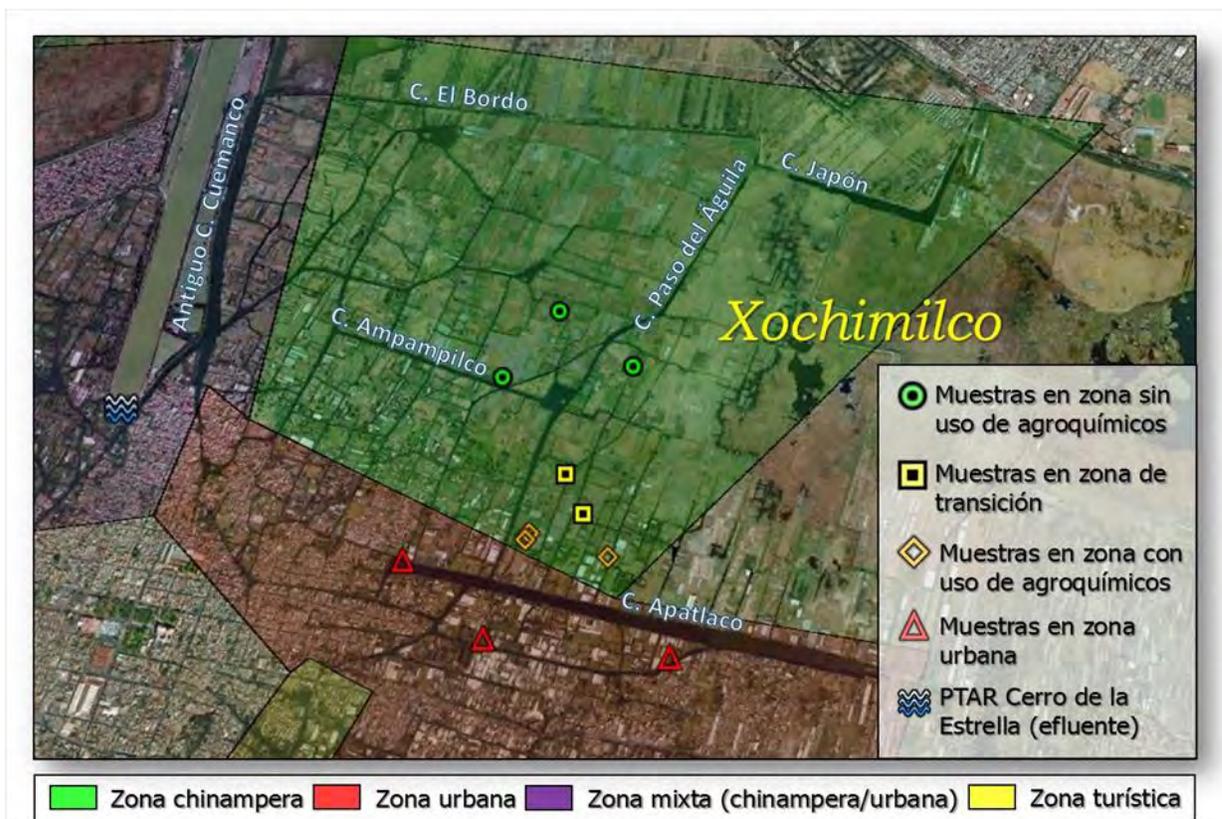


Figura 15. Mapa con la distribución de las zonas de muestreo en el sistema de canales de Xochimilco (García, 2016)

6.3. PROCEDIMIENTO DE LAVADO Y LIMPIEZA DEL MATERIAL UTILIZADO EN CROMATOGRAFÍA

Las condiciones de limpieza del material empleado en cromatografía juegan un papel muy importante al momento de establecer la calidad de un análisis. Se tiene que asegurar buenas condiciones en el material sobre todo cuando se utilizan materiales que están diseñados para ser usados en una sola ocasión, pero que por evitar gastos excesivos en los laboratorios de investigación son reutilizados.

Los materiales utilizados en esta investigación se sometieron al siguiente proceso de limpieza: una vez desocupado el material de vidrio se lavaron con agua destilada y se introdujeron en una solución de ácido nítrico al 15% por 24 horas con tal de eliminar la materia orgánica oxidable. Pasada las 24 horas el material se volvió a enjuagar con agua destilada y se introdujeron en el baño ultrasónico durante 90 minutos a una temperatura de 40 °C con jabón extran. Luego el material fue enjuagado nuevamente con agua destilada y se llevó a secado en una mufla a 350°C durante 3 horas.

6.4. MANEJO, TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS GENERADOS DURANTE EL DESARROLLO EXPERIMENTAL

Todos los residuos generados en esta experimentación fueron tratados por parte de la entidad responsable en la Facultad de Química, conocida como Unidad de Gestión Ambiental, UGA.

La mayoría de los residuos eran soluciones acuosas que contenían disolventes orgánicos (metanol, acetonitrilo, diclorometano) y restos de plaguicidas (atrazina, desetilatrazina y deisopropilatrazina).

6.5. DETERMINACIÓN DE LA RECTA DE CALIBRADO, COEFICIENTE DE CORRELACIÓN E INTERVALO DE CONFIANZA DE LA PENDIENTE. Límites de detección y cuantificación. Evaluación de la linealidad para la deisopropilatrazina (ejemplo).

Tabla 25. Resultados de la calibración realizada para la deisopropilatrazina en un intervalo de 15-60 $\mu\text{g/L}$

DEISOPROPILATRAZINA							
$x = \text{mg/L}$	$y = \text{área}$	x^2	Y^2	xy	$(x-X)$	$(y-Y)$	$(x-X)(y-Y)$
15	7778	225	60497284	116670	-20.8333	-13195.25	274901
15	7785	225	60606225	116775	-20.8333	-13188.25	274755
20	11246	400	126472516	224920	-15.8333	-9727.25	154015
20	10334	400	106791556	206680	-15.8333	-10639.25	168455
30	16003	900	256096009	480090	-5.8333	-4970.25	28993
30	15142	900	229280164	454260	-5.8333	-5831.25	34016
40	23104	1600	533794816	924160	4.1667	2130.75	8878
40	23926	1600	572453476	957040	4.1667	2952.75	12303
50	28264	2500	798853696	1413200	14.1667	7290.75	103286
50	30084	2500	905047056	1504200	14.1667	9110.75	129069
60	38501	3600	1482327001	2310060	24.1667	17527.75	423587
60	39512	3600	1561198144	2370720	24.1667	18538.75	448020
Promedios		$X = 35.833$	$Y = 20973.25$	$n = 12$	$\sum x = 430$	$\sum y = 251679$	
SUMATORIAS		18450	6693417943	11078775	0	0	2060278

Suma de cuadrados (SSx)y (SSy)

$$SSx = \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} = 18450 - \frac{(430)^2}{12} = 3041.67$$

$$SSy = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} = 6693417943 - \frac{(251670)^2}{12} = 1414891356$$

Suma de productos cruzados (SS_{xy})

$$SS_{xy} = \sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n} = 11078775 - \frac{(430 * 251679)}{12} = \mathbf{2060278}$$

Coefficiente de correlación de Pearson (r)

$$r = \frac{SS_{xy}}{\sqrt{SS_x * SS_y}} = \frac{2060278}{\sqrt{3041.67 * 1414891356}} = \mathbf{0.993}$$

Pendiente (m) e intercepto (b)

$$m = \frac{SS_{xy}}{SS_x} = \frac{2060278}{3041.57} = \mathbf{677} ; \quad b = Y - mX = 20973.25 - (677 * 35.833) = \mathbf{-3299}$$

Suma de cuadrados del error (SS_e)

$$SS_e = SS_y - mSS_{xy} = 1414891356 - (677 * 2060278) = \mathbf{19359287.1}$$

Suma de cuadrados de la regresión (SS_R)

$$SS_R = mSS_{xy} = 677 * 2060278 = \mathbf{1395532069}$$

Varianza residual (S_e²)

$$S_e^2 = \frac{SS_e}{n - 2} = \frac{19359287.1}{12 - 2} = \mathbf{1935929}$$

Hallar F de Fisher para probar la H₀: m=0; Si F_{calculada} > F_{tabulada} se rechaza H₀ y la ecuación del modelo es apropiada para usarse con propósitos de predicción.

$$F = \frac{SS_R}{S_e^2} \text{ con gl} = (1, n - 2), \quad F = \frac{1395532069}{1935929} = \mathbf{721}$$

En la Figura 16 se muestran los valores críticos para la distribución F a un nivel de confianza del 95%. Se puede observar que el valor tabulado para 1 grado de libertad en el numerador y 10 grados de libertad en el denominador es de 4.965, por lo que la ecuación del modelo hallado por regresión lineal para la deisopropilatazina es apropiada para usarse con propósitos de predicción.

Intervalo de confianza para la pendiente (I.C de m)

$$I.C = m \pm t_{0.05/2} \frac{\sqrt{S_e^2}}{\sqrt{SSx}} = 677 \pm 2.2281 \left(\frac{\sqrt{1935929}}{\sqrt{3041.67}} \right) = 677 \pm 56$$

En la Figura 17 se pueden observar los valores de la distribución $t_{student}$, la $t_{tabulada}$ para 10 grados de libertad es de 2.281, valor que se reemplaza en la ecuación del intervalo de confianza

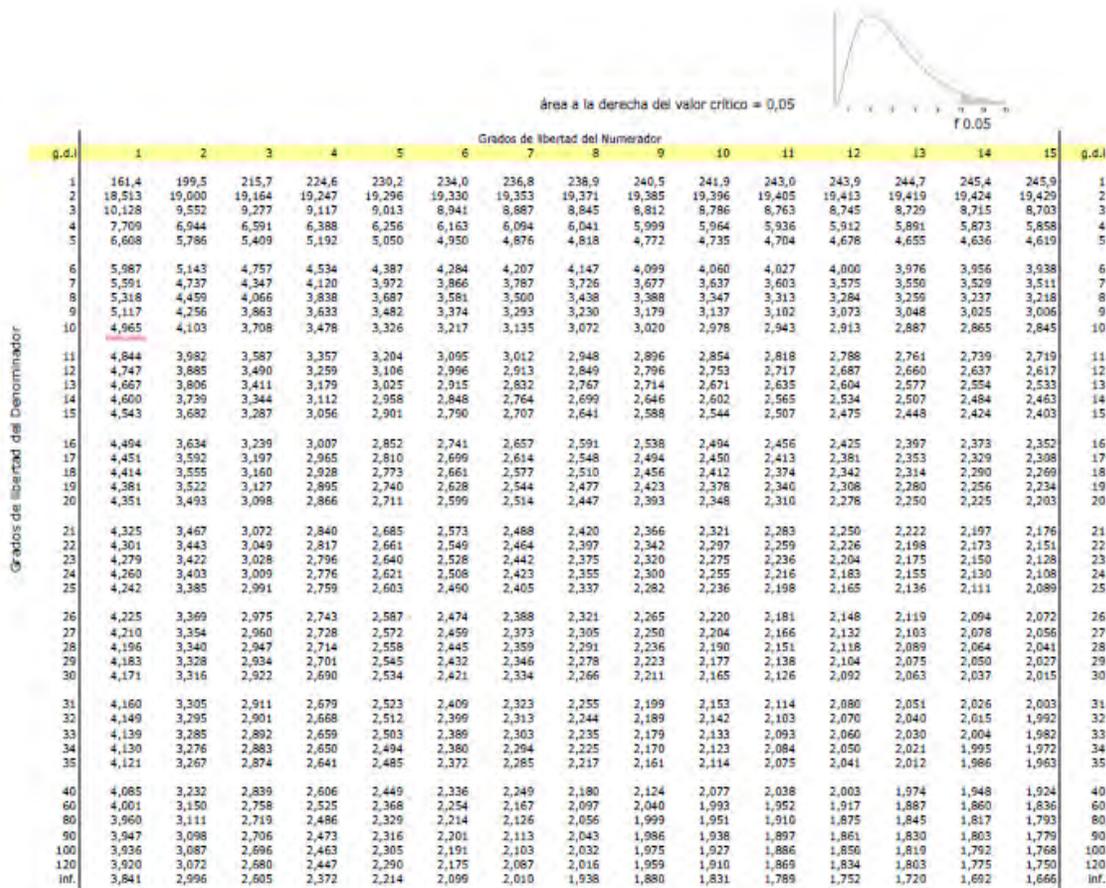


Figura 16. Valores críticos de la distribución F(0.05)

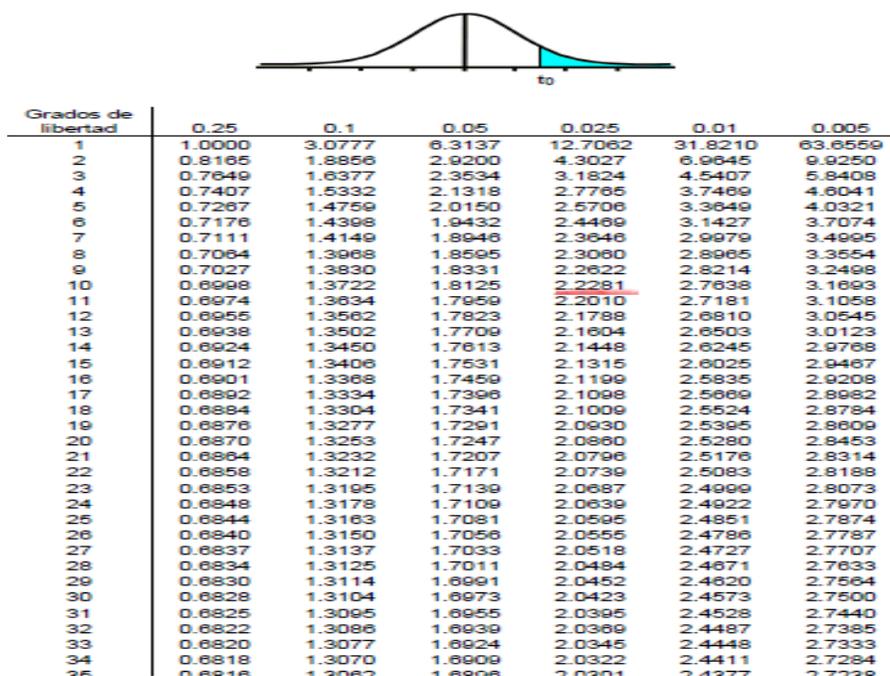


Figura 17. Valores críticos de la distribución t de Student

De esta manera se evaluó la linealidad para cada uno de los compuestos estudiados y se determinó la linealidad en la validación.

6.5.1. Límite de detección y límite de cuantificación

Para calcular el límite de detección y el límite de cuantificación se prepararon 10 soluciones de 2 µg/L y se analizaron en el cromatógrafo de gases. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 26.

Tabla 26. Resultados obtenidos para determinar el límite de detección y de cuantificación de la deisopropilatrazina

Replica	DIA	
1	595	Promedio: 929
2	695	
3	1025	Desviación: 315
4	1120	
5	850	LD (µg/L): 2.77
6	1340	LC (µg/L): 6.02
7	1510	
8	1010	
9	560	
10	580	

Ecuación lineal para la DIA $y = 677x - 3299$

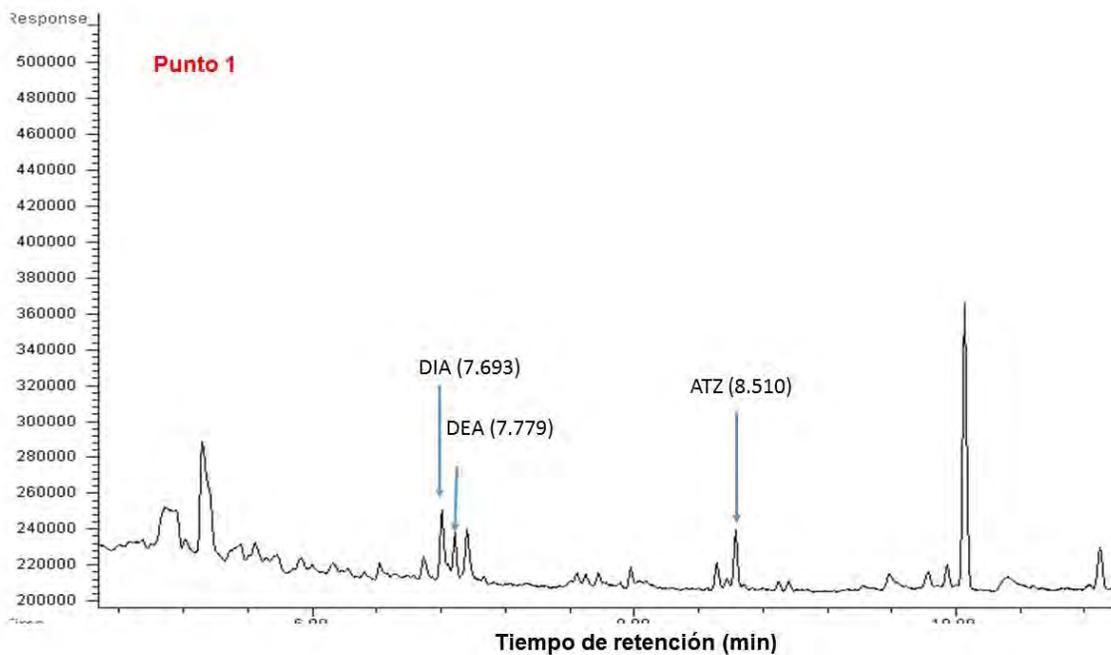
- Límite de detección (LD)

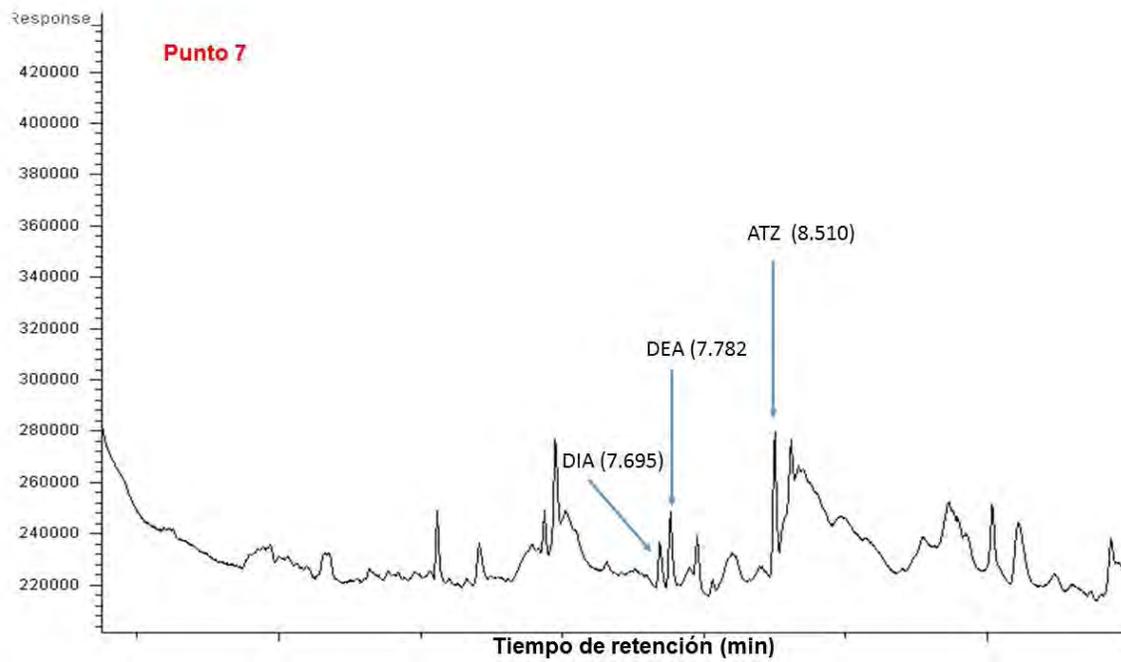
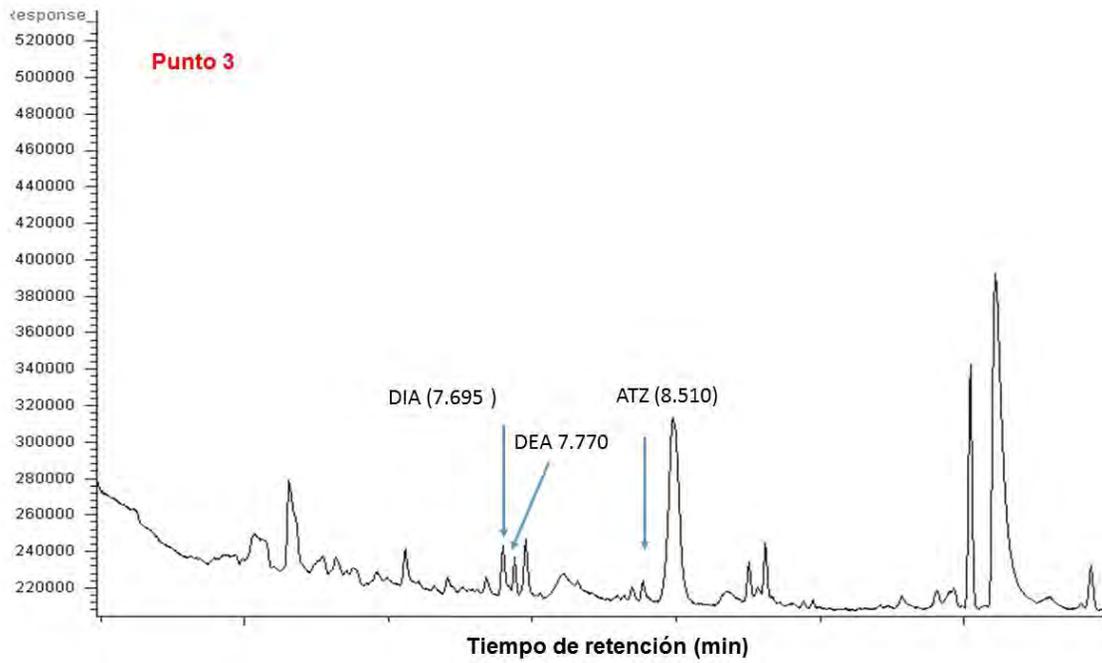
$$LD = \frac{\text{Promedio} + (3 * \text{Desviación})}{\text{Pendiente de la ecuación}} = \frac{929 + (3 * 315)}{677} = 2.77 \mu\text{g/L}$$

- Límite de cuantificación (LC)

$$LD = \frac{\text{Promedio} + (10 * \text{Desviación})}{\text{Pendiente de la ecuación}} = \frac{929 + (10 * 315)}{677} = 6.02 \mu\text{g/L}$$

6.6. CROMATOGRAMAS DE LOS PUNTOS 1,3 Y 7 (MUESTRAS CANALES DE XOCHIMILCO)





REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agbekodo, M., Legube, B., Dard, S. **1996**. Atrazine and simazine removal mechanisms by nanofiltration: Influence of natural organic matter concentration. *Water Research* **30**: 2535-2542.
- Alcántara, V. **2014**. Caracterización y diagnóstico de la contaminación por plaguicidas en el lago de Xochimilco. Tesis de Doctorado. Programa de Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM. México.
- Amadori, M., Cordeiro, G. **2013**. Extraction method for the determination of atrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine in agricultural soil using factorial design. *Journal Brazilian Chemistry Society* **24(3)**:483-491.
- Amaral, B., Araujo, J., Peralta, P., Nagata, N. **2014**. Simultaneous determination of atrazine and metabolites (DIA and DEA) in natural water by multivariate electronic spectroscopy. *Microchemical Journal* **117**: 262-267.
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieru, V., Cerdá, V. **2015a**. Solid phase extraction of organic compounds: a critical review. Part I. *Trends in Analytical Chemistry*. <http://dx.doi.org/doi: 10.1016/j.trac.2015.08.015>.
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieru, V., Cerdá, V. **2015b**. Solid phase extraction of organic compounds: A critical review. Part II. *Trends in Analytical Chemistry*. <http://dx.doi.org/doi: 10.1016/j.trac.2015.08.014>.
- Anónimo. 2016. <http://www.profesorenlinea.com.mx/fisica/masaypeso.html>. 15092016.
- Aranguré, F.J., Zambrano, R.M., González, L., Robledo, M. **2011**. Evaluación de los niveles de contaminación por residuos de plaguicidas organoclorados en sedimento y peces, de la presa de Aguamilpa, Nayarit, México. *Waxapa* **1**:20-35.
- Arias, J. L. de O., Rombaldi, C., Caldas, S. S., Primel, E. G. **2014**. Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1360**: 66–75.
- Baltazar, M.T., Dinis, R.J., Bastos, M.L., Tsatsakis, A.M., Duarte, J.A., Carvalho, F. **2014**. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases - a mechanistic approach. *Toxicology Letter* **230(2)**:85-103.
- Barbash, J.E. **2014**. Treatise on Geochemistry (Second edition). *Earth Systems and Environmental Sciences* **11**:535-572.

- Benotti, M., Trenholm, R., Vanderford, B., Holady, J., Stanford, B., Snyder, S. **2009**. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environmental Science and Technology* **43**:597-603.
- Bielicka-Daszkiwicz, K., Voelkel, A. **2009**. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta* **80**: 614-621.
- Caballero, B., Finglas, P.M., Toldrá, F. **2016a**. *Encyclopedia of Food and Health. Capítulo: Pesticides and Herbicides: Types of pesticides*. Elsevier. Oxford, Inglaterra. Pp. 319-323.
- Caballero, B., Finglas, P.M., Toldrá, F. **2016b**. *Encyclopedia of Food and Health. Capítulo: Pesticides and Herbicides: Types, Uses, and determination of herbicides*. Elsevier. Oxford, Inglaterra. Pp. 326-332.
- Cabrera, L. **2002**. *Diccionario de aztequismos*. Puesto en orden y revisado por J. Ignacio Dávila Garibi. Luis Reyes García revisó los términos nahuas y Esteban Inciarte los que aparecen en latín. Colofón, S.A. México D.F. México.
- Cao, W., Hu, S. S., Ye, L. H., Cao, J., Xu, J. J., Pang, X. Q. **2015**. Trace-chitosan-wrapped multi-walled carbon nanotubes as a new sorbent in dispersive micro solid-phase extraction to determine phenolic compounds. *Journal of Chromatography A* **1390**: 13–21.
- Cejudo, E.A., Meza, M.M., Balderas, C.J., Mondaca, H.I., Rodríguez, R.R., Renteria, M.A., Félix, F.A. **2012**. Exposición a plaguicidas organoclorados en niños indígenas de Potam, Sonora, México. *Ra Ximhai* **8**:121-127.
- Chávez-López, C., Blanco-Jarvio, A., Luna-Guido, M., Dendooven, L., Cabirol, N. **2011**. Removal of methyl parathion from a chinampa agricultural soil of Xochimilco Mexico: A laboratory study. *European Journal of Soil Biology* **47**: 264-269.
- CICOPLAFEST. **2004**. Catálogo Oficial de Plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas Fertilizantes y Sustancias Tóxicas <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx>. 27/04/2015.
- Clavijero, F.J. **2009**. Historia antigua de México. 11ª ed. Editorial Porrúa.
- De Gerónimo, E., Aparicio, V., Bárbaro, S., Portocarrero, R., Jaime, S., Costa, J. **2014**. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere* **107**:423-31.
- Delcour, I., Spanoghe, P., Uyttendaele, M. **2014**. Literature review: Impact of climate change on pesticide use. *Food Research International* **68**:7-15.
- De Oliveira-Arias, J.L., Rombaldi, C., Souza-Caldas, S., Primel, E.G. **2014**. Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective,

rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography A* **1360**: 66-75.

- Díaz-Torres, E., Gibson, R. González-Farías, F. **2013**. Endocrine disruptors in the Xochimilco wetland, Mexico City. *Water Air Soil Pollut* **224**: 1586.
- Di Corcia, A., Costantino, A., Crescenzi, C., Samperi, R. **1999**. Quantification of phenylurea herbicides and their free and humic acid-associated metabolites in natural waters. *Journal of Chromatography A* **852**: 465-474.
- DOF. **2009**. DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. *Diario Oficial de la Federación*: Jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.
- EFSA. **2015**. Reasoned opinion on the setting of a new maximum residue level for atrazine in cereals. *European Food Safety Authority Journal* **13(6)**:4126.
- Eurachem. **2016**. Guía Eurachem. La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. *Eurolab España*. Primera Edición Española. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf. 15/04/2016.
- FAO. **2014**. Código internacional de conducta para la gestión de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/Code_of_Spanish_2015_Final.pdf. 25/04/2015.
- García, V.J. **2016**. Efecto de las concentraciones de cuatro de los principales productos metabólicos (desetilatrazina, deisopropilatrazina, 2-hidroxiatrazina y ácido cianúrico) de la atrazina sobre su descomposición en muestras de agua y sedimentos del sistema de canales de Xochimilco. Tesis de Doctorado. Programa de maestría y doctorado en Ingeniería Ambiental, UNAM. México. En proceso
- García-de-Llasera, M., Rodríguez-Castillo, A., Vera-Avila, L.E. **2007**. Relative influence of the dissolved humic material on the solid-phase extraction efficiency of pesticides from environmental water. *Journal of Environmental Science and Health Part B* **42**:615-627.

- Gauthier, E., Fortier, I., Courchesne, F., Pepin, P., Mortimer, J., Gauvreau, D. **2001**. Environmental pesticide exposure as a risk factor for Alzheimer's disease: A case-control study. *Environmental Research Section A* **86**:37-45.
- Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G. **2001**. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment International* **26**:483-495.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A. 2015a. *Biogeochemistry of Marine dissolved organic matter. Capítulo: Why Dissolved Organics Matter: DOC in Ancient Oceans and Past Climate Change*. Elsevier. 2^{da} Edición. Pp. 1-17. Oxford, Reino Unido.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A. 2015b. *Biogeochemistry of Marine dissolved organic matter. Capítulo: Chemical Characterization and Cycling of Dissolved Organic Matter*. Elsevier. 2^{da} Edición. P. 23. Oxford, Reino Unido.
- Hansen, A.M., Treviño-Quintanilla, L.G., Márquez-Pachecho, H., Villada-Canela, M., González-Márquez, L.C, Guillén-Garcés, R.A., Hernández-Antonio, A. 2013. Atrazina: Un herbicida polémico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* **29**:64-84.
- Hayes, T., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A., Vonk, A. **2002**. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *PNAS* **99**:5476-5480.
- Hernández, A., Hansen, A. **2011**. Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Rev. Int. Contam. Ambien.* **27(2)**:115-127.
- Herrero-Hernández, E., Andrade, M.S., Álvarez-Martín, A., Pose-Juan, E., Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J. **2013**. Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *Journal of Hydrology* **486**:234-254.
- Holvoeta, K., Seuntjensb. P., Vanrolleghema, P. **2007**. Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale. *Ecological Modelling* **209**:53-64.
- Huck, C.W., Bonn, G.K. **2000**. Recent developments in polymer-based sorbents for solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A* **88**: 51-72.
- Hurtado-Sánchez, M.C., Romero-González, R., Rodríguez-Cáceres, M.I., Durán-Merás, I., Garrido-Frenich, A. **2013**. Rapid and sensitive on-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis of pesticide in surface waters. *Journal of Chromatography A* **1305**:193-202.
- INECC. **2015a**. Plaguicidas. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/768-sqre-plaguicidas>. 07/05/2015.
- INECC. **2015b**. Características físico-químicas de los plaguicidas y su transporte en el ambiente. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.

http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/descargas/caracteristicas_fyq_plaguicidas.pdf. 07/0572015.

- INEGI. **2016a**. México en Cifras. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=9>. 14/09/2016.
- INEGI. **2016b**. México en Cifras. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <http://www.beta.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=09>. 14/09/2016.
- ITVER. **2016**. NOM-127-SSAI-1994. Instituto Tecnológico de Veracruz. http://www.itver.edu.mx/images/Imagenes/ano2015/SGA2/consumodeagua/NOM_127_SSA.pdf. 19/09/2016.
- Jablonowski, N.D., Schäffer, A., Barauel, P. **2011**. Still present after all these years: persistence plus potencial toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environmental Science and Pollution Research* **18**:328-331.
- Johnson, W.E, Fendinger, N.J., Plimmer, J.R. **1991**. Solid-phase extraction of pesticides from water: possible interferences from dissolved organic material. *Analytical Chemistry* **63**: 1510-1513.
- Karam, M.A., Ramírez, G., Bustamante, L.P., Galván, J.M. **2004**. Plaguicidas y salud de la población. *Ciencia Ergo Sum* **11**:246-254.
- Kovacic, N., Zupancic-Kralj, L. **2006**. Matrix effects in determination of triazines and atrazine metabolite in waters with solid-phase extraction followed by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical Letters* **39**:207-220.
- Kuranchie-Mensah, H., Manukure Atiemo, S., Naa-Dedei Palm, L. M., Blankson-Arthur, S., Osei Tutu, A., Fosu, P. **2012**. Determination of organochlorine pesticide residue in sediment and water from the Densu river basin, Ghana. *Chemosphere* **86**:286-292.
- La Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L. **2008**. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. Trends in *Analytical Chemistry* **27**:991-1007.
- Latrous El Atrache, L., Ben Sghaier, R., Bejaoui Kefi, B., Haldys, V., Dachraoui, M., Tortajada, J. **2013**. Factorial design optimization of experimental variables in preconcentration of carbamates pesticides in water samples using solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry determination. *Talanta* **117**:392-398.
- Laxma Reddy, P.V., Kim, K. **2015**. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides. *Journal of Hazardous Materials* **285**:325-335.
- Lee, D.J., Gang, J.G., Lee, S.Y., Choi, I.W., Chun, K.M., Cho, J.S., Seo, D.C. **2015**. Characterization of river natural organic matter by high-performance size exclusion chromatography. *Analytical Letters* **48 (18)**: 2936-2946.

- Legorreta, J. **2004**. El agua de Xochimilco y su region lacustre. <http://www.jornada.unam.mx/2004/05/31/eco-d.html>. 14/09/2016.
- Li, Y., Harir, M., Lucio, M., Kanawati, B., Smirnov, K., Flerus, R., Koch, B., Schmitt-Kopplin, P., Hertkorn, N. **2016**. Proposed guidelines for solid phase extraction of Suwannee river dissolved organic matter. *Analytical Chemistry* **88**: 6680-6688.
- Li, N., Lee, H. K. **2001**. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water negative effect of humic acid. *Journal of Chromatography A* **921(2)**:255-263.
- Li, H., Minor, E. **2015**. Dissolved organic matter in Lake Superior: insights into the effects of extraction methods on chemical composition. *Environmental Science Processes & Impacts* **17**:1829-1840.
- Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., Wenzel, A. **2003**. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **75**:631-681.
- Ma, W.T., Fu, K.K., Cai, Z., Jiang, G.B. **2003**. Gas chromatography / mass spectrometry applied for the analysis of triazine herbicides in environmental waters. *Chemosphere* **52**:1627-1632.
- Magnusson, M., Heimann, K., Ridd, M., Negri, A. **2013**. Pesticide contamination and phytotoxicación of sediment interstitial water to tropical benthic microalgae. *Water Research* **47**:5211-5221.
- Martínez-Pérez, L. **1996**. Estudio del comportamiento en el medioambiente de los herbicidas empleados en el maíz. Tesis Doctoral. Programa de Ingeniería química. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Madrid, España.
- Meffe, R., De Bustamante, I. **2014**. Emerging organic contaminants in surface water and groundwater: A first overview of the situation in Italy. *Science of the Total Environment* **481**:280-295.
- Min, G., Wang, S., Zhu, H., Fang, G., Zhang, Y. **2008**. Multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents for determination of atrazines and its principal metabolites in water and soil samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Science of the Total Environment* **396**:79-85.
- Moawed, E.A., Abulkibash, A.B., El-Shahat, M.F. **2015**. Synthesis of tannic acid azo polyurethane sorbent and its application for extraction and determination of atrazine and prometryn pesticides in foods and water samples. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* **3**: 61-66.
- Moldoveanu, S. **2015**. Modern sample preparation for chromatography. 1a edición. *Elsevier*. Págs.: 191-286.
- Moldoveanu, S., David, V. **2015**. Solid-Phase Extraction. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444543196000074>.

- Mostafalou, S., Abdollahi, M. **2012**. The role of environmental pollution of pesticides in human diabetes. *International Journal of Pharmacology* **8**:139-140.
- Mostafalou, S., Abdollahi, M. **2013**. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology* **268**:157-177.
- Naing, N. N., Li, S. F. Y., Lee, H. K. **2016**. Application of porous membrane-protected chitosan microspheres to determine benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and styrene in water. *Journal of Chromatography A* **1448**: 42–48.
- Niño, Y.F. **2010**. Determinación del nivel de exposición a plaguicidas por consumo de agua de pozo y la relación con los posibles efectos en la salud de la población residente en la vereda chorrillos del sector rural de Suba. *Tesis de Maestría*. Programa de Maestría en Salud Pública. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- OMS. **2004**. Prevención de los riesgos para la salud derivados del uso de plaguicidas en la agricultura. Organización Mundial de la Salud http://www.who.int/occupational_health/publications/es/pwh1sp.pdf. 06/05/2015.
- OPS. **2000**. La salud y el ambiente en el desarrollo sostenible. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 572.
- Palma, P., Köck-Schulmeyer, M., Alvarenga, P., Ledoa, L., Barbosa, I., López de Alda, M., Barceló, D. **2014**. Risk assessment of pesticides detected in surface water of the Alqueva reservoir (Guadiana basin, southern of Portugal). *Science of the Total Environment* **488-489**:2018-219.
- Pawliszyn, J. **2012**. Comprehensive sampling and sample preparation. Vol 2. *Elsevier*. Pp. 273-297.
- Peng, L. Q., Li, Q., Chang, Y. X., An, M., Yang, R., Tan, Z., Hao, J., Cao, J., Xu, J. J., Hu, S. S. **2016**. Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultrahigh performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1456**: 68–76.
- Pichon, V., Cau Dit Coumes, C., Chen, L., Guenu, S., Hennion, M.C. **1996**. Simple removal of humic and fulvic acid interferences using polymeric sorbents for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic, neutral and basic pesticides. *Journal of Chromatography A* **737**:25-33.
- PNI. **2007**. Plan Nacional de Implementación del Convenio de Estocolmo http://siscop.inecc.gob.mx/novedades/pni_mexico.pdf. 24/04/2015.

- Poerschmann, J., Kopinke, F.-D., Pawliszyn, J. **1997**. Solid phase microextraction to study the sorption of organotin compounds onto particulate and dissolved humic organic matter. *Environmental Science & Technology* **31**:3629-3636.
- Poole, C.F., Gunatilleka, A.D., Sethuraman, R. **2000**. Contributions of theory to method development in solid phase extraction. *Journal of Chromatography A* **885 (1-2)**: 17-39.
- Price, A.J., Kelton, J.A. **2013**. Herbicides-Advances in Research. Capítulo 13: **Recent Advances in the Extraction of Triazines from Water Samples**. Intech. Pp. 255-276.
- RAMSAR. **2016**. Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como habitat de aves acuáticas. <https://rsis.ramsar.org/RISapp/files/RISrep/MX1363RIS.pdf?language=es>. 14/09/2016.
- Richardson, S. **2008**. Environmental mass spectrometry: Emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry* **80**:4373-4402.
- Rodríguez-González, N., Beceiro-González, E., González-Castro, M.J., Muniategui-Lorenzo, S. **2013**. Application of a developed method for the extraction of triazines in surface waters and storage prior to analysis to seawaters of Galicia (Northwest Spain). *The Scientific World Journal*. ID 536369.
- Rodríguez-Mozaz, S., López-de-Alda, M.J., Barceló, D. **2007**. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *Journal of Chromatography* **1152**: 97-115.
- Segura, P., MacLeod, S., Lemoine, P., Sauvé, S., Gagnon, C. **2011**. Quantification of carbamazepine and atrazine and screening of suspect organic contaminants in surface and drinking waters. *Chemosphere* **84**:1085-1094.
- SEMARNAT. **2000**. La Gestión Ambiental en México 2000-2006. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/informacionambiental/Documents/06_o_tras/Gestion_Ambiental.pdf. 14/05/2015.
- SEMARNAT. **2016**. Convenio de Estocolmo. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <http://www.semarnat.gob.mx/temas/agenda-internacional/convenio-de-estocolmo>. 20/09/2016
- Senseman, S.A., Lavy, T.L., Mattice, J.D., Gbur, E.E. **1995**. Influence of dissolved humic acid and Ca-Montmorillonite clay of pesticide extraction efficiency from water using solid-phase extraction disk. *Environmental Science & Technology* **29**:2647-2653.

- Shimadzu. **2003**. PC-Controlled Total Organic Carbon Analyzer. TOC-V_{CPH/CPN} & TOC-Control V Software. User Manual. Shimadzu Corporation. Kyoto, Japan. http://www.ecs.umass.edu/eve/facilities/equipment/TOC/TOCV/TOC-V_CP_Users_Manual_E.pdf. 8/05/2016.
- Stashenko, E., Martínez, J.R. **2011**. Preparación de la muestra: Un paso crucial para el análisis por GC-MS. *Scientia Chromatographica* **3(1)**:25-49.
- Sturn, B., Knauth, H.D., Theobald, N., Wünsch, G. **1998**. Hydrophobic organic micropollutants in samples of coastal waters: efficiencies of solid-phase extraction in the presence of humic substances. Fresenius. *J Anal Chem* **361**:803-810.
- Tang, Z., Huang, Q., Yang, Y., Zhu, X., Fu, H. **2013**. Organochlorine pesticides in the lower reaches of Yangtze River: Occurrence, ecological risk and temporal trends. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **87**:89-97.
- USEPA. **2003**. Decision Documents for Atrazine. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-080803_1-Apr-06.pdf. 19/09/2016.
- USEPA. **2015**. Indicators: Atrazine. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. <http://www2.epa.gov/national-aquatic-resource-surveys/indicators-atrazine>. 11/11/2015.
- Urruty, L., Montury, M. **1996**. Influence of ethanol on pesticide extraction in aqueous solutions by solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem* **44**:3871-3877.
- Waliszewski, S.M., Meza, M.V., Infanzón, R.M., Trujillo, P., Morales, M. **2003**. Niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en mujeres con carcinoma mamario en Veracruz. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* **19(2)**:59-65.
- Warren, J., Fendinger, N., Plimmer, J. **1991**. Solid-Phase extraction of pesticide from water: Possible interferences from dissolved organic material. *Anal. Chem.* **63**:1510-1513.
- Waters. **2016a**. Productos Oasis para extracción de muestras. http://www.waters.com/waters/es_MX/Oasis-Sample-Extraction-Products/nav.htm?cid=513209&locale=es_MX. 01/09/2016.
- Waters. **2016b**. Simplifying solid phase extraction. <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720001692en.pdf>. 01/09/2016.
- Wells, D.A. 2003. High throughput bionalytical sample preparation and automation. Capítulo: Solid-phase extraction: High throughput techniques. *Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **5**: 361-432.
- WHO. **2011**. Guidelines for drinking-water quality - 4th ed. World Health Organization http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf. 25/10/2015.

- Winefordner, J.D. 2003. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, Inc. P.82. Hoboken, New Jersey.
- Wu, S., Cai, C., Cheng, J., Cheng, M., Zhou, H., Deng, J. **2016**. Polydopamine/dialdehyde starch/chitosan composite coating for in-tube solid-phase microextraction and in-situ derivation to analysis of two liver cancer biomarkers in human blood. **Analytica Chimica Acta 935**: 113-120.
- Zhang, Y., Zhang, E., Yin, Y., Dijk, M.A., Feng, L., Shi, Z., Liu, M., Qin, B. **2010**. Characteristics and sources of chromophoric dissolved organic matter in lakes of the Yungui Plateau, China, differing in trophic state and altitude. **Limnology and Oceanography 55**: 2645-2659.
- Zúñiga, E., Arellano, E., Camarena, L., Daesslé, W., Von-Glascoe, C., Leyva, J.C., Ruiz, B. **2012**. Daño genético y exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín, Baja California, México. **Rev. Salud Ambiental 12-2**:93-101.