



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE PARAQUAT EN MATRICES
ACUOSAS AMBIENTALES”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA**

PRESENTA

FRIDA KAREN REYES BERBER



CIUDAD DE MÉXICO

AÑO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: **Ciro Eliseo Márquez Herrera**
VOCAL: Profesor: **Olivia Zamora Martínez**
SECRETARIO: Profesor: **Luis Daniel Sifuentes Vázquez**
1er. SUPLENTE: Profesor: **Vicente Esquivel Peña**
2° SUPLENTE: Profesor: **Elizabeth Reyes López**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA, DEPTO. DE EDAFOLOGÍA, PRIMER PISO, INSTITUTO DE GEOLOGÍA.

LABORATORIO NACIONAL DE GEOQUÍMICA Y MINERALOGÍA (LANGEM).

**CIRCUITO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA S/N CIUDAD UNIVERSITARIA DELEGACIÓN COYOACÁN, C.P.
04510, CIUDAD DE MÉXICO, MÉXICO.**

ASESOR DEL TEMA: OLIVIA ZAMORA MARTÍNEZ

SUSTENTANTE: FRIDA KAREN REYES BERBER

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por haberme brindado los recursos necesarios durante toda mi formación profesional.

Mi más profundo agradecimiento a la Dra. Olivia Zamora Martínez por permitirme trabajar en su laboratorio, por su paciencia, su apoyo, sus consejos, sus valiosos conocimientos, su tiempo y detalles brindados al guiarme a largo de la elaboración de la presente tesis.

Asimismo, agradezco al Instituto de Geología y al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía por el uso de sus instalaciones y equipos.

Igualmente agradezco al profesor Luis Daniel Sifuentes Vázquez por su paciencia, consejos, tiempo, detalles y valiosos conocimientos aportados, tanto en la realización de mi servicio social como en la elaboración de mi tesis.

Al profesor Ciro Eliseo Márquez Herrera por las observaciones y comentarios hechos a este trabajo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. OBJETIVOS	3
1.1. <i>Objetivo general</i>	3
1.2. <i>Objetivos particulares</i>	3
2. ANTECEDENTES	4
2.1. <i>Plaguicidas</i>	4
2.2. <i>Clasificación de los plaguicidas</i>	4
2.3. <i>Paraquat</i>	6
2.3.1. <i>Características</i>	7
2.3.2. <i>Toxicidad</i>	7
2.4. <i>Determinación de paraquat</i>	9
2.4.1. <i>Técnicas de preconcentración y extracción</i>	15
2.5. <i>Espectrofotometría Ultravioleta-Visible</i>	19
2.6. <i>Validación</i>	27
2.6.1. <i>¿Qué es validar?</i>	27
2.6.2. <i>Importancia de la validación</i>	27
2.6.3. <i>Método normalizado vs método no normalizado</i>	28
2.6.4. <i>¿Cuándo es necesario validar un método?</i>	29
2.6.5. <i>Definiciones</i>	29
2.6.6. <i>Parámetros de desempeño y criterios de aceptación</i>	34
2.7. <i>Parque Nacional de Lagunas de Montebello</i>	38
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	40
3.1. <i>Materiales y equipos</i>	40
3.2. <i>Reactivos y disolventes</i>	40
3.3. <i>Metodología</i>	40
3.3.1. <i>Condiciones espectrofotométricas para la determinación de paraquat</i>	40
3.3.2. <i>Preparación de la disolución de cloruro de amonio</i>	40
3.3.3. <i>Preparación de la disolución patrón de paraquat</i>	41

3.3.4. Preparación de las disoluciones estándar de paraquat	41
3.4. Validación del método	41
3.4.1. Determinación del intervalo lineal	41
3.4.2. Determinación de los límites de detección y cuantificación	42
3.4.3. Determinación de la repetibilidad	42
3.4.4. Determinación de la veracidad	42
3.5. Muestras	43
3.5.1. Almacenamiento y tratamiento de las muestras	44
3.5.2. Blancos de muestras	45
3.5.3. Muestras fortificadas	45
3.5.4. Evaluación del efecto matriz	46
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1. Espectro de absorción del paraquat en el UV	47
4.2. Intervalo lineal	48
4.3. Límites de detección y cuantificación	50
4.4. Precisión	51
4.5. Veracidad	52
4.6. Evaluación del efecto matriz	55
4.6.1. Blancos de muestras	55
4.6.2. Muestras fortificadas	56
5. CONCLUSIONES	75
ANEXOS	76
REFERENCIAS	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su campo de acción.	4
Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas con base en la toxicidad de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud.	5
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del paraquat también conocido como 1,1'-dimetil-4,4'-dicloro bipyridina.	7
Tabla 4. Distintos métodos de cuantificación de paraquat en diversas matrices.	11
Tabla 5. Técnicas de preconcentración y extracción.	16
Tabla 6. Parámetros de desempeño para métodos fisicoquímicos con base al tipo de prueba.	35
Tabla 7. Criterios de aceptación para el intervalo lineal, intervalo de trabajo y límite de cuantificación.	36
Tabla 8. Guía para considerar los niveles del intervalo lineal.	37
Tabla 9. Criterios de aceptación para la recuperación de residuos y contaminantes en alimentos y agua.	37
Tabla 10. Criterios de aceptación para la repetibilidad y reproducibilidad de residuos y contaminantes en alimentos y agua.	38
Tabla 11. Clave de las muestras y nombre de la correspondiente laguna de Montebello.	44
Tabla 12. Absorbancias obtenidas a 258 nm de las 4 réplicas correspondientes a los 9 niveles de concentración empleados en la curva de calibración para determinar el intervalo lineal.	49
Tabla 13. Parámetros estadísticos para la regresión lineal de la curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat a un nivel de confianza del 95 %.	50
Tabla 14. Límites de detección y de cuantificación instrumentales para el análisis de paraquat (n=7).	50
Tabla 15. Mediciones de la absorbancia de distintos estándares de paraquat para determinar la repetibilidad.	51

Tabla 16. Determinación de la veracidad del método para cuantificar paraquat mediante espectrofotometría.	53
Tabla 17. Parámetros de la validación del método para determinar paraquat mediante espectrofotometría ultravioleta.	54
Tabla 18. Absorbancia obtenida para los blancos de muestras de las lagunas de Montebello.	55
Tabla 19. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Yalmutz (Y01).	56
Tabla 20. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Vuelta del agua (V02).	56
Tabla 21. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S02).	57
Tabla 22. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S04).	57
Tabla 23. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S06).	58
Tabla 24. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S08).	58
Tabla 25. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S09).	59
Tabla 26. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).	59
Tabla 27. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03).	60
Tabla 28. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Bosque Azul (B07).	60
Tabla 29. Evaluación de la presencia del efecto matriz en la cuantificación de paraquat en las muestras de las lagunas de Montebello.	67
Tabla 30. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Yalmutz (Y01).	68

Tabla 31. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Vuelta del agua (V02).	68
Tabla 32. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S02).	69
Tabla 33. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S04).	69
Tabla 34. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S06).	70
Tabla 35. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S08).	70
Tabla 36. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S09).	71
Tabla 37. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).	71
Tabla 38. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03).	72
Tabla 39. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Bosque Azul (B07).	72
Tabla 40. Resultados de las pruebas de rachas sobre el ajuste lineal de las gráficas de concentración determinada en función de la concentración adicionada de las lagunas de Montebello.	73
Tabla 41. Resultados de las pruebas de hipótesis para confirmar la ausencia del efecto matriz en las muestras de las lagunas de Montebello.	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del paraquat.	6
Figura 2. Estructura química del diquat.	6
Figura 3. Reacción de derivatización del paraquat.	10
Figura 4. Interacción de la radiación con la materia.	19
Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro.	21
Figura 6. Imagen satelital de la ubicación de las lagunas estudiadas.	43
Figura 7. Espectro de absorción en el intervalo de 200 a 400 nm para una disolución de 25 mg/L de paraquat.	47
Figura 8. Curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat en muestras acuosas mediante espectrofotometría ultravioleta, n=4 ($\lambda = 258$ nm).	48
Figura 9. Evaluación del efecto de matriz en la muestra de la laguna Yalmutz (Y01).	61
Figura 10. Evaluación del efecto de matriz en la muestra de la laguna Vuelta del agua (V02).	62
Figura 11. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S02).	62
Figura 12. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S04).	63
Figura 13. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la Laguna San Lorenzo (S06).	63
Figura 14. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la Laguna San Lorenzo (S08).	64
Figura 15. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S09).	64
Figura 16. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).	65

Figura 17. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03). 65

Figura 18. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Bosque Azul (B07). 66

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el diseño y validación de un método para la cuantificación del herbicida paraquat en muestras de agua superficial mediante espectrofotometría ultravioleta. La ventaja de la metodología propuesta es la realización de análisis de manera directa, rápida y de bajo costo, sin la necesidad de la obtención previa de un derivado del herbicida.

Los parámetros que se evaluaron en la validación del método fueron: intervalo lineal (n=4) para nueve niveles de concentración, sensibilidad (m), límites de detección y de cuantificación (n=7), precisión (n=3), veracidad (n=3) y recobros (n=3).

Los resultados indican que el intervalo de linealidad se encuentra comprendido entre 0.5 mg/L y 50.0 mg/L de paraquat. La sensibilidad del método es de (0.0601 ± 0.0005) uA·L/mg. Los límites de detección y de cuantificación fueron 0.29 mg/L y 0.44 mg/L, respectivamente. Esta metodología resultó ser precisa, % CV ≤ 4.8 , y veraz (90.0 % - 103.2 %).

Los resultados de la fortificación con paraquat, de las muestras acuosas tomadas de los lagos de Montebello, Chiapas, indicaron la ausencia de interferencias de matriz, ya que se obtuvieron porcentajes de recobro, para los 5 niveles de concentración de trabajo, comprendidos entre 70 % y 110 %; lo cual se ratificó al graficar la concentración recuperada vs la concentración adicionada, en donde el valor de la pendiente (m) resultó ser igual a la unidad de acuerdo con la prueba de hipótesis sobre este parámetro a un nivel de confianza del 95 %.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se requiere una mayor producción agrícola para satisfacer las necesidades de la población, el rendimiento y calidad de las cosechas se ven afectados por distintos factores como lo son las plagas, para contrarrestarlas se han empleado diversos compuestos conocidos como plaguicidas, éstos se pueden definir como cualquier agente utilizado para matar organismos no deseados tales como insectos (insecticidas), caracoles y babosas (molusquicidas), roedores (rodenticidas), plantas (herbicidas) u hongos (fungicidas). Los plaguicidas pueden clasificarse de varias maneras, de acuerdo a su toxicidad, su grupo químico o su modo de acción [1].

A pesar de los beneficios de emplear plaguicidas, como lo es el controlar la proliferación de vectores de enfermedades y plagas, tanto en la ganadería como en la agricultura, el uso incorrecto de este tipo de sustancias trae como consecuencia daños al medio ambiente y a la salud. Sobre todo, en países en vías de desarrollo, como México, el uso indiscriminado de los plaguicidas es sumamente grave porque contaminan significativamente al medio ambiente; además de que su manipulación genera casos de intoxicación, ya que no siempre se aplican bajo las condiciones de seguridad recomendadas, debido a la falta del equipo de protección necesario.

Dentro del grupo de los herbicidas se encuentra el paraquat, que es un compuesto moderadamente tóxico (clase II) de acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud [2] y moderadamente estable, por lo que su monitoreo en diversas matrices ambientales es de vital importancia.

Debido a su estructura química es posible su determinación por medio de espectroscopia ultravioleta, sin embargo, ya que se trata de una técnica de análisis no selectiva, es necesario llevar a cabo una meticulosa evaluación de su cuantificación, que involucra la optimización y la validación de la metodología, así como sus alcances analíticos.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo general

Desarrollar, optimizar y validar una metodología para la determinación espectrofotométrica de paraquat en matrices acuosas ambientales.

1.2. Objetivos particulares

- Optimizar las condiciones de cuantificación en el ultravioleta.
- Determinar las figuras de mérito de un proceso de validación, como son: intervalo lineal, precisión, veracidad, límites de detección y de cuantificación, recuperación y recobros.
- Determinar la concentración de paraquat en muestras de agua provenientes del Parque Nacional de Lagunas de Montebello.

2. ANTECEDENTES

2.1. Plaguicidas

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en inglés), un plaguicida es: “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que puedan administrarse a los animales para combatir ectoparásitos” [3].

2.2. Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas pueden clasificarse de varias maneras, de acuerdo a su campo de acción, su toxicidad, o su grupo químico (ver tablas 1 y 2).

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su campo de acción.

Tipo	Organismo objeto
Acaricidas	Ácaros
Antibióticos	Microorganismos
Alguicidas	Algas
Avicidas	Aves
Bactericidas	Bacterias
Defoliantes	Hojas de plantas
Desinfectantes	Microorganismos
Fumigantes	Plagas en edificios, suelos, etc.
Fungicidas	Hongos
Herbicidas	Plantas
Insecticidas	Insectos

Tipo	Organismo objeto
Larvicidas	Larvas de insectos
Molusquicidas	Moluscos
Nematocidas	Nemátodos
Ovicidas	Huevos de insecto
Pisticidas	Peces
Repelentes	Insectos, aves
Rodenticidas	Roedores

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas con base en la toxicidad de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud.

Clase	Descripción	LD ₅₀ para ratas (mg/kg peso corporal)			
		Oral		Tópica	
		Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Ia	Extremadamente peligroso	≤5	≤20	≤10	≤40
Ib	Altamente peligroso	5-50	20-200	10-100	40-400
II	Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III	Ligeramente peligroso	>500	>2000	>1000	>4000

Dentro del grupo de los herbicidas de clase II se encuentra clasificado el paraquat.

2.3. Paraquat

El paraquat es un herbicida de amonio cuaternario, específicamente se refiere al catión 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilio, comercialmente se encuentra en forma de sal con los aniones bromuro, cloruro o metansulfonato [4]. La estructura del catión paraquat se muestra en la Figura 1.

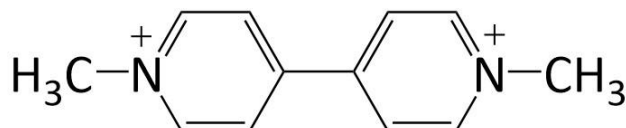


Figura 1. Estructura química del paraquat.

En 1958, una empresa conocida como Imperial Chemical Industries, introdujo al mercado el paraquat y el diquat, los cuales forman parte del grupo de herbicidas conocidos como “quats” [5,6].

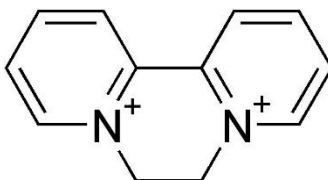


Figura 2. Estructura química del diquat.

El paraquat y el diquat son herbicidas de contacto, de amplio espectro y post emergentes, muy empleados debido a su rápida acción en plantas terrestres y acuáticas. Además, son fuertemente adsorbidos por las partículas del suelo lo cual provoca su desactivación e inmovilización; sin embargo, estos pueden ser lixiviados hacia los mantos acuíferos [6].

Anteriormente, este compuesto se usaba en varios países de la Unión Europea por ser un herbicida no selectivo de acción rápida, pero debido a su toxicidad y estabilidad su uso fue prohibido. Sin embargo, alrededor del mundo se sigue utilizando en más de 100 cultivos en 100 países diferentes [5]. El paraquat se usa ampliamente como desecante, defoliante y regulador del crecimiento de las plantas. Se emplea para controlar malezas de hoja ancha y pastos, tanto en la agricultura

como en áreas no agrícolas, por ejemplo, en carreteras, aeropuertos y edificios comerciales. Algunos cultivos en los que se usa son el plátano, maíz, papa, arroz, algodón, trigo, manzana, naranja, café, cacao, algodón, frijol, caña de azúcar, piña, tomate, entre otros. En México también ha sido empleado para eliminar plantaciones ilegales de marihuana [7].

2.3.1. Características

Algunas de sus propiedades fisicoquímicas son: forma sales cristalinas, tiene una baja presión de vapor, es soluble en agua (700 g/L) y se hidroliza en medio básico [6,8]. En la tabla 3 se presenta un resumen de sus características.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del paraquat también conocido como 1,1'-dimetil-4,4'-dicloro bipyridina.

Propiedad	Característica
Apariencia	Sólido
Fórmula molecular	(C ₁₂ H ₁₄ N ₂ Cl ₂)
Masa molecular	257.2 g
Solubilidad en agua	700 g/L
Punto de descomposición	300°C
Densidad	1.24 g/mL
Potenciales estándares contra el electrodo Ag/AgCl	-663 mV y -947 mV
Log Kow	-4.5

2.3.2. Toxicidad

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo consideran peligroso para la salud humana por sus riesgos mutagénicos, fetotóxicos y reproductivos. Puede ingresar al organismo a través de las vías respiratorias, la piel y el aparato digestivo; ya en el organismo tiene una vida media de 12 a 120 horas. La intoxicación ocurre debido a la acumulación de radicales libres

en distintos órganos. Puede afectar a los pulmones, corazón, hígado, riñones y al cerebro de ratones [9].

La dosis letal media para humanos y animales (LD_{50}) es de 35 mg/kg y 110-150 mg/kg de peso corporal, respectivamente. Mientras que el límite máximo de residuos en raíces y tubérculos es de 0.05 mg/kg [9]. Se distribuye a 2-8 L/kg de peso y se excreta vía renal al 90 % las primeras 24 horas y al 96 % a las 48 horas. Una concentración en el plasma menor a 2 $\mu\text{g/mL}$ a las 4 horas de la ingestión y una concentración por debajo de 1 $\mu\text{g/mL}$ antes de 24 horas, indican una alta probabilidad de que el paciente se recupere de la intoxicación [8].

Al ser un contaminante del agua, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA US, Environment Protection Agent) estableció un nivel máximo de 3 $\mu\text{g/L}$ para este herbicida en agua potable y la directiva de la Unión Europea (98/83/CE) admite una concentración máxima de 0.1 $\mu\text{g/L}$ para herbicidas en agua de consumo humano [10].

La Secretaría de Trabajo y Previsión Social, en la norma oficial mexicana NOM-010-STPS-1999, permite un límite máximo de exposición de 0.5 mg/m^3 como polvo total y de 0.1 mg/m^3 como fracción respirable en el medio ambiente laboral [11].

El 95 % de los herbicidas tienen un destino distinto a sus especies objetivo. Los plaguicidas (herbicidas, fungicidas o insecticidas) son contaminantes ambientales nocivos incluso a niveles bajos de concentración (ppm, ppb) [12].

Los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el manejo de plaguicidas agrícolas se establecen en el proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-051-FITO-1995, el cual indica que el paraquat únicamente podrá ser adquirido y aplicado bajo la recomendación escrita por un profesional fitosanitario [13].

En el Catálogo de Plaguicidas de la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) están reportados los límites máximos de residuos para los plaguicidas de uso agrícolas, en el caso del herbicida paraquat se encuentran los límites para algunos

cultivos como: avena, aguacate, brócoli, café, calabaza, cebada, cebolla, cereza, chabacano, chicharo, chile, col, coliflor, durazno, guayaba, jitomate, lechuga, lima, limón, mandarino, manzana, melón, naranja, papaya, pepino, piña, plátano, sandía, soya, toronja, trigo, vid, zanahoria, maíz, frijol, algodón, caña de azúcar, papa, pera, girasol y alfalfa [14].

2.4. Determinación de paraquat

Debido a su toxicidad es necesario determinar su concentración en suelos, personas, animales, alimentos y agua. Se ha reportado el uso de diversas metodologías para la cuantificación de paraquat como lo son: cromatografía de gases, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) de fase normal o reversa, empleando un detector de UV/visible o acoplado a un espectrómetro de masas, electroforesis capilar, cromatografía electrocinética micelar, uso de electrodos selectivos, espectrofotometría, voltametría de onda cuadrada y análisis por inyección de flujo [6,8-10].

Para aumentar la retención de los herbicidas cuaternarios de amonio ('quats') en cromatografía de fase reversa, se emplean fases móviles que contienen ácido heptafluorobutírico, ácido trifluoroacético o ácido pentafluoropropiónico. La desventaja de usar este tipo de reactivos es la disminución en la sensibilidad del método, debido a que estos reactivos disminuyen la cantidad de iones que se liberan en la interfase LC-MS [5].

La EPA recomienda usar el método 549.2, el cual consiste en HPLC de pares de iones con detección ultravioleta para la determinación de paraquat [4,15].

También se han desarrollado métodos ELISA con límites de detección de 0.1 µg/L a 1 µg/L. El proyecto RIANA (RIver ANALyzer) de la Unión Europea desarrolló un inmunosensor óptico para cuantificar el paraquat en muestras de agua de río, el cual tiene un límite de detección de 0.06 µg/L [16].

Por otro lado, es posible su determinación mediante colorimetría, ya que el catión paraquat que es incoloro en medio alcalino, puede ser reducido químicamente generando una especie radical de color azul; como agentes reductores se han empleado ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), glucosa, ácido ascórbico y borohidruro de sodio, entre otros [8]. Algunos inconvenientes al emplear esta técnica son: la inestabilidad de la especie colorida, el uso de varios reactivos químicos y tiempos de preparación de estándares y de muestras relativamente largos. La especie reducida del paraquat absorbe en la región de visible a 394 nm [17].

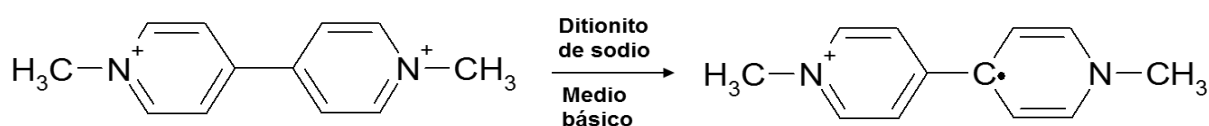


Figura 3. Reacción de derivatización del paraquat.

Sin embargo, ya que el paraquat absorbe en la región ultravioleta (258 nm) [6,10] es posible su determinación directa por medio de espectrofotometría ultravioleta, teniendo como ventajas una disminución del tiempo de análisis y de los costos, con lo cual se puede actuar rápidamente en casos de contaminación ambiental, ya que no es necesario llevar a cabo una reacción previa para obtener un producto colorido que absorba en la región visible del espectro electromagnético.

En la tabla 4 se muestran algunos métodos empleados en la determinación del paraquat en diferentes matrices y mediante distintas técnicas.

Tabla 4. Distintos métodos de cuantificación de paraquat en diversas matrices.

Técnica	Matriz	Pretratamiento	Recobro (%)	Detección	LD	LC	Referencia
Cromatografía de Líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS)	Papa	Extracción con una mezcla de metanol/agua /HCl a 80 °C	92 - 119	Espectrometría de masas (MS)	0.003 mgkg ⁻¹	0.010 mgkg ⁻¹	[5]
	Cebada		95-116			0.006 mgkg ⁻¹	
Sistema de análisis de inyección de flujo Multijeringa (MSFIA) combinado con una guía de onda líquida de 200 cm de longitud de trayecto (LCW)	Agua potable	Producción de un radical libre azul por oxidación de paraquat con ácido ascórbico y yodato de potasio en medio básico.	95 – 108	Espectrofotometría (600nm)	0.7 µgL ⁻¹	2.3 µgL ⁻¹	[15]

Técnica	Matriz	Pretratamiento	Recobro (%)	Detección	LD	LC	Referencia
Optosensores de flujo. Soporte sólido Dowex 50W-X8-200	Agua y suelo	Reacción con ión ditionito	-	Espectrofotometría	0.11 μgL^{-1}	-	[12]
Cromatografía líquida de fase inversa de pares de iones.	Agua de grifo	Extracción en fase sólida con sílice	88	UV (257nm)	0.4 μgL^{-1}	-	[18]
	Agua de río		95		0.4 μgL^{-1}	-	
	Agua de grifo	Extracción en fase sólida con carbono grafito poroso	98		0.2 μgL^{-1}	-	
	Agua de río		104		0.2 μgL^{-1}	-	
Electroforesis capilar	Agua de grifo	Extracción en fase sólida con sílice	90	UV (205 nm)	3.5 μgL^{-1}	-	[18]
	Agua de río		98		3.9 μgL^{-1}	-	
	Agua de grifo		104		2.0 μgL^{-1}	-	

Técnica	Matriz	Pretratamiento	Recobro (%)	Detección	LD	LC	Referencia
	Agua de río	Extracción en fase sólida con carbono grafito poroso	107		2.0 μgL^{-1}	-	
Cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas (HPLC-MS)	Tejido cerebral de ratones	Extracción con disolvente asistido por microondas (MASE) 12.5% ácido acético	90	Espectrometría de masas (MS)	100 pg en la matriz	-	[19]
Inmunosensor Óptico RIANA	Agua de río	Fluoroinmunoensayo en fase sólida combinado con un transductor óptico modificado químicamente con un derivado del analito	-	Fluorescencia	0.06 μgL^{-1}	-	[16]
LC/UV	Suelo	Digestión 5M H_2SO_4	95	UV	10 μgkg^{-1}	20 μgkg^{-1}	[6]
		MeOH/5%EDTA (70/30)	98				
		Extracción asistida por microondas (MAE)	102			50 μgkg^{-1}	

Técnica	Matriz	Pretratamiento	Recobro (%)	Detección	LD	LC	Referencia
LC/MS-MS	Suelo	Digestión 5M H ₂ SO ₄	95	MS	1.0	2.0	
		MeOH/5%EDTA (70/30)	98		µgkg ⁻¹	µgkg ⁻¹	
		Extracción asistida por microondas (MAE)	102		3.0	7.5	
					µgkg ⁻¹	µgkg ⁻¹	
SPE-HPCL-DAD	Agua Potable	Extracción en fase sólida con cartuchos de sílice Waters Sep-Pak Plus	95 - 98	UV Detector de arreglo de diodos (DAD)	0.06	0.09	[10]
					µgk ⁻¹	µgk ⁻¹	
HPCL-MS/MS	Aceite de oliva	Extracción con N-hexano / HFBA 10 mM	96-112	MS	4 µgkg ⁻¹	-	[4]
Sistema de inyección en flujo continuo (FIA)	Orina	Reducción de paraquat con glucosa en medio básico	97.9 - 102.1	Espectrofotométrica (600 nm)	4	1	[8]
					µgmL ⁻¹	µgmL ⁻¹	
Voltametría de onda cuadrada	Papa	Extracción sólido-líquido con acetona y diclorometano	81.3 -90.2	Electroquímica	50 µg/g	150 µg/g	[9]

2.4.1. Técnicas de preconcentración y extracción

Muy frecuentemente es necesario realizar un tratamiento previo de la muestra ya que a veces la matriz puede ser muy compleja, por lo cual es conveniente aislar al analito antes de su determinación, otras veces debido a que su concentración es muy baja, se requiere una preconcentración antes de su análisis y de esta manera se puedan obtener límites de detección más bajos [20]. En la tabla 5 se describen algunas de las técnicas para la preconcentración y extracción de muestras.

La extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) es un método de extracción que utiliza una fase sólida y una fase líquida para aislar un analito de una solución. El principio de la extracción en fase sólida es análogo al de la extracción líquido-líquido (LLE, por sus siglas en inglés), que implica una partición de solutos entre dos fases, en lugar de dos fases líquidas inmiscibles, como en la extracción líquido-líquido, la separación se basa en la distribución selectiva de analitos entre una fase móvil líquida (muestra o disolvente con analitos) y una fase sólida (sorbente) [21].

El analito debe tener una mayor afinidad por la fase sólida que por la matriz de muestra. El procedimiento general consta de cuatro pasos: acondicionamiento de la fase estacionaria, carga de la muestra, lavado para eliminar los componentes indeseables, mientras el analito se retiene en el sorbente, y desorción de la muestra mediante el uso de un disolvente adecuado para su elución [22].

La extracción líquido-líquido convencional (LLE) no es un método adecuado para la preconcentración de este tipo de herbicidas catiónicos debido a su gran solubilidad en agua, por lo que se requieren grandes volúmenes de disolventes y un mayor tiempo. Por el contrario, la extracción en fase sólida (SPE) es adecuada porque se obtiene un alto factor de concentración, se disminuye el tiempo de preparación y la cantidad de disolvente empleado.

Como adsorbentes se han utilizado resinas de intercambio iónico, sílice, cianopropil, polímeros a base de materiales de carbono, C₈ y C₁₈, en muestras de agua para preconcentrar a niveles de µg/L [18,20].

Este tipo de herbicidas a pesar de ser solubles en agua son fuertemente retenidos por las plantas y suelos por lo que las condiciones para su extracción son drásticas, como por ejemplo el uso del reflujo en medio ácido [6]

Tabla 5. Técnicas de preconcentración y extracción.

Técnica	Descripción	Observaciones
Extracción en fase sólida (SPE solid-phase extraction)	<p>Una muestra acuosa se hace pasar a través de un sorbente sólido dentro de una columna. El analito se eluye del medio sólido con el disolvente apropiado. Se emplea para muestras líquidas, si la muestra es sólida se necesita una previa etapa de extracción [20].</p>	<p>Si se acopla en línea a un sistema de CL o CG permite la preparación y el análisis automatizado de las muestras. Se minimizan pérdidas. Pequeños volúmenes de muestra son procesados. Acoplarlo a un cromatógrafo de gases requiere eliminar las trazas de agua [20].</p>
Microextracción en fase sólida (SPME solid-phase Micro-extraction)	<p>La adsorción de los analitos se lleva a cabo en fibras de un polímero poroso con revestimiento mixto. Los analitos se desorben usando un disolvente, en el caso de cromatografía de líquidos y mediante calor si serán analizados por CG. Si el analito no está fuertemente absorbido se usa un flujo de fase móvil; pero si está fuertemente absorbido, la fibra se sumerge en la fase móvil</p>	<p>Es útil para compuestos volátiles. Algunas de estas fibras con características bipolares sirven para el análisis simultáneo de plaguicidas. La desorción térmica empleada CG, elimina el uso de disolventes [20].</p>

Técnica	Descripción	Observaciones
	por un tiempo (desorción estática) [20].	
Dispersión de matriz en fase sólida (MSPD Matrix solid-phase dispersion)	La muestra se dispersa sobre un soporte sólido, seguido de un paso de limpieza para eliminar los interferentes de matriz, con la posterior elución de los analitos con un volumen pequeño de disolvente [20].	Menor consumo de disolventes y menor generación de residuos. Útil en matrices con alto contenido de grasas. Combina homogeneización de la muestra con la limpieza de los analitos [20].
Extracción con barra de agitación (SBSE Stir-bar sorptive extraction)	Emplea una barra de agitación magnética, revestida con (50-300) µg de polidimetilsiloxano (PDMS). Los analitos se adsorben sobre la barra magnética, manteniendo la agitación durante un tiempo dado [20].	El factor de enriquecimiento, que se determina por la cantidad de fase extractiva es hasta 100 veces mayor que con SPME. La barra de agitación se desorbe térmicamente para CG o mediante disolventes orgánicos para el caso de CL [20].
Microondas asistida por extracción de disolventes (MASE microwave-assisted solvent extraction)	Consiste en calentar la muestra sólida y el disolvente en un recipiente cerrado con energía de microondas bajo condiciones de temperatura y presión controladas, lo cual acelera la extracción. Posteriormente, las muestras se enfrían y se filtran para	Un requisito indispensable para emplear este método es que los compuestos sean térmicamente estables [19].

Técnica	Descripción	Observaciones
	<p>separar el extracto para su análisis [19].</p> <p>Esta técnica tiene un rendimiento comparable al método Soxhlet, que consiste en calentar el disolvente de extracción hasta su punto ebullición, luego se condensa, pasa a través de la muestra colocada en un cartucho poroso y el disolvente se recircula hasta que se completa la extracción [23,24].</p>	<p>Las ventajas son que se requiere un menor tiempo y una menor cantidad de disolventes. [25].</p>

2.5. Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

Es una técnica de análisis cuantitativo que se basa en la interacción entre la energía electromagnética con la materia. Específicamente mide la radiación monocromática absorbida por un elemento o molécula causante de transiciones electrónicas a capas superiores, estas transiciones determinan la región del espectro en la que tiene lugar la absorción [26].

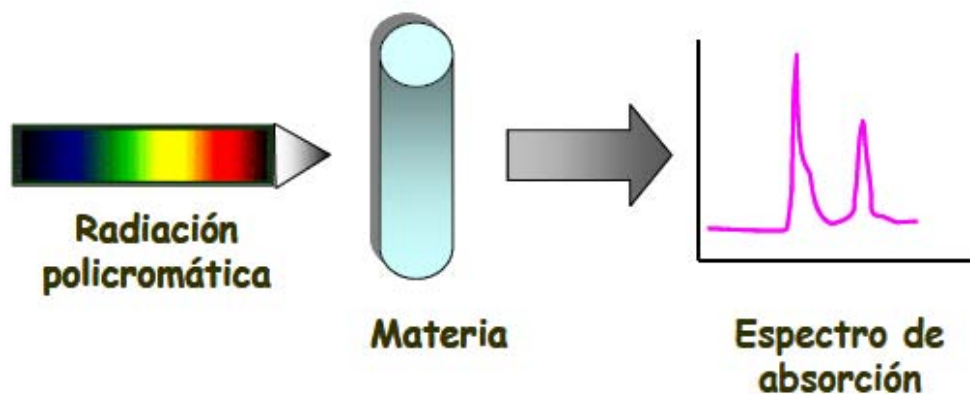


Figura 4. Interacción de la radiación con la materia*.

*CENAM. (2008). *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible*. México.

Los métodos espectrofotométricos se basan en la ley de Lambert y Beer, la cual establece que la absorbancia A es una función de la concentración c , estableciendo un espesor de la celda b constante, a través del medio absorbente [26]:

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

donde:

A = absorbancia (parámetro adimensional)

ϵ = absortividad molar o coeficiente de extinción $\left(\frac{1}{M \cdot cm}\right)$

b = longitud de paso óptico o espesor de la celda (cm)

c = concentración

Bajo ciertas condiciones, la cantidad de energía electromagnética monocromática absorbida es directamente proporcional a la concentración de la(s) especie(s) que absorbe(n) y a la longitud de la trayectoria de la muestra para un conjunto de condiciones instrumentales establecidas [26].

El coeficiente de absortividad molar es la constante de proporcionalidad en la ley de Lambert y Beer y es la característica de una sustancia que indica cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada. Esta ley se aplica a la radiación monocromática y funciona muy bien con disoluciones diluidas (menores o iguales a 0.01 mol/L) [27].

Si:

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (2)$$

donde:

I₀ = energía radiante incidente

I = intensidad de la luz transmitida o energía radiante

Entonces la transmitancia es:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3)$$

$$A = -\log T \quad (4)$$

El intervalo de longitud de onda para la región de ultravioleta analítica es de 190 a 326 nm y el correspondiente para la región visible es de 326 a 1100 nm [26].

Los compuestos aromáticos y heterocíclicos absorben intensamente la radiación ultravioleta, ya que presentan dobles enlaces conjugados.

Los colorantes indicadores para titulaciones ácido-base y redox son sistemas extensamente conjugados, por lo que absorben en el visible. La pérdida o adición de un protón o un electrón cambia mucho la distribución electrónica y en consecuencia el color.

A veces, si un compuesto no absorbe en la región UV-visible, se puede preparar un derivado del mismo que sí absorba [27].

Los equipos comúnmente utilizados en las técnicas analíticas de espectrofotometría son los espectrofotómetros y los fotocolorímetros o fotómetros.

En este tipo de instrumentos la luz policromática (radiación de más de una longitud de onda) de una fuente continua pasa a través de un monocromador, que selecciona una banda estrecha de longitudes de onda del haz incidente. Esta luz monocromática (radiación de una longitud de onda) atraviesa una muestra de la longitud de trayectoria b , y se mide la irradiancia de la luz emergente, a continuación, se explican cada uno de los componentes mínimos [28].

Los espectrofotómetros son equipos que tienen en su sistema un monocromador que permite la selección de la longitud de onda con una alta resolución.

Un fotocolorímetro a diferencia del espectrofotómetro utiliza sólo sistemas de filtros para seleccionar un intervalo de longitudes de onda con una menor resolución que el espectrofotómetro [26].

Los componentes principales de este tipo de instrumentos se explican a continuación y se muestran en la siguiente figura [26]

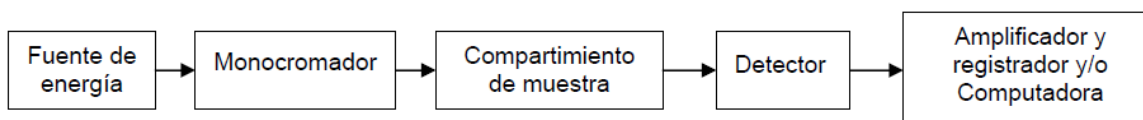


Figura 5. Componentes de un espectrofotómetro.*

*CENAM. (2008). *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible*. México.

1) Fuente

La fuente debe producir una radiación continua en las longitudes de onda de interés. Sin embargo, ninguna fuente tiene una emisión espectral constante. La lámpara incandescente de filamento de tungsteno es la fuente más empleada para la región visible. Para la región ultravioleta, por lo general se usa un tubo de descarga de hidrógeno H_2 o de deuterio D_2 a baja presión, pero la fuente de deuterio tiene unas tres veces la salida espectral de la de hidrógeno [27]. Las lámparas de H_2 y de D_2

son una fuente continua de 160 nm a 380 nm y la lámpara de tungsteno es una fuente continua de 320 nm a 2400 nm [23].

Las fuentes de ultravioleta tienen una ventana de cuarzo, porque el vidrio absorbe a longitudes de onda menores de alrededor de 350 nm. Aunque el espectro continuo de la lámpara de deuterio se extiende hasta los 160 nm, el límite inferior útil es de casi 190 nm debido a la absorbancia de las ventanas de cuarzo [29].

En un espectrofotómetro ultravioleta visible típico, se realiza un cambio entre las lámparas de deuterio y de tungsteno cuando pasan a través de 360 nm, de modo que siempre se emplea la fuente con la intensidad más alta [28].

2) Seleccionador de una banda angosta de longitudes de onda del espectro de la fuente

Si más de un componente en la muestra contribuye a la absorción de radiación, generalmente se trata de seleccionar una sola longitud de onda donde el analito es la única especie absorbente. Desafortunadamente, no se puede aislar una sola longitud de onda de radiación de una fuente continua. En cambio, se puede seleccionar una banda estrecha de radiación [23].

a) Filtros

El método más simple para aislar una banda estrecha de radiación es usar un filtro, el cual es un selector de longitud de onda que usa absorción o interferencia constructiva y destructiva para controlar el rango de longitudes de onda seleccionadas. Los tipos de filtro son:

- Filtros de absorción: funcionan absorbiendo selectivamente la radiación de una región estrecha del espectro electromagnético. Un simple ejemplo, es una pieza de vidrio coloreado. Los filtros de absorción disponibles en el mercado proporcionan anchos de banda efectivos desde 30 a 250 nm.

- Filtros de interferencia: usan interferencia constructiva y destructiva para aislar un rango estrecho de longitudes de onda. Los filtros de interferencia son más caros que los filtros de absorción, pero tienen anchos de banda efectivos más estrechos, típicamente de 10 nm a 20 nm [23].

b) Monocromadores

La desventaja de los filtros es que no permiten una selección continua de longitud de onda, por lo que, si deben realizarse mediciones a dos longitudes de onda, entonces el filtro debe cambiarse entre mediciones. Otra desventaja es que solo están disponibles solo para ciertos intervalos nominales de longitudes de onda. Para superar estas limitaciones se usa un monocromador, el cual permite una variación continua de la longitud de onda [23].

Está formado principalmente por lentes o espejos que enfocan la radiación por rendijas de entrada y salida que restringen radiación indeseable, y por un medio dispersante que es capaz de producir la separación angular de las longitudes de onda de la radiación policromática, emplea dos tipos básicos de elementos dispersores: una red de difracción (rejilla) o un prisma [27].

La radiación policromática procedente de la fuente que pasa la rendija de entrada se colima, es decir, se convierte en un haz de rayos paralelos, mediante un espejo cóncavo. Estos rayos inciden sobre una rejilla o prisma y la luz se dispersa en las longitudes de onda que la componen. La luz incide en un segundo espejo cóncavo, que enfoca solo una banda estrecha de longitudes de onda a la rendija de salida del monocromador [28].

- Prismas. En los instrumentos más antiguos se usaban prismas en lugar de rejillas. La desviación de los rayos de luz por un prisma o lente, se llama refracción [28]. Cuando la radiación electromagnética atraviesa un prisma se refracta debido a que el índice de refracción del material del prisma es diferente al del aire. El índice de refracción depende de la longitud de onda, y por tanto el grado de refracción también. Las longitudes de onda cortas se refractan más que las mayores. El efecto de la refracción consiste en

“dispersar” la radiación en sus diferentes longitudes de onda. Al girar el prisma se puede hacer que por una rendija de salida pasen diferentes longitudes de onda y lleguen a la muestra. Un prisma funciona en forma satisfactoria en las regiones de ultravioleta y visible. Sin embargo, opera con mayor eficacia en las longitudes de onda menores. En la región visible se pueden usar prismas y lentes de vidrio, pero en la región ultravioleta se debe usar cuarzo o sílice fundido. Este último también puede usarse en la región visible [27].

- **Rejilla de difracción:** es una superficie ópticamente reflectante con una gran cantidad de líneas paralelas (ranuras), se recubre con aluminio para que sea reflectante. Las rejillas para las regiones ultravioleta y visible son de 15 000 a 30 000 líneas por pulgada. Las ranuras funcionan como centros de dispersión para los rayos que llegan a la rejilla. El resultado es una dispersión igual para todas las longitudes de onda y se pueden usar en todas las regiones del espectro [27]. El cambio de dirección de los rayos de luz por una rejilla se llama difracción. La rotación de la rejilla permite que diferentes longitudes de onda pasen a través de la rendija de salida [28].

3) Compartimiento para la muestra

Al igual que los demás elementos ópticos de un instrumento de absorción, las celdas en las que se coloca la muestra deben ser de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Por lo cual, se utilizan celdas de cuarzo o sílice fundido (SiO_2) para trabajar en la región ultravioleta (debajo de 350 nm). Para la región visible se emplean los vidrios de silicato (entre 350 nm y 2000 nm) y también se pueden utilizar recipientes de plástico [29].

Las celdas que usan para la región visible y ultravioleta suelen ser prismas rectangulares huecos de 1 cm de ancho entre sus paredes paralelas internas, aunque pueden usarse celdas de diversas longitudes de paso y volúmenes [27]. Se pueden adquirir cubetas de otras medidas, desde 0.1 cm, e incluso menores, hasta

10 cm. También hay espaciadores transparentes para acortar la longitud de la trayectoria [29].

Las mejores celdas tienen ventanas perfectamente perpendiculares a la dirección del haz para reducir al mínimo las pérdidas por reflexión [29]. Para obtener la mejor precisión, la posición de la celda respecto al haz debe ser lo más reproducible posible, sobre todo cuando se emplean celdas cilíndricas ya que las variaciones en la longitud de la trayectoria y en las pérdidas por reflexión en las superficies curvas pueden causar errores.

La calidad de las medidas de absorbancia depende en gran medida del uso y mantenimiento que se haga de las cubetas. La superficie de las ventanas no debe tocarse durante su manipulación [29]. Se debe evitar el polvo y dejar huellas dactilares en las caras, porque dispersan la luz [28].

4) Detector para convertir energía radiante en energía eléctrica

Un transductor es un dispositivo que convierte una propiedad química o física, como el pH o la intensidad de un fotón, en una señal eléctrica de fácil medición, como un voltaje o corriente. Los detectores modernos usan un transductor sensible para convertir una señal que consiste en fotones en una señal eléctrica de fácil medición [23]. La respuesta del detector es una función de la longitud de onda de los fotones incidentes [28].

a) Fototubo o fotocelda: emite electrones desde una superficie fotosensible cargada negativamente (cátodo fotoemisor) cuando inciden sobre ella radiaciones de luz visible o ultravioleta. Los electrones fluyen a través del vacío hasta un colector con carga positiva (ánodo), cuya corriente es proporcional a la intensidad de la radiación [28]. La corriente se puede amplificar y medir. La respuesta del material fotoemisor depende de la longitud de onda, y se emplean diversos fototubos para las diferentes regiones del espectro [27].

b) Tubo fotomultiplicador: es más sensible que un fototubo en las regiones visible y ultravioleta. Se compone de un cátodo fotoemisor con el que choca el fotón, y una serie de electrodos (dinodos), cada uno a un potencial más positivo (de 50 a 90 V) que el anterior. Cuando un fotón llega a la superficie fotoemisora, se emite un electrón primario. El electrón primario liberado de la superficie fotoemisora se acelera hacia el primer dinodo. El impacto del electrón sobre la superficie del dinodo causa la liberación de muchos electrones secundarios, que a su vez son acelerados hacia el siguiente electrodo, donde cada electrón secundario libera más electrones, y así sucesivamente, hasta alcanzar unas 10 etapas de amplificación. Por último, los electrones se colectan en el ánodo. La respuesta de los tubos fotomultiplicadores depende de la longitud de la onda [27].

c) Grupo o serie de diodos: Consiste en cientos de fotodiodos de silicio, lado a lado, sobre un solo chip o cristal de silicio. Cada uno tiene un capacitor de almacenamiento correspondiente que recopila e integra la corriente generada cuando los fotones chocan con el fotodiodo. Su lectura es por descarga periódica, y tardan entre 5 ms y 100 ms para leer todo el conjunto [27].

Al comienzo del ciclo de medición, cada diodo está completamente cargado. Cuando la radiación incide sobre el semiconductor, se producen huecos y electrones libres que migran a regiones de carga opuesta, descargando parcialmente el condensador. El estado de cada condensador se determina al final del ciclo midiendo la corriente necesaria para recargarlo [28].

Si la radiación dispersada en sus distintas longitudes de onda incide sobre la superficie del grupo de diodos, puede registrarse simultáneamente todo un espectro, desde UV hasta IR cercano. Este intervalo es mayor que el de los tubos fotomultiplicadores [27]. Una ventaja de los fotodiodos de Si es que se pueden miniaturizar fácilmente [23].

5) Instrumento para interpretar la respuesta del detector.

La señal eléctrica generada por el transductor se envía a un procesador de señal, el cual es un dispositivo, como un medidor o una computadora, que muestra la señal del transductor en una forma que el analista puede interpretar fácilmente [23].

2.6. Validación

2.6.1. ¿Qué es validar?

La ISO 9000 define validación como “confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto”. La ISO/IEC 17025 establece que es la “confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

Por su parte, el VIM (Vocabulario Internacional de Metrología) establece que es la verificación, en donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto [30].

2.6.2. Importancia de la validación

La validación es el proceso que establece, mediante estudios de laboratorio, que las características de desempeño del método, satisfacen los requisitos para su aplicación analítica [30].

Consiste en confirmar mediante el suministro de evidencia objetiva que el método es adecuado para el uso previsto [32].

La importancia de validar un método radica en que cada día en los laboratorios alrededor del mundo, se llevan a cabo numerosos análisis, los resultados de dichos análisis deben generar confianza ya que a partir de estos se tomarán decisiones [30].

2.6.3. Método normalizado vs método no normalizado

Un método normalizado es un proceso de medición robusto donde pequeñas variaciones en el procedimiento no deben producir de forma imprevista grandes variaciones en los resultados. Es aquel método publicado por un organismo reconocido como lo son [30]:

1. Normas Oficiales Mexicanas (NOM).
2. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).
3. Normas Mexicanas (NMX).
4. Entidad Mexicana de Acreditación (EMA)
5. Centro Nacional de Metrología (CENAM)
6. Métodos Oficiales del AOAC (Association of Official Agricultural Chemists).
7. Standard Methods.
8. Environmental Protection Agency (EPA).
9. Pesticide Analytical Manual (PAM).
10. Collaborative International Pesticides Analytical Council (CIPAC).
11. United States Pharmacopoeia (USP).
12. British Pharmacopoeia (BP).
13. American Society for Testing Materials (ASTM).
14. International Standard Organization (ISO).
15. Codex Alimentarius.
16. Food and Drug Administration (FDA).
17. Food and Agriculture Organization (FAO).
18. European Commission (CE).
19. United States Department of Agriculture (USDA).

Mientras que un método no normalizado es un proceso alternativo al método normalizado que demuestra o estima el mismo analito, mediante un método no reportado oficialmente [30]. Puede ser:

1. Desarrollado por el propio laboratorio.
2. Obtenido de publicaciones científicas.
3. Un método normalizado modificado, ampliado o usado fuera de su alcance.

2.6.4. ¿Cuándo es necesario validar un método?

Un método se valida cuando se necesita demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto [30]. Un laboratorio debe validar:

- Métodos no normalizados.
- Métodos diseñados por el laboratorio.
- Métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación.
- Ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados.

El método propuesto en el presente trabajo fue diseñado en el laboratorio, por lo cual no es un método normalizado y es necesario validarlo.

2.6.5. Definiciones

1. Analito: componente específico de una muestra que se mide durante el análisis [30].

2. Curva de calibración: es la representación gráfica de la señal en función de la cantidad del analito [30].

3. Exactitud: es la proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando. Una medición es más exacta cuanto más pequeño es el error. El término exactitud de medida incluye los conceptos de veracidad y precisión [33]. La veracidad es la proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia, está inversamente relacionada con el error sistemático [33], se expresa cuantitativamente en términos de sesgo.

Existen tres enfoques para evaluar la veracidad [30]:

- 1) Análisis de materiales de referencia.
- 2) Experimentos de recuperación.
- 3) Comparación con resultados obtenidos mediante otro método.

Por otra parte, la precisión es la proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas; está relacionada con el error aleatorio y generalmente se expresa numéricamente mediante medidas de dispersión

tales como la desviación estándar, la varianza o el coeficiente de variación [30, 33].

4. Incertidumbre: estimación que caracteriza el intervalo de valores, dentro de los cuales se encuentra el valor convencionalmente verdadero de la magnitud medida [30].

Es el parámetro no negativo, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza [26, 33]. Este parámetro usualmente es una desviación estándar o un intervalo de confianza que expresa el intervalo de posibles valores de los resultados de medición [34].

La incertidumbre se compone de contribuciones de diversas fuentes, existen dos métodos para cuantificarlas: la evaluación tipo A basada en un análisis estadístico de una serie de mediciones y la evaluación tipo B que comprende todas las demás maneras de estimar la incertidumbre, la cual usa información externa u obtenida por experiencia (certificados de calibración, manuales y especificaciones del instrumento, normas o literatura, valores de mediciones anteriores, entre otros) [35].

Una estimación de la incertidumbre considera todos los efectos reconocidos que influyen en el resultado; las incertidumbres asociadas a cada efecto son combinadas de acuerdo a procedimientos establecidos [34].

Con el fin de combinar contribuciones que tienen distribuciones de probabilidad diferentes, la incertidumbre se expresa como una desviación estándar, la cual es llamada incertidumbre estándar $u(x_i)$ [35].

La incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$ es la incertidumbre estándar cuando el resultado se obtiene a partir de los valores de un cierto número de otras magnitudes y es igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, siendo éstos, las varianzas o covarianzas de esas otras magnitudes ponderadas de acuerdo a como varía el resultado de la medición con respecto esas magnitudes [34].

Otra forma de reportar la incertidumbre es mediante la incertidumbre expandida U , la cual es la magnitud que define un intervalo, alrededor del resultado de una medición, que se espera cubra una fracción grande de la distribución de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando. Se calcula a partir de una incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$ y un factor de cobertura k usando [34]:

$$U = k \cdot u_c \quad (5)$$

La relación entre el factor de cobertura k y el nivel de confianza p depende de la distribución de probabilidad del mensurando. Por ejemplo, para una distribución normal de probabilidad $k = 1$ corresponde a $p = 68.27 \%$, $k = 2$ a $p = 95.45 \%$ y $k = 3$ a $p = 99.73 \%$ [35].

5. Intervalo de trabajo: intervalo comprendido entre las concentraciones superior e inferior (incluyendo dichas concentraciones) y para las que se ha demostrado que el analito es cuantificado con un nivel satisfactorio de repetibilidad, recuperación y linealidad [30].

Es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El límite inferior de este intervalo es el límite de cuantificación y el extremo superior está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías en la sensibilidad analítica, por ejemplo, a altos valores de absorbancia en la espectroscopia UV/visible se observa un efecto meseta [30]. Se requiere un blanco y un mínimo de 5 niveles diferentes de concentración por triplicado, se debe graficar la concentración obtenida en función de la concentración adicionada [30].

6. Intervalo lineal: es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.

Se requiere un blanco y un mínimo de 5 niveles diferentes de concentración por triplicado, se debe graficar la respuesta analítica en función de la concentración, posteriormente confirmar visualmente la linealidad del intervalo y mediante el

valor del coeficiente de correlación r , elaborar el correspondiente gráfico de residuales y confirmar la aleatoriedad de los residuales [30].

7. Límite de cuantificación: es la concentración más baja a la cual el analito puede cuantificarse con una precisión y veracidad aceptables bajo las condiciones experimentales [30].

8. Límite de detección: es la concentración más baja a la cual puede detectarse el analito bajo las condiciones experimentales [30].

9. Recuperación o recobro: Cantidad del analito recuperada en la porción de muestra o muestra adicionada cuando ésta es conducida a través del método analítico completo, y que permite evaluar la eficiencia de la extracción, proceso de preparación e interferencias que puedan existir al aplicarlo. Se expresa en términos de porcentaje.

Son necesarios como mínimo 5 niveles diferentes de concentración por triplicado, se calcula la concentración para cada uno de los niveles utilizados [30].

10. Repetibilidad: grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea por un solo analista, usando los mismos instrumentos y método en intervalos cortos de tiempo.

Se requieren tres niveles diferentes de concentración por sextuplicado, que correspondan al nivel inferior, medio y superior del intervalo de trabajo. Estos estándares se deben preparar por un mismo analista en dos días diferentes, cada día se analizan los tres niveles por triplicado. Finalmente, se calcula el coeficiente de variación de la respuesta para cada nivel y se reporta el máximo coeficiente de variación obtenido [30].

11. Reproducibilidad (precisión intermedia): grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea por dos analistas o instrumentos diferentes, usando el mismo método en diferentes días. Se requieren tres niveles diferentes de concentración por sextuplicado, que correspondan al nivel inferior, medio y superior del intervalo de trabajo. Estos estándares se deben preparar por dos analistas en dos días diferentes, cada día se analizan los tres niveles por triplicado. Finalmente, se calcula el coeficiente de variación de la respuesta para cada nivel y se reporta el máximo coeficiente de variación obtenido [30].
12. Robustez: es la medida de la capacidad del método analítico de permanecer inalterado por pequeñas, pero deliberadas variaciones (efecto de cambio en las condiciones) en los parámetros del mismo, proporcionando un índice de su confiabilidad durante su uso normal [30].
13. Selectividad: es la capacidad de un método analítico para medir solamente lo que se pretende que se mida [30]. De acuerdo al Vocabulario Internacional de Metrología (VIM), es la propiedad de un sistema de medida, empleando un procedimiento de medida especificado, por la que el sistema proporciona valores medidos para uno o varios mensurandos, que son independientes entre sí o de otras magnitudes existentes en el fenómeno, cuerpo o sustancia en estudio [33]. De acuerdo a la IUPAC, la selectividad analítica se relaciona con “el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar” [30].
14. Sensibilidad: es el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito. Es la pendiente del intervalo de trabajo y cuanto mayor es ésta, mayor es la sensibilidad del método [30].

15. Sesgo: es la diferencia entre el valor promedio obtenido de los resultados de prueba con respecto a un valor de referencia aceptado o conocido [30].

2.6.6. Parámetros de desempeño y criterios de aceptación

A continuación, se muestran los parámetros de desempeño que deben evaluarse en la validación de métodos fisicoquímicos y los criterios de aceptación de acuerdo a lo establecido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura de la Secretaría de Salud (CCAyAC) [30]:

Tabla 6. Parámetros de desempeño para métodos fisicoquímicos con base al tipo de prueba*.

Parámetro de desempeño	Tipo de prueba					
	Espectrofotométrica	Cromatográfica	Potenciométrica	Volumétrica	Gravimétrica	Física
Intervalo lineal y de trabajo	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Límite de detección	Sí ^a	Sí ^a	No	No	No	Sí ^b
Límite de cuantificación	Sí ^a	Sí ^a	Sí ^a	Sí ^a	Sí ^a	No
Recuperación	Sí	Sí	No	Sí	Sí	No
Sesgo	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Repetibilidad	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí ^c
Reproducibilidad	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí ^c
Incertidumbre	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí ^c
Sensibilidad	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^{d, e}	Sí ^e	Sí ^d	No
Selectividad	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^{d, e}	Sí	Sí	Sí ^b
Robustez	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^d	Sí ^d
^a Solo para análisis a nivel de trazas (ppm, ppb, ppt).						
^b Solo métodos cualitativos.						
^c Solo métodos cuantitativos.						
^d Solo aplica para métodos no normalizados.						
^e Solo para el análisis de aniones y cationes por ion selectivo.						

*CCAyAC. (2011). Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos. México:

Secretaría de Salud.

Tabla 7. Criterios de aceptación para el intervalo lineal, intervalo de trabajo y límite de cuantificación*.

Parámetro	Criterios de aceptación
Intervalo lineal	a) Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica. b) Datos aleatorios en el gráfico de residuales.
Intervalo de trabajo	a) Pendiente: valor cercano a 1 b) Coeficiente de correlación: $r \geq 0.98$ para cuantificación de residuos e impurezas $r \geq 0.99$ para cuantificación de contenido e ingrediente activo
Límite de cuantificación práctico	Nivel inferior estimado en el intervalo de trabajo
Límite de cuantificación estimado	Menor o igual al nivel inferior estimado en el intervalo de trabajo

*CCAyAC. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México: Secretaría de Salud.

Tabla 8. Guía para considerar los niveles del intervalo lineal*.

Determinación	Intervalo recomendado
Contenido o principio activo	80 a 120 % del contenido del marbete o especificación
Cuantificación de una impureza	50 a 120 % el valor de la especificación
Uniformidad de contenido	70 a 130 % la concentración declarada en el marbete
Prueba de disolución	Mínimo \pm 20 % el intervalo establecido
Residuos y contaminantes	0 a 150 % el valor de la especificación

*CCAyAC. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México:

Secretaría de Salud.

Tabla 9. Criterios de aceptación para la recuperación de residuos y contaminantes en alimentos y agua*.

Concentración del analito	%Recobro
< 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o $\mu\text{g}/\text{L}$	50-120%
1 a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o $\mu\text{g}/\text{L}$	60-120%
10 a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o $\mu\text{g}/\text{L}$	70-120%
0.1 a 100 mg/kg o mg/L	70-110%
100 a 1000 mg/kg o mg/L	85-110%

*CCAyAC. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México:

Secretaría de Salud.

Tabla 10. Criterios de aceptación para la repetibilidad y reproducibilidad de residuos y contaminantes en alimentos y agua*.

Concentración del analito	Repetibilidad (r)	Reproducibilidad (R)
< 1 µg/kg o µg/L	CV≤35%	CV≤53%
1 a 10 µg/kg o µg/L	CV≤30%	CV≤45%
10 a 100 µg/kg o µg/L	CV≤20%	CV≤32%
0.1 a 100 mg/kg o mg/L	CV≤15%	CV≤23%
100 a 1000 mg/kg o mg/L	CV≤10%	CV≤16%

*CCAyAC. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México: Secretaría de Salud.

2.7 Parque Nacional de Lagunas de Montebello

El Parque Nacional de Lagunas de Montebello se encuentra al sureste de Chiapas, en la frontera con Guatemala. Está comprendido dentro de los municipios La Trinitaria y La Independencia, se encuentra a 47 km. de Comitán, sus coordenadas geográficas extremas son 16° 10' 40" latitud norte y 91° 47' 40" longitud oeste. La altitud promedio de la zona es de 1500 m.s.n.m. y tiene un área de 6,022 hectáreas.

Esta zona fue decretada Área Natural Protegida desde 1959, constituye una de las reservas forestales más importantes del estado de Chiapas, funciona como un vaso de captación de agua y regulador climático regional. También está reconocida como parte de una cuenca hidrográfica prioritaria para su conservación debido a su riqueza biológica, particularmente de aves y de al menos 50 especies de orquídeas.

Esta área constituye un complejo lacustre que se extiende desde los 59 lagos en territorio mexicano hasta Guatemala, la alimentación de las aguas lacustres es subterránea y su superficie es de 1,219 hectáreas en época de sequía. El sistema lacustre más grande del complejo de lagos de Montebello es Tepancoapan, de 13 km de longitud, que reúne además a los lagos San Lorenzo, Bosque Azul y Yalguech, los cuales se comunican por la inundación de sus áreas colindantes en época de lluvias. El clima es semicálido con una temperatura media anual de 22° C,

con lluvias en verano, no se presentan heladas y el mes más húmedo es septiembre.

Por su belleza recibe una gran cantidad de visitantes, por lo cual las comunidades de la región viven principalmente del turismo. El uso predominante del suelo es el pastoreo y la agricultura, por lo que se utilizan diferentes productos para el control de plagas y nutrición de los cultivos. Montebello forma parte de la subcuenca del río Comitán con 545 km². El río Comitán cruza la Ciudad de Comitán de Domínguez, siendo el recipiente de las aguas negras de ésta misma. El agua para consumo doméstico es utilizada sin ningún tratamiento previo [36].

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. Materiales y equipos

1. Espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 201.
2. Celda cuadrada de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
3. Balanza analítica, capacidad de 210 g y precisión de 1 mg, marca Ohaus modelo Explorer, clase de exactitud especial I.
4. Matraces volumétricos de 10.0 mL, clase A, marca pyrex.
5. Purificador y desionizador de agua, Mili-Q Modelo 185 de Millipore.

3.2. Reactivos y disolventes

1. Agua ultrapura, resistividad 18.2 M Ω ·cm a 25 °C.
2. Paraquat, PESTANAL grado analítico Sigma Aldrich, pureza 99.9 %.
3. Cloruro de Amonio NH₄Cl, estándar analítico JT Baker.

3.3. Metodología

3.3.1. Condiciones espectrofotométricas para la determinación de paraquat

Para seleccionar la longitud de onda a la cual se tiene la máxima absorbancia del paraquat se realizó un barrido en la región de 200 nm a 400 nm del espectro electromagnético. La máxima absorbancia se encontró a una longitud de onda de 258 nm.

La limpieza del material se llevó a cabo de la siguiente manera: se lavó el material con detergente libre de fosfatos y se enjuagó con agua de la llave, posteriormente se sumergió todo el material de vidrio en hipoclorito de sodio (aproximadamente 0.6% m/v, se diluyó 1:10 la presentación comercial que contiene 6 % m/v) por lo menos 4 horas para eliminar los restos de paraquat que hubiesen quedado, este material era enjuagado con suficiente agua corriente para retirar el NaClO residual y finalmente era enjuagado con agua desionizada.

3.3.2. Preparación de la disolución de cloruro de amonio

En la preparación de la disolución patrón y de los estándares de paraquat se empleó como disolvente una disolución de cloruro de amonio de una concentración aproximada de 2.5 % m/v, su función es estabilizar al paraquat en la disolución acuosa, debido a que se hidroliza bajo condiciones alcalinas. Para preparar un

volumen de 500.0 mL de dicha disolución se pesaron 12.5 ± 0.2 g de NH_4Cl , se disolvieron por completo en un poco de agua desionizada, finalmente la disolución resultante fue llevada a la marca de enrase del matraz volumétrico con agua desionizada. Esta disolución también se utilizó como blanco. Se decidió prepararla el mismo día de la realización de los análisis [17].

3.3.3. Preparación de la disolución patrón de paraquat

Se preparó una disolución patrón de una concentración aproximada de 1000 mg/L de paraquat, a partir de dicloruro de paraquat (grado analítico PESTANAL), en cloruro de amonio de concentración 2.5 % m/v. Para conocer la concentración del patrón, se hizo el cálculo correspondiente considerando la masa determinada por la balanza analítica y el volumen final de la disolución. Se almacenó en un frasco ámbar y en refrigeración para evitar su degradación [17].

3.3.4. Preparación de las disoluciones estándar de paraquat

Los estándares se obtuvieron mediante procesos de dilución del patrón. Para preparar las disoluciones estándar se utilizaron matraces volumétricos de 10.0 mL, se agregaba el correspondiente volumen de la disolución patrón (~ 1000 mg/L) y se llevaba a la marca de aforo con cloruro de amonio acuoso al 2.5 % m/v [17].

3.4. Validación del método

3.4.1. Determinación del intervalo lineal

Se determinó el intervalo lineal en el que el analito presenta una respuesta lineal de absorbancia en función de la concentración, mediante la elaboración de curvas de calibración preparadas por cuadruplicado de manera independiente, considerando 9 niveles de concentración en el intervalo comprendido entre 0.5 mg/L y 50.0 mg/L. La medición de la absorbancia en el espectrofotómetro se realizó de la siguiente manera: en primer lugar, se medía la absorbancia del blanco; posteriormente, se medía la absorbancia de las disoluciones estándar en orden creciente de concentración y entre cada una de las mediciones se enjuagaba la celda de cuarzo con un poco del estándar a medir.

3.4.2. Determinación de los límites de detección y cuantificación

Con la finalidad de encontrar el valor mínimo de la respuesta analítica del sistema de detección se realizaron 7 mediciones independientes de la absorbancia de una disolución en cloruro de amonio que contenía 0.2 mg/L de paraquat. Una vez que se tuvieron los valores de absorbancia, se calculó el valor promedio y la desviación estándar de la absorbancia para obtener los valores de los límites de detección y de cuantificación. El primero se obtuvo de acuerdo a la ecuación 6 y el segundo de acuerdo a la ecuación 7 [37].

$$LD = \bar{x} + 3s \quad (6)$$

$$LC = \bar{x} + 10s \quad (7)$$

dónde:

s = desviación estándar de la absorbancia (uA)

\bar{x} = promedio de las 7 repeticiones (uA)

Para obtener los límites de detección y de cuantificación en unidades de concentración (mg/L), se utilizaron los parámetros de la ordenada y de la pendiente de las curvas de calibración de paraquat.

3.4.3. Determinación de la repetibilidad

En días diferentes se prepararon por triplicado y se midió la absorbancia de estándares de paraquat de: 0.5, 2.0, 7.0, 15.0, 27.4, 45.0 y 50.0 mg/L.

Se calculó el porcentaje del coeficiente de variación de acuerdo a la ecuación 8 [37].

$$CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (8)$$

s = desviación estándar de la absorbancia (uA)

\bar{x} = promedio de las absorbancias (uA)

3.4.4. Determinación de la veracidad

En un mismo día se prepararon por triplicado y se midió la absorbancia de disoluciones en cloruro de amonio, que contenían concentraciones conocidas de paraquat: 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 25.0, 30.0, 40.0 y 50.0 mg/L. Cada estándar fue

analizado como muestra, determinando su concentración mediante la interpolación de su absorbancia determinada en una curva de calibración de paraquat.

La veracidad se evaluó como porcentaje de recuperación, debido a la falta de un material de referencia de paraquat en el laboratorio [32]:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{C_{\text{recuperada}}}{C_{\text{adicionada}}} \times 100 \% \quad (9)$$

3.5. Muestras

Las muestras se obtuvieron del Parque Nacional de Lagunas de Montebello en temporada de lluvias. Se tomaron 2 litros de agua a un metro de profundidad. En la siguiente figura se muestra la localización de los lugares de muestreo, estas lagunas se eligieron ya que se encuentran cerca de zonas de cultivos [38]



Figura 6. Imagen satelital de la ubicación de las lagunas estudiadas.

En la tabla 11 se especifica la clave y el nombre de cada uno de los sitios de muestreo.

Tabla 11. Clave de las muestras y nombre de la correspondiente laguna de Montebello.

Clave	Laguna
Y01	Yalmutz
V02	Vuelta del agua
S02	San Lorenzo
S04	
S06	
S08	
S09	
BT01	Balantetic Tepancoapan
BT03	
B07	Bosque Azul

3.5.1. Almacenamiento y tratamiento de las muestras

Se llenaron contenedores de polipropileno con la muestra, se taparon y se guardaron de manera individual en bolsas de plástico. Las muestras se colocaron en una hielera durante el viaje y en el laboratorio se almacenaron en refrigeración a 4 °C; de acuerdo con la NOM-230-SSA1-2002, que define los procedimientos para el muestreo de agua para uso y consumo humano, las muestras de plaguicidas se deben de refrigerar de 4 a 10 °C para su preservación, el tiempo máximo de almacenamiento es de 40 días y el volumen mínimo para la toma de muestra es 1000 mL [39].

Posteriormente, se filtraron en un equipo de microfiltración de vidrio al vacío de la marca MFS (Micro Filtration Systems). Se utilizó una membrana de poliamida, con un tamaño de poro de 0.45 µm y un área de filtrado de 9.6 cm² de la marca Sartorius Stedim Biotech.

El equipo de filtración se montó de la siguiente manera: se colocó un tapón de silicón en la boca del matraz Kitazato, se conectó una manguera de hule del matraz a la bomba de succión. Dentro del tapón se colocó un soporte de vidrio sinterizado y

sobre éste se depositó la membrana, encima de ésta se puso el vaso receptor, el soporte de vidrio sinterizado y el vaso receptor se sujetaron con unas pinzas de aluminio.

Una vez montado el equipo se encendió la bomba y se filtró 1 litro de cada muestra. Cuando ya no había paso de agua, se desconectaba la bomba, se retiraba con unas pinzas la membrana y se colocaba con pinzas una membrana nueva, se sujetaba el vaso con las pinzas de aluminio, se conectaba la bomba y se continuaba con la filtración de la misma muestra [38]

3.5.2. Blancos de muestras

Para preparar un volumen de 10.0 mililitros de estos blancos, se agregaron unos cuantos mililitros de la muestra al matraz (~5 mL), luego se añadió la alícuota correspondiente de la disolución de NH_4Cl al 2.5 % m/v y se llevó a la marca de aforo con la misma muestra. La medición de la absorbancia se realizó de la siguiente manera: primero, se midió el blanco (agua desionizada), luego la muestra original y por último las disoluciones de los blancos de muestra.

Lo anterior se llevó a cabo para cada una de las muestras de las Lagunas de Montebello.

3.5.3. Muestras fortificadas

Se procedió de manera similar a la preparación de los blancos de muestras, en ambos casos se emplea el mismo volumen de las alícuotas, la única diferencia es que para los blancos de muestras la alícuota se tomó de la disolución de NH_4Cl al 2.5 % m/v y para las muestras fortificadas de la disolución estándar de paraquat.

Para preparar 10.0 mililitros de muestras fortificadas, se agregó un poco de muestra al matraz, luego se añadió la alícuota correspondiente de la disolución estándar de paraquat y se llevó a la marca de aforo con la muestra. La medición de la absorbancia se realizaba de la siguiente manera: primero, se medía el blanco (agua desionizada), luego la muestra y por último las disoluciones fortificadas de la muestra en orden creciente de concentración.

Lo anterior se realizó por triplicado para cada una de las muestras de Montebello.

3.5.4. Evaluación del efecto matriz

Para determinar la concentración de cada una de las muestras fortificadas se corrigió la absorbancia medida experimentalmente de la siguiente manera:

$$A = A_{experimental} - A_{blanco\ de\ muestra} \quad (10)$$

Si la absorbancia de los blancos de muestra es independiente del volumen agregado de la alícuota, se toma el promedio de todos los blancos de muestra de dicha muestra como $A_{blanco\ de\ muestra}$.

En caso contrario, si la absorbancia de los blancos de muestra depende del volumen agregado de la alícuota, para $A_{blanco\ de\ muestra}$ se toma el valor de la absorbancia del blanco de muestra correspondiente a cada alícuota.

Posteriormente, se calculó la concentración determinada al sustituir la absorbancia corregida A (ecuación 10) en la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración.

Finalmente, se graficó la concentración determinada en función de la concentración adicionada para cada una de las muestras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Espectro de absorción del paraquat en el UV

Con el objetivo de encontrar la mayor absorbancia del paraquat, se realizó el barrido de longitud de onda de una disolución que contenía 25 mg/L del analito de trabajo en el intervalo de 200 nm a 400 nm, en la figura 7 se presenta el gráfico correspondiente, en el cual se observa la presencia de dos picos de absorbancia a distintas longitudes de onda: 204 nm y 258 nm. Debido a esto se decidió llevar a cabo el desarrollo de la metodología de análisis, su optimización y su aplicación en las muestras reales en el pico de mayor absorbancia (258 nm), ya que este permite obtener la mayor señal del analito, lo cual permite analizar muestras con bajos niveles de concentración de paraquat. Cabe mencionar que la cuantificación del analito también podría llevarse a cabo en 204 nm, sin embargo, además de ser una longitud de onda en la que se obtendrían menores límites de detección y de cuantificación, la posibilidad de presentar interferencias de análisis es más alta que en 258 nm, ya que se encuentra muy cerca de la zona del UV en donde muchas especies también presentan absorción.

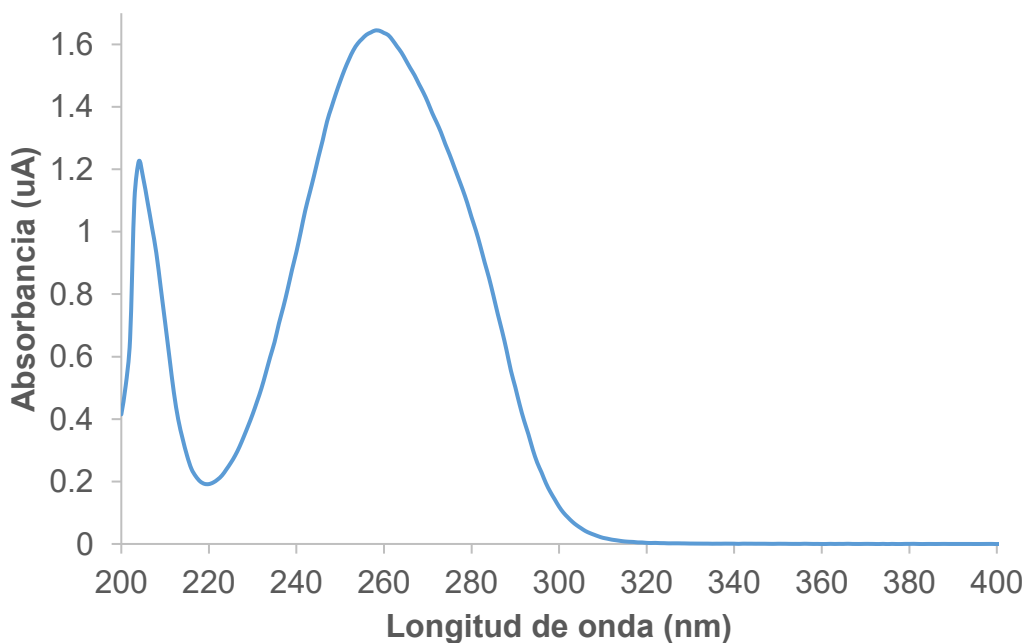


Figura 7. Espectro de absorción en el intervalo de 200 a 400 nm para una disolución de 25 mg/L de paraquat.

4.2. Intervalo lineal

Se comprueba la linealidad de la curva de calibración para el paraquat (Figura 8) en el intervalo de concentraciones de 0.5 mg/L a 50 mg/L, ya que la ecuación de la curva de calibración tiene un coeficiente de correlación (r) mayor a 0.98 (Tabla 13) de acuerdo a lo establecido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAyAC) de la Secretaría de Salud (Tabla 17).

La ecuación de la curva de calibración del paraquat es la siguiente:

$$\text{Absorbancia (uA)} = 0.0601 \left(\frac{\text{uA} \cdot \text{L}}{\text{mg}} \right) \text{Concentración} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) + 0.005 \text{ (uA)} \quad (11)$$

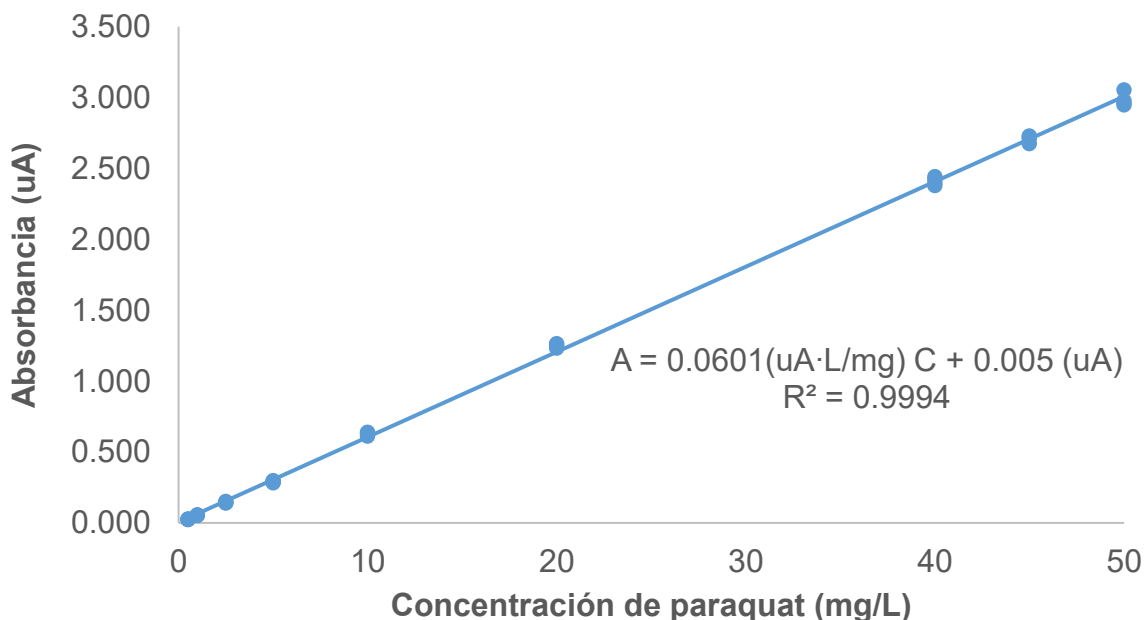


Figura 8. Curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat en muestras acuosas mediante espectrofotometría ultravioleta, $n=4$ ($\lambda = 258$ nm).

Tabla 12. Absorbancias obtenidas a 258 nm de las 4 réplicas correspondientes a los 9 niveles de concentración empleados en la curva de calibración para determinar el intervalo lineal.

Concentración (mg/L)	Absorbancia $\lambda= 258 \text{ nm}$			
	1	2	3	4
0.5	0.024	0.025	0.023	0.027
1.0	0.055	0.055	0.051	0.057
2.5	0.151	0.144	0.141	0.143
5.0	0.289	0.292	0.297	0.283
10.0	0.627	0.638	0.612	0.636
20.0	1.260	1.264	1.232	1.244
40.0	2.424	2.442	2.402	2.380
45.0	2.711	2.729	2.722	2.675
50.0	2.958	2.947	2.978	3.054

La sensibilidad se reporta en la tabla 13 como el valor de la pendiente, la cual es 0.0601 $\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$. La prueba de hipótesis sobre la pendiente de la curva de calibración indicó que es estadísticamente diferente de cero, lo cual confirma que el método es capaz de detectar la respuesta de disoluciones de distintas concentraciones de paraquat dentro del intervalo lineal, ver anexo 1a. Si la pendiente es mayor, la sensibilidad del método también lo es, es decir, se observa un mayor cambio en la señal analítica del instrumento entre dos concentraciones distintas del analito.

El método es útil para la cuantificación de paraquat cuando su concentración se encuentra entre 0.5 y 50 mg/L. Cuando la concentración es mayor al límite superior del intervalo lineal (50 mg/L), será necesario diluir previamente la muestra. Si, por el contrario, la concentración es menor al límite inferior del intervalo lineal (0.5 mg/L), es necesario concentrar la muestra. La extrapolación de señales analíticas en una curva de calibración, no generan valores de concentración confiables, debido a que es posible que fuera de dicho intervalo la respuesta analítica en función de la concentración del analito no se ajuste a un comportamiento lineal.

Tabla 13. Parámetros estadísticos para la regresión lineal de la curva de calibración obtenida para la cuantificación de paraquat a un nivel de confianza del 95 %.

Parámetro	Valor obtenido
Intervalo lineal	(0.5 – 50.0) mg/L
Pendiente (m)*	(0.0601 ± 0.0005) uA·L/mg
Ordenada al origen (b)**	0.005 ± 0.013
Ecuación	A (uA) = 0.0601 (uA·L/mg) C (mg/L) + 0.005 (uA)
Coefficiente de determinación	r ² = 0.9994
Coefficiente de correlación	r = 0.9997
n	36

*El análisis estadístico para verificar que existe una dependencia de la absorbancia en función de la concentración, $m \neq 0$, se presenta en el anexo 1a.

**El análisis estadístico para verificar que no existen errores sistemáticos sobre la señal medida, $b = 0$, se presenta en el anexo 1b.

4.3. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y de cuantificación, tanto en unidades de absorbancia como en unidades de concentración, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 14. Límites de detección y de cuantificación instrumentales para el análisis de paraquat (n=7).

Concentración (mg/L)	Absorbancia Promedio (uA)	Desviación Estándar (s)	% CV	LD (uA)	LC (uA)	LD (mg/L)	LC (mg/L)
0.2	0.019	0.0012	6.3	0.023	0.031	0.29	0.44

Se determinó un límite de detección de 0.29 mg/mL. Con respecto al límite de cuantificación, el valor determinado se encuentra muy cercano al punto más bajo del intervalo lineal y su valor de % CV cumple con el recomendado por la CCAYAC (% CV <10)

4.4. Precisión

Para conocer la precisión del método se determinó la repetibilidad mediante el uso de los porcentajes de los coeficientes de variación para distintos niveles de concentración comprendidos en el intervalo lineal. Los resultados se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Mediciones de la absorbancia de distintos estándares de paraquat para determinar la repetibilidad.

Concentración (mg/L)	Absorbancia (uA)						Abs promedio	s	% CV
	1	2	3	4	5	6			
	Mismo día			Mismo día					
0.5	0.032	0.033	0.033	0.031	0.035	0.035	0.033	0.001602	4.8
2.0	0.124	0.121	0.122	0.13	0.13	0.128	0.126	0.004021	3.2
7.0	0.443	0.434	0.43	0.438	0.442	0.439	0.438	0.004926	1.1
15.0	0.943	0.931	0.93	0.952	0.962	0.946	0.944	0.012313	1.3
27.4	1.677	1.685	1.692	1.672	1.667	1.668	1.677	0.009948	0.6
45.0	2.712	2.702	2.777	2.713	2.701	2.707	2.719	0.029001	1.1
50.0	2.965	2.955	2.959	2.978	2.971	2.967	2.966	0.008256	0.3

El mayor coeficiente de variación fue de 4.8 %, correspondiente al nivel de concentración inferior del intervalo lineal (0.5 mg/L), lo cual era esperado debido a la mayor dificultad al preparar adecuadamente una disolución tan diluida y porque, a pesar de tener una desviación estándar similar al resto de las concentraciones, el valor de la absorbancia promedio de este estándar es muy bajo en comparación con los otros estándares; lo cual hace que el porcentaje del coeficiente de variación se eleve demasiado.

Por el contrario, el menor coeficiente de variación, 0.3 %, corresponde al nivel de concentración superior del intervalo lineal (50 mg/L), debido a la menor dificultad al preparar adecuadamente una disolución más concentrada y porque, a pesar de tener una desviación estándar similar al resto de las concentraciones, el valor de la

absorbancia promedio de este estándar es muy alto en comparación con los otros estándares; lo cual hace que el porcentaje del coeficiente de variación disminuya.

Como era de esperarse, el porcentaje del coeficiente de variación disminuye para la concentración de 27.4 mg/L que se encuentra cerca del centro de gravedad de la curva.

De acuerdo con los resultados, la metodología de trabajo es precisa, ya que todos los porcentajes de los coeficientes de variación correspondientes a los distintos niveles de concentraciones evaluados son menores al 15 %, de acuerdo al criterio de aceptación establecido por la CCAyAC para concentraciones comprendidas entre 0.1 a 100 mg/L de residuos y contaminantes en alimentos y aguas (tabla 10).

4.5. Veracidad

Para evaluar la veracidad del método se calculó la concentración, de estándares analizados como muestras, mediante el uso de la ecuación de la curva de calibración, así como los porcentajes de recuperación. En la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos, el menor y el mayor porcentaje de recobro fueron de 90.0% y 103.2 %, respectivamente; los cuales satisfacen el criterio de aceptación, recomendado por la Secretaría de Salud, correspondiente a estos niveles de concentración de residuos y contaminantes en alimentos y aguas (tabla 16), ya que éstos están comprendidos en el intervalo de 70 % a 110 %.

Para la concentración de 1.0 mg/L se tiene una menor veracidad, porque al disminuir la concentración aumenta el error en la cuantificación.

Tabla 16. Determinación de la veracidad del método para cuantificar paraquat mediante espectrofotometría.

Concentración (mg/L)	Absorbancia Promedio (uA)	Concentración Experimental (mg/L)	% Recobro
1.0	0.064	0.90	90.0
5.0	0.309	4.97	99.4
10.0	0.631	10.32	103.2
20.0	1.248	20.58	102.9
25.0	1.548	25.56	102.2
30.0	1.843	30.46	101.5
40.0	2.406	39.80	99.5
50.0	2.977	49.30	98.6

Con esto es posible decir que todos los parámetros determinados cumplieron los criterios de aceptación para la validación de métodos fisicoquímicos recomendados por la Secretaría de Salud (ver tabla 17).

Tabla 17. Parámetros de la validación del método para determinar paraquat mediante espectrofotometría ultravioleta.

Parámetro	Valor obtenido	Criterios de aceptación*
Intervalo lineal	(0.5 – 50) mg/L r = 0.9997	$r \geq 0.98$ para cuantificación de residuos e impurezas
Sensibilidad analítica	(0.0601 ± 0.0005) uA·L/mg	Pendiente: valor cercano a 1
Límite de detección	(0.29 ± 0.41) mg/L	-
Límite de cuantificación	(0.44 ± 0.41) mg/L % CV= 6.3	Menor o igual al nivel inferior en el intervalo de trabajo. % CV < 10
Veracidad	Menor % recobro = 90.0 % Mayor % recobro = 103.2 %	0.1 a 100 mg/L 70 -110 %
Repetibilidad	Menor % CV= 0.3 % Mayor % CV= 4.8 %	0.1 a 100 mg/L % CV ≤ 15 %

*CCAyAC. (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México:

Secretaría de Salud.

4.6. Evaluación del efecto matriz

4.6.1. Blancos de muestras

De acuerdo a los datos de la tabla 18, la absorbancia es independiente del volumen utilizado de cloruro de amonio, ya que no se observa ninguna relación entre ambos; por lo cual se puede emplear como valor de absorbancia de cada blanco de muestra, el promedio de las absorbancias de los blancos, preparados con un volumen diferente de cloruro de amonio para cada una de las muestras de estudio ($A_{\text{blanco de muestra}}$), para obtener la absorbancia corregida de las muestras fortificadas.

Tabla 18. Absorbancia obtenida para los blancos de muestras de las lagunas de Montebello.

Alícuota de NH ₄ Cl 2.5 % m/v	Absorbancia (uA)									
	Y01	Y02	S02	S04	S06	S08	S09	BT01	BT03	B07
Volumen 0	0.051	0.057	0.041	0.051	0.039	0.056	0.045	0.058	0.044	0.057
Volumen 1	0.051	0.055	0.041	0.051	0.039	0.054	0.045	0.060	0.045	0.055
Volumen 2	0.051	0.055	0.044	0.050	0.038	0.054	0.045	0.059	0.046	0.056
Volumen 3	0.050	0.052	0.038	0.048	0.039	0.054	0.041	0.057	0.047	0.056
Volumen 4	0.053	0.054	0.041	0.050	0.038	0.056	0.044	0.059	0.047	0.057
Volumen 5	0.050	0.053	0.041	0.051	0.039	0.054	0.044	0.058	0.047	0.056
Volumen 6	0.053	0.052	0.041	0.052	0.039	0.054	0.045	0.060	0.046	0.057
Promedio	0.051	0.054	0.041	0.050	0.039	0.055	0.044	0.059	0.046	0.056
Desviación estándar	0.001	0.002	0.002	0.001	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
% CV	2.4	3.4	4.2	2.5	1.3	1.8	3.3	1.9	2.5	1.3

4.6.2. Muestras fortificadas

A continuación, se presentan para cada uno de los niveles de concentración de fortificación, los valores de absorbancia neta y sus respectivos valores de absorbancia corregida, utilizando su respectivo valor de blanco de muestra, de cada una de las muestras de agua de las lagunas Montebello (tablas 19 a 28).

Tabla 19. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Yalmutz (Y01).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				%	Absorbancia corregida (uA)				%
	1	2	3	Promedio		CV	1	2	3	
0.5	0.080	0.079	0.081	0.080	1.3	0.029	0.028	0.030	0.029	3.5
1.0	0.109	0.112	0.116	0.112	3.1	0.058	0.061	0.065	0.061	5.8
5.0	0.344	0.337	0.363	0.348	3.9	0.293	0.286	0.312	0.297	4.5
25.0	1.622	1.647	1.648	1.639	0.9	1.571	1.596	1.597	1.588	0.9
45.0	2.809	2.792	2.818	2.806	0.5	2.758	2.741	2.767	2.755	0.5
50.0	3.087	3.060	3.118	3.088	0.9	3.036	3.009	3.067	3.037	1.0

Tabla 20. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Vuelta del agua (V02).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				%	Absorbancia corregida (uA)				%
	1	2	3	Promedio		CV	1	2	3	
0.5	0.082	0.080	0.083	0.082	1.9	0.028	0.026	0.029	0.028	5.5
1.0	0.115	0.112	0.110	0.112	2.2	0.061	0.058	0.056	0.058	4.3
5.0	0.355	0.356	0.328	0.346	4.6	0.301	0.302	0.274	0.292	5.4
25.0	1.688	1.617	1.681	1.662	2.4	1.634	1.563	1.627	1.608	2.4
45.0	2.816	2.811	2.910	2.846	2.0	2.762	2.757	2.856	2.792	2.0
50.0	3.038	3.075	3.055	3.056	0.6	2.984	3.021	3.001	3.002	0.6

Tabla 21. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S02).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.072	0.075	0.071	0.073	2.9	0.031	0.034	0.030	0.032	6.6
1.0	0.107	0.104	0.102	0.104	2.4	0.066	0.063	0.061	0.063	4.0
5.0	0.357	0.346	0.338	0.347	2.7	0.316	0.305	0.297	0.306	3.1
25.0	1.602	1.606	1.575	1.594	1.1	1.561	1.565	1.534	1.553	1.1
45.0	2.776	2.791	2.749	2.772	0.8	2.735	2.750	2.708	2.731	0.8
50.0	3.188	3.053	3.006	3.082	3.1	3.147	3.012	2.965	3.041	3.1

Tabla 22. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S04).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.083	0.085	0.082	0.083	1.8	0.033	0.035	0.032	0.033	4.6
1.0	0.114	0.116	0.112	0.114	1.8	0.064	0.066	0.062	0.064	3.1
5.0	0.355	0.367	0.361	0.361	1.7	0.305	0.317	0.311	0.311	1.9
25.0	1.605	1.605	1.607	1.606	0.1	1.555	1.555	1.557	1.555	0.1
45.0	2.880	2.792	2.824	2.832	1.6	2.830	2.742	2.774	2.782	1.6
50.0	3.070	3.096	3.087	3.084	0.4	3.020	3.046	3.037	3.034	0.4

Tabla 23. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S06).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.068	0.073	0.072	0.071	3.7	0.029	0.034	0.033	0.032	8.2
1.0	0.098	0.102	0.106	0.102	3.9	0.059	0.063	0.067	0.063	6.3
5.0	0.322	0.356	0.352	0.343	5.4	0.283	0.317	0.313	0.305	6.1
25.0	1.550	1.530	1.590	1.557	2.0	1.511	1.491	1.551	1.518	2.0
45.0	2.722	2.731	2.742	2.732	0.4	2.683	2.692	2.703	2.693	0.4
50.0	3.050	3.060	3.070	3.060	0.3	3.011	3.021	3.031	3.021	0.3

Tabla 24. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S08).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.086	0.086	0.085	0.086	0.7	0.031	0.031	0.030	0.031	1.9
1.0	0.117	0.118	0.116	0.117	0.9	0.062	0.063	0.061	0.062	1.6
5.0	0.363	0.366	0.366	0.365	0.5	0.308	0.311	0.311	0.310	0.6
25.0	1.663	1.686	1.649	1.666	1.1	1.608	1.631	1.594	1.611	1.2
45.0	2.865	2.865	2.868	2.866	0.1	2.810	2.810	2.813	2.811	0.1
50.0	3.135	3.156	3.146	3.146	0.3	3.080	3.101	3.091	3.091	0.3

Tabla 25. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna San Lorenzo (S09).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.071	0.072	0.074	0.072	2.1	0.027	0.028	0.030	0.028	5.4
1.0	0.102	0.104	0.104	0.103	1.1	0.058	0.060	0.060	0.059	2.0
5.0	0.342	0.344	0.337	0.341	1.1	0.298	0.300	0.293	0.297	1.2
25.0	1.600	1.616	1.634	1.617	1.1	1.556	1.572	1.590	1.573	1.1
45.0	2.657	2.810	2.799	2.755	3.1	2.613	2.766	2.755	2.711	3.1
50.0	3.102	3.064	3.072	3.079	0.7	3.058	3.020	3.028	3.035	0.7

Tabla 26. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.098	0.094	0.097	0.096	2.2	0.039	0.035	0.038	0.038	5.5
1.0	0.128	0.128	0.128	0.128	0.0	0.069	0.069	0.069	0.069	0.0
5.0	0.388	0.393	0.386	0.389	0.9	0.329	0.334	0.327	0.330	1.1
25.0	1.699	1.700	1.690	1.696	0.3	1.640	1.641	1.631	1.638	0.3
45.0	2.912	2.909	2.890	2.904	0.4	2.853	2.850	2.831	2.845	0.4
50.0	3.212	3.225	3.204	3.214	0.3	3.153	3.166	3.145	3.155	0.3

Tabla 27. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.079	0.073	0.078	0.077	4.2	0.033	0.027	0.032	0.031	10.5
1.0	0.109	0.102	0.108	0.106	3.6	0.063	0.056	0.062	0.060	6.3
5.0	0.371	0.332	0.354	0.352	5.5	0.325	0.286	0.308	0.306	6.4
25.0	1.548	1.503	1.573	1.541	2.3	1.502	1.457	1.527	1.495	2.4
45.0	2.816	2.725	2.833	2.791	2.1	2.770	2.679	2.787	2.745	2.1
50.0	3.107	3.051	3.103	3.087	1.0	3.061	3.005	3.057	3.041	1.0

Tabla 28. Absorbancias de las disoluciones fortificadas con paraquat de la muestra de la laguna Bosque Azul (B07).

Concentración adicionada (mg/L)	Absorbancia (uA)				% CV	Absorbancia corregida (uA)				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.086	0.085	0.085	0.085	0.7	0.030	0.029	0.029	0.029	2.0
1.0	0.117	0.110	0.119	0.115	4.1	0.061	0.054	0.063	0.059	8.0
5.0	0.348	0.364	0.357	0.356	2.3	0.292	0.308	0.301	0.300	2.7
25.0	1.616	1.650	1.659	1.642	1.4	1.560	1.594	1.603	1.585	1.4
45.0	2.837	2.859	2.850	2.849	0.4	2.781	2.803	2.794	2.792	0.4
50.0	3.114	3.118	3.121	3.118	0.1	3.058	3.062	3.065	3.061	0.1

En todos los casos, se observa que la muestra per se presenta una ligera absorción (<0.1), por lo que fue necesario realizar la corrección de la señal de la muestra fortificada con paraquat para evitar errores de tipo sistemático.

En los niveles de concentración inferiores se obtuvieron mayores porcentajes del coeficiente de variación, con respecto al resto de las concentraciones estudiadas, debido a que las disoluciones a esos niveles de concentración eran preparadas mediante dos procesos de dilución; en contraste con las disoluciones con niveles

mayores de concentración preparadas por un sólo proceso de dilución de la disolución patrón.

En las siguientes gráficas (figuras 9-18) se muestran las representaciones de la concentración determinada en función de la concentración adicionada y en la tabla 29 (n=3), los parámetros de dichas rectas.

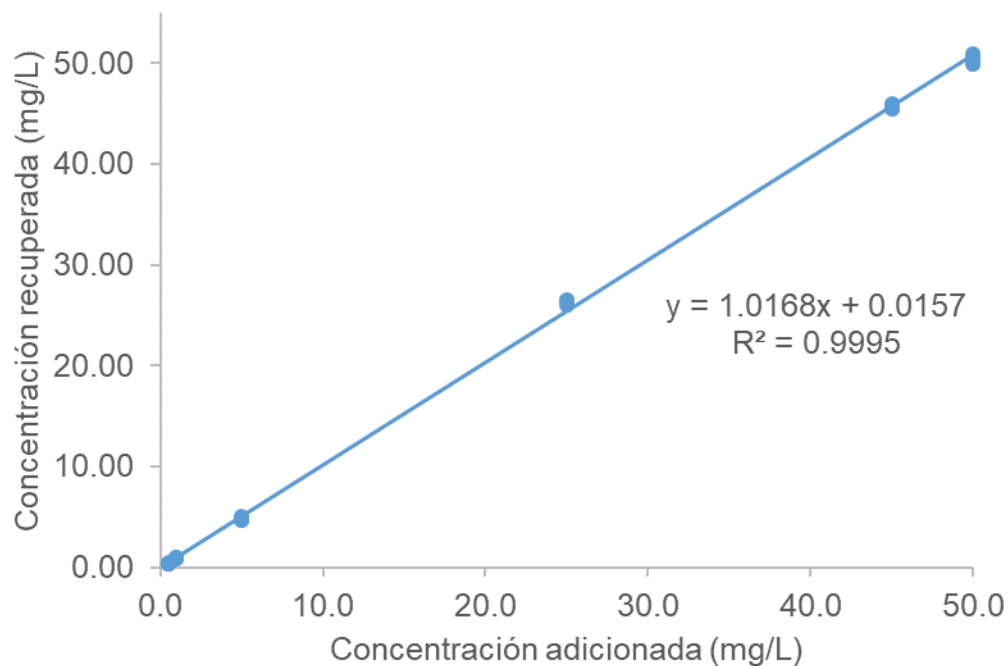


Figura 9. Evaluación del efecto de matriz en la muestra de la laguna Yalmutz (Y01).

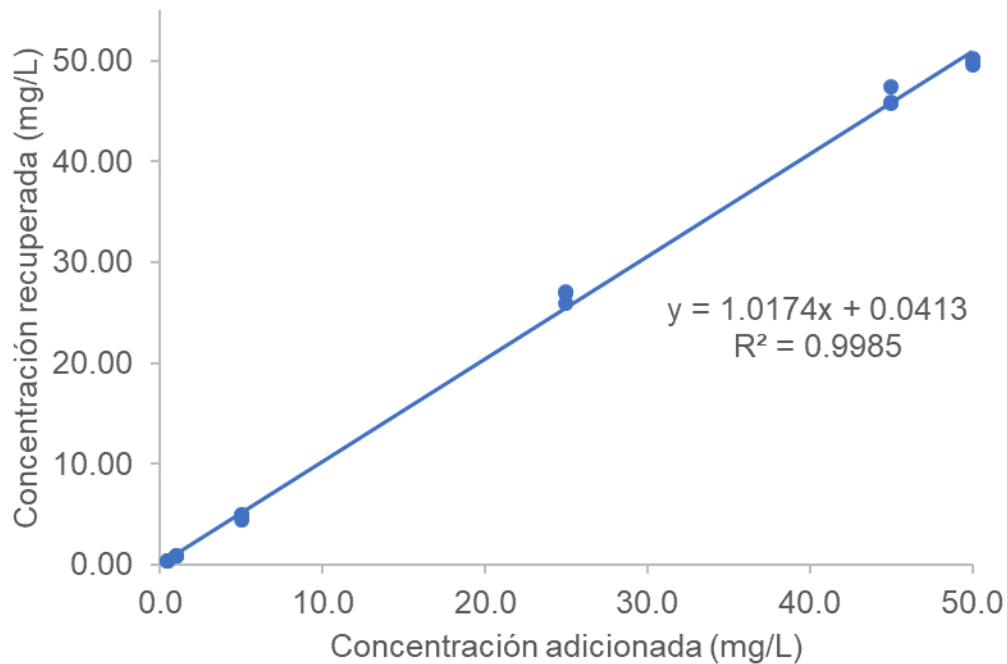


Figura 10. Evaluación del efecto de matriz en la muestra de la laguna Vuelta del agua (V02).

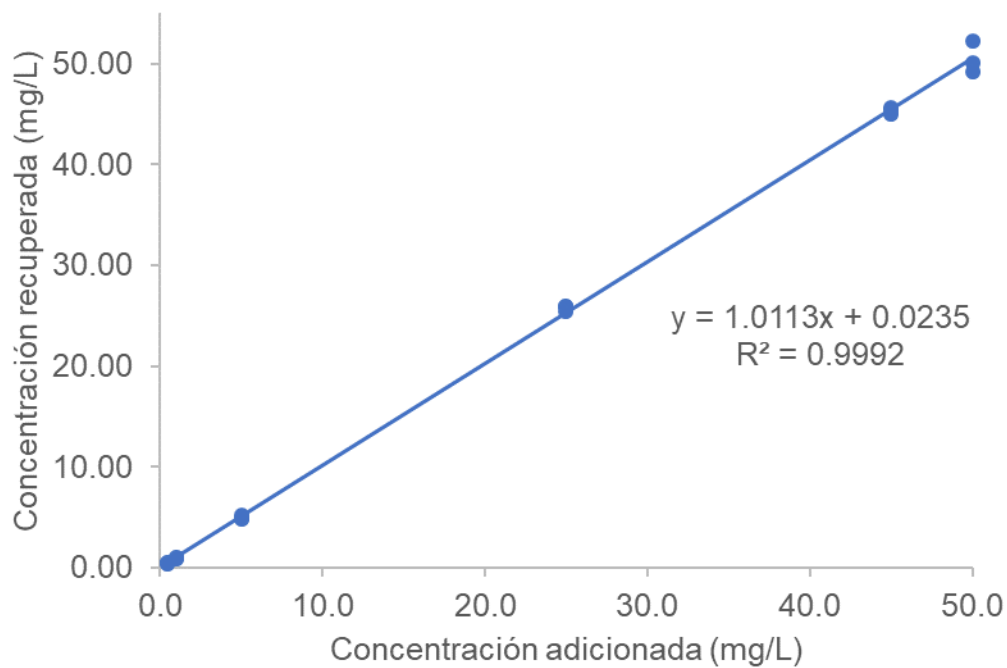


Figura 11. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S02).

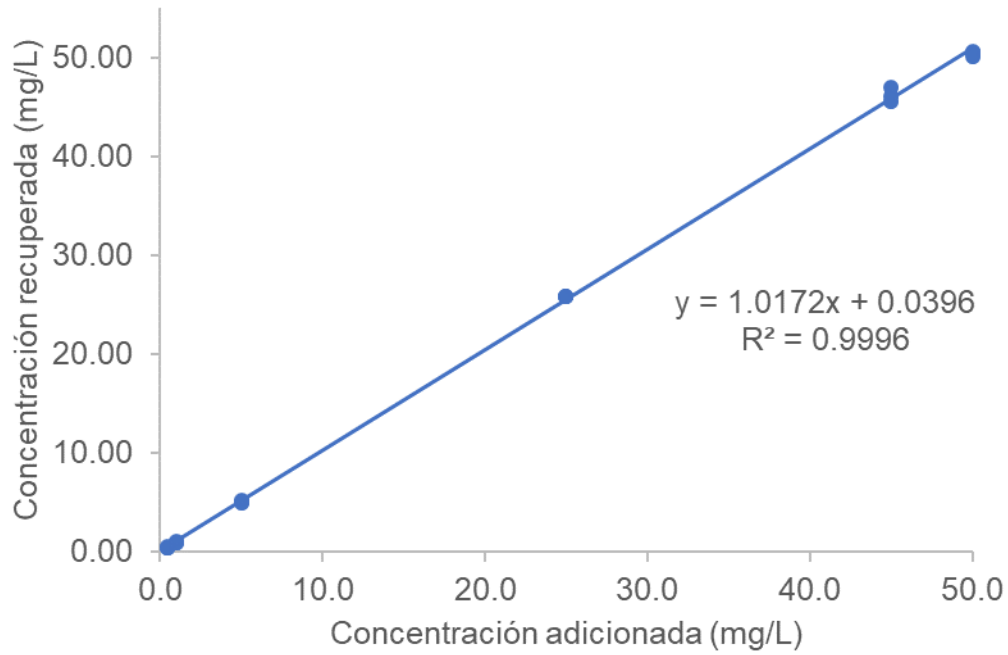


Figura 12. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S04).

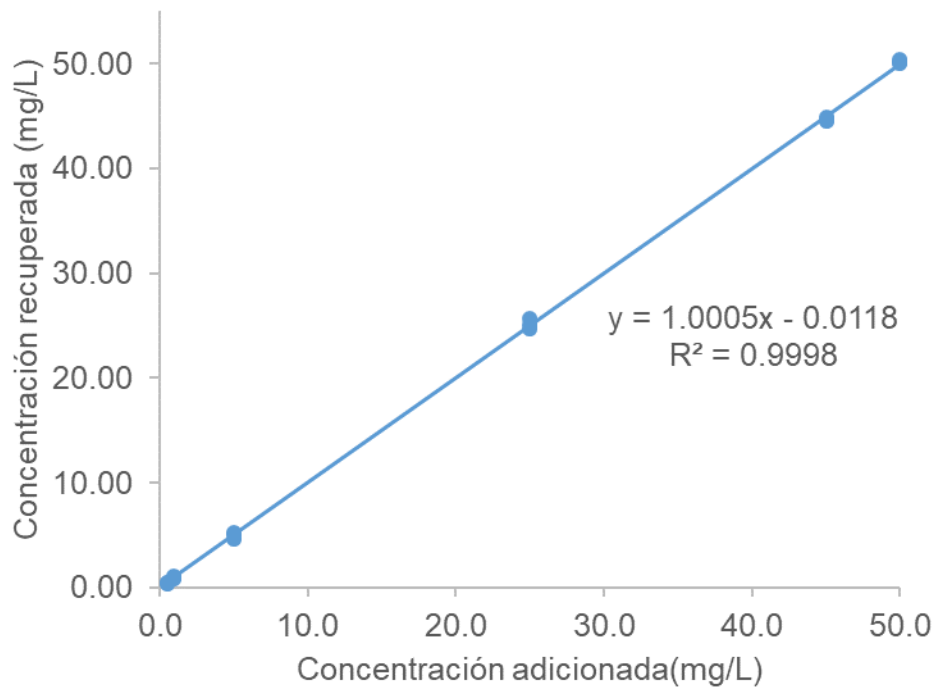


Figura 13. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la Laguna San Lorenzo (S06).

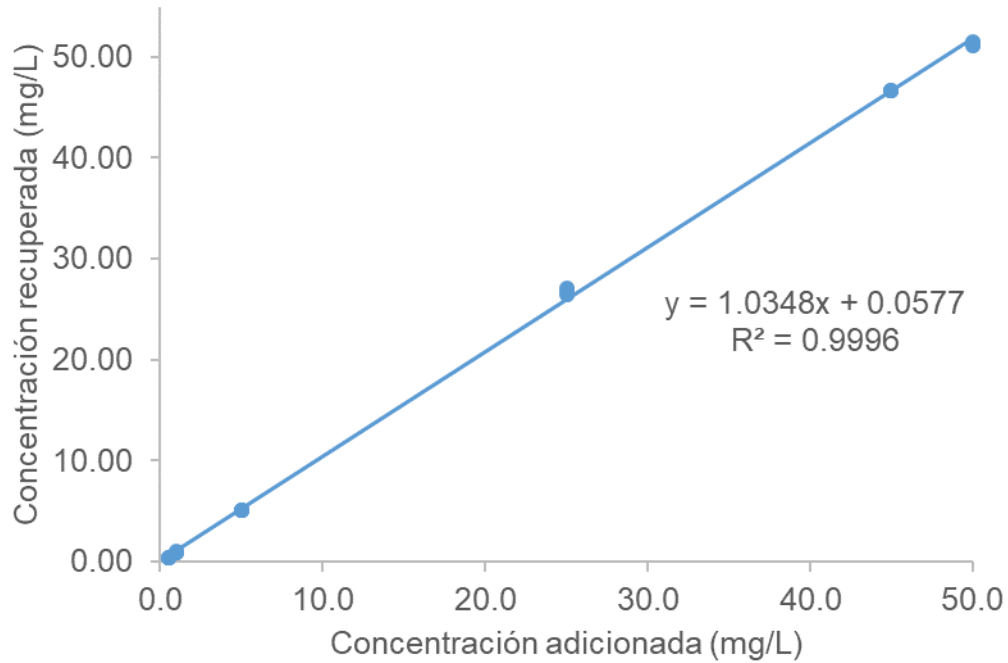


Figura 14. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la Laguna San Lorenzo (S08).

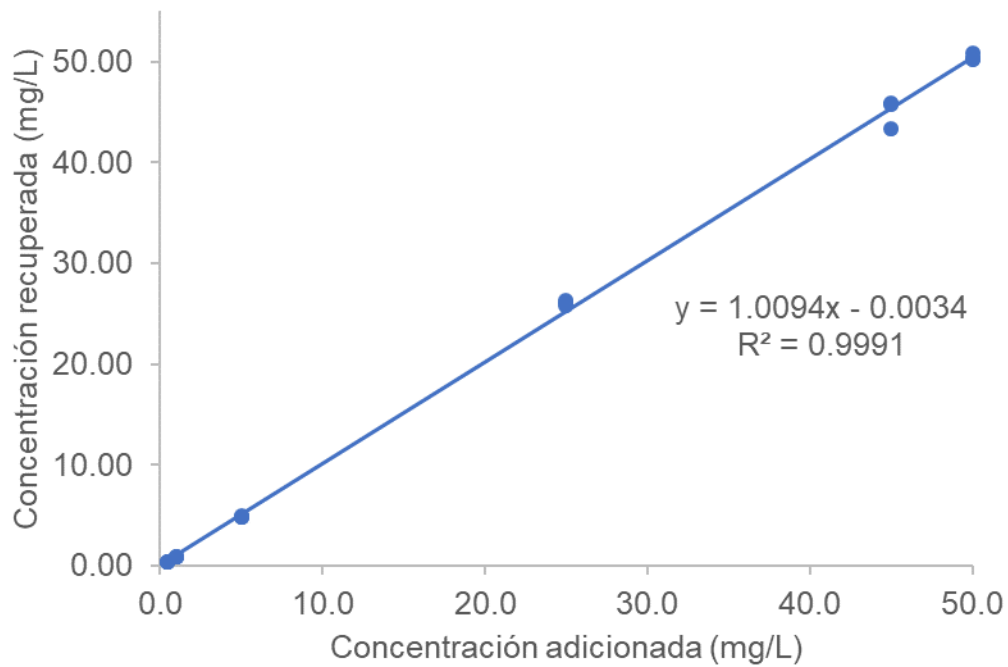


Figura 15. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna San Lorenzo (S09).

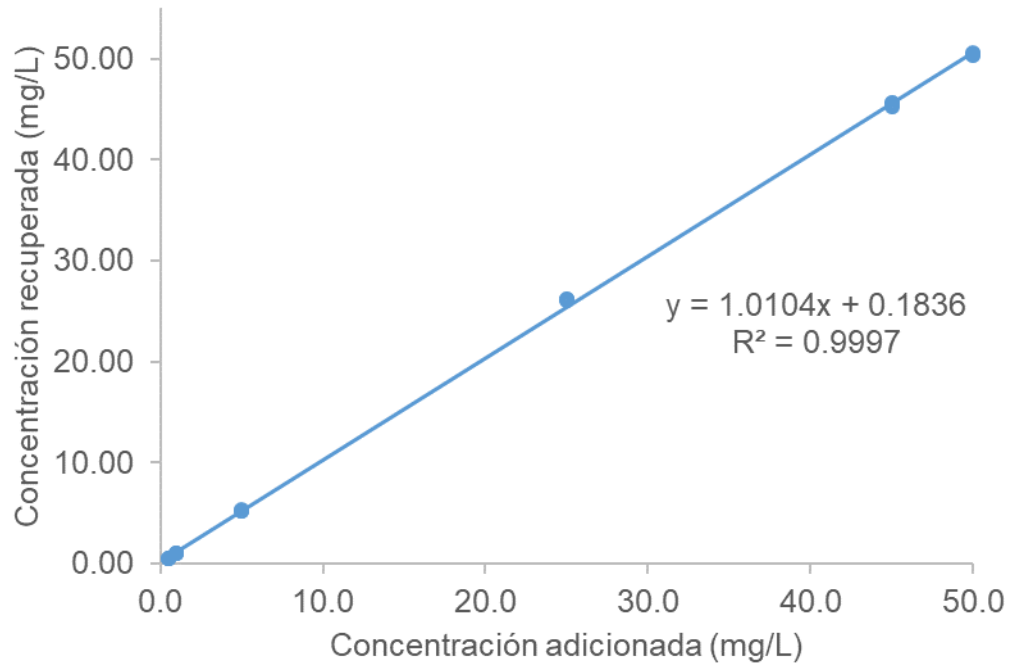


Figura 16. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).

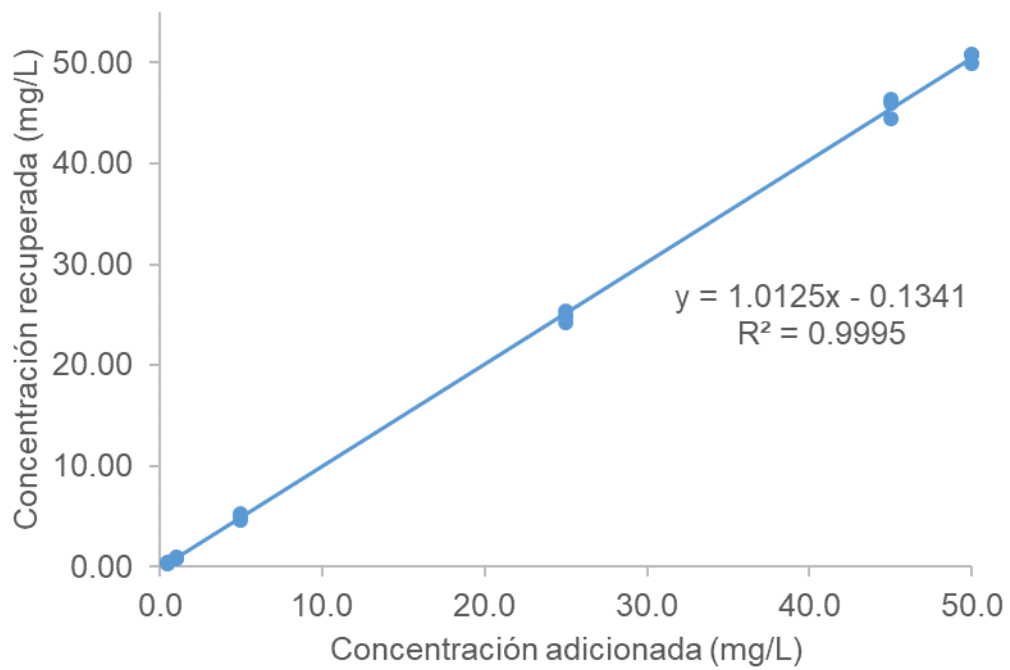


Figura 17. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03).

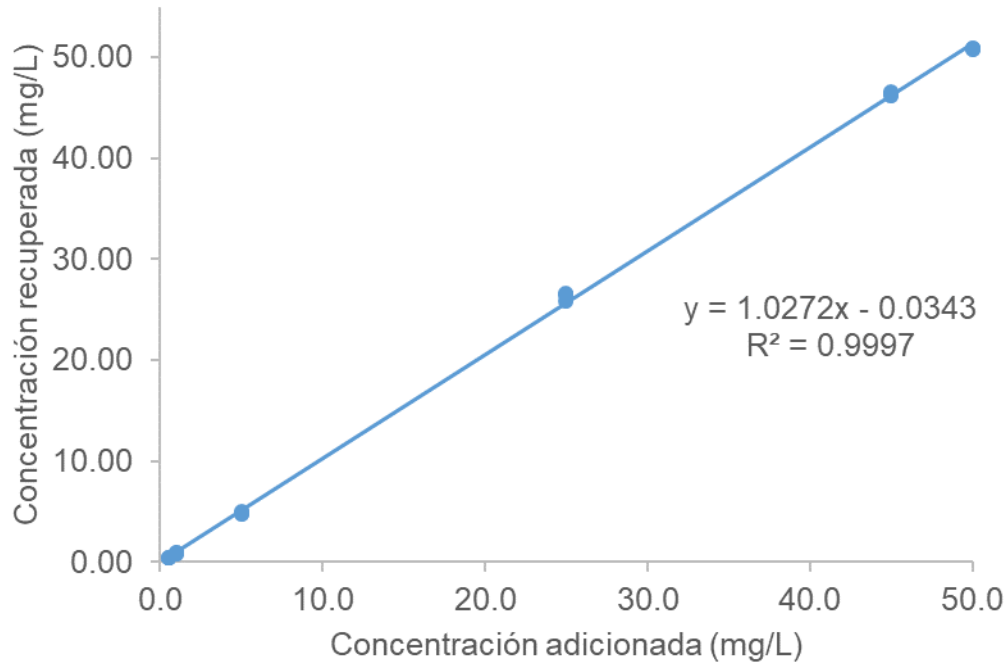


Figura 18. Evaluación del efecto matriz en la muestra de la laguna Bosque Azul (B07).

En algunas de las gráficas anteriores (Figuras 10, 11, 15 y 17) correspondientes a las muestras de las lagunas Vuelta del Agua (V02), San Lorenzo (S02 y S09) y Balantetic Tepancoapan (BT03) se observan algunos puntos por encima o por debajo del valor esperado para la regresión lineal, debido a esto para cada una de las muestras se calcularon los porcentajes del coeficiente de variación de las absorbancias medidas para los distintos niveles de fortificación. Como se aprecia en las tablas 19 a 28, todos los % CV son menores al 15 % con lo cual se cumple el criterio de repetibilidad para residuos y contaminantes en agua a niveles de concentración de 0.1 a 100 mg/L, lo cual indica que las mediciones se realizaron bajo condiciones de repetibilidad.

Tabla 29. Evaluación de la presencia del efecto matriz en la cuantificación de paraquat en las muestras de las lagunas de Montebello.

Clave	Muestra/Lugar	Pendiente m ($\mu\text{A} \cdot \text{L}/\text{mg}$)	Ordenada al origen b (μA)	Coefficiente de determinación r^2	Coefficiente de correlación r
Y01	Laguna Yalmutz	1.017 ± 0.012	0.02 ± 0.36	0.9995	0.9997
V02	Laguna Vuelta del agua	1.017 ± 0.021	0.04 ± 0.62	0.9985	0.9992
S02	Laguna San Lorenzo	1.011 ± 0.015	0.02 ± 0.45	0.9992	0.9996
S04		1.017 ± 0.010	0.04 ± 0.30	0.9996	0.9998
S06		1.001 ± 0.007	-0.01 ± 0.20	0.9998	0.9999
S08		1.035 ± 0.011	0.06 ± 0.31	0.9996	0.9998
S09		1.009 ± 0.016	0.00 ± 0.48	0.9991	0.9995
BT01	Laguna Balantetic	1.010 ± 0.009	0.18 ± 0.26	0.9997	0.9999
BT03	Tepancoapan	1.012 ± 0.012	-0.13 ± 0.35	0.9995	0.9997
B07	Laguna Bosque Azul	1.027 ± 0.010	-0.03 ± 0.29	0.9997	0.9998

Si bien todas las pendientes de las rectas obtenidas son cercanas a 1 ($\mu\text{A} \cdot \text{L}/\text{mg}$) y sus respectivos valores de coeficiente de correlación son ≥ 0.9992 , al realizar la prueba de hipótesis sobre cada uno de los valores de pendiente obtenidos, el análisis estadístico realizado indicó que para las muestras Y01, S04, S08, BT01, BT03 y B07 este valor no es igual a 1 (ver anexo 2), sin embargo, como se pueden observar, los valores de los porcentajes de recuperación obtenidos para todas las muestras en todos los niveles de concentración de trabajo, se encuentran dentro del intervalo comprendido entre el 70 % y 110 % de recuperación que establece la CCAyAC como criterio de aceptación para estos niveles de concentración, por lo que se confirma que la metodología de análisis no presenta interferencias de matriz en los niveles de concentración de estudio.

En las tablas 30 a 39, se presentan las concentraciones recuperadas de paraquat en las muestras fortificadas, calculadas a partir de las correspondientes absorbancias corregidas y de los parámetros de pendiente y ordena al origen de una curva de calibración de paraquat, se presentan también sus respectivos porcentajes de recobro, que indican el efecto de la matriz sobre los diferentes niveles de concentración de paraquat de estudio.

Tabla 30. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Yalmutz (Y01).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.39	0.38	0.41	0.39	4.2	78.9	75.6	82.2	78.9	4.2
1.0	0.88	0.93	0.99	0.93	6.3	87.7	92.7	99.4	93.3	6.3
5.0	4.79	4.67	5.10	4.85	4.6	95.7	93.4	102.1	97.1	4.6
25.0	26.05	26.47	26.48	26.33	0.9	104.2	105.9	105.9	105.3	0.9
45.0	45.80	45.52	45.95	45.76	0.5	101.8	101.2	102.1	101.7	0.5
50.0	50.43	49.98	50.94	50.45	1.0	100.9	100.0	101.9	100.9	1.0

Tabla 31. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Vuelta del agua (V02).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.38	0.35	0.40	0.38	6.7	76.5	69.9	79.9	75.4	6.7
1.0	0.93	0.88	0.85	0.89	4.7	93.2	88.2	84.9	88.7	4.7
5.0	4.93	4.94	4.48	4.78	5.5	98.5	98.8	89.5	95.6	5.5
25.0	27.10	25.92	26.99	26.67	2.4	108.4	103.7	108.0	106.7	2.4
45.0	45.87	45.79	47.44	46.37	2.0	101.9	101.8	105.4	103.0	2.0
50.0	49.57	50.18	49.85	49.87	0.6	99.1	100.4	99.7	99.7	0.6

Tabla 32. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S02).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.43	0.48	0.42	0.44	7.8	86.5	96.5	83.2	88.7	7.8
1.0	1.01	0.97	0.93	0.97	4.3	101.5	96.5	93.2	97.1	4.3
5.0	5.17	4.99	4.86	5.01	3.2	103.5	99.8	97.2	100.2	3.2
25.0	25.89	25.96	25.44	25.76	1.1	103.6	103.8	101.8	103.1	1.1
45.0	45.42	45.67	44.98	45.36	0.8	100.9	101.5	99.9	100.8	0.8
50.0	52.28	50.03	49.25	50.52	3.1	104.6	100.1	98.5	101.0	3.1

Tabla 33. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S04).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.46	0.49	0.44	0.46	5.5	91.8	98.4	88.4	92.9	5.5
1.0	0.97	1.01	0.94	0.97	3.4	97.5	100.8	94.1	97.5	3.4
5.0	4.98	5.18	5.08	5.08	2.0	99.7	103.7	101.7	101.7	2.0
25.0	25.78	25.78	25.82	25.79	0.1	103.1	103.1	103.3	103.2	0.1
45.0	47.00	45.53	46.07	46.20	1.6	104.4	101.2	102.4	102.7	1.6
50.0	50.16	50.59	50.44	50.40	0.4	100.3	101.2	100.9	100.8	0.4

Tabla 34. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S06).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.40	0.49	0.47	0.45	9.7	80.8	97.5	94.1	90.8	9.7
1.0	0.90	0.97	1.04	0.97	6.9	90.3	97.0	103.6	97.0	6.9
5.0	4.63	5.20	5.13	4.99	6.2	92.6	103.9	102.6	99.7	6.2
25.0	25.06	24.73	25.73	25.17	2.0	100.3	98.9	102.9	100.7	2.0
45.0	44.56	44.71	44.90	44.72	0.4	99.0	99.4	99.8	99.4	0.4
50.0	50.02	50.19	50.35	50.19	0.3	100.0	100.4	100.7	100.4	0.3

Tabla 35. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S08).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.44	0.44	0.42	0.43	2.2	87.9	87.9	84.6	86.8	2.2
1.0	0.96	0.97	0.94	0.96	1.7	95.6	97.2	93.9	95.6	1.7
5.0	5.05	5.10	5.10	5.08	0.6	101.0	102.0	102.0	101.6	0.6
25.0	26.68	27.06	26.45	26.73	1.2	106.7	108.2	105.8	106.9	1.2
45.0	46.68	46.68	46.73	46.70	0.1	103.7	103.7	103.8	103.8	0.1
50.0	51.17	51.52	51.35	51.35	0.3	102.3	103.0	102.7	102.7	0.3

Tabla 36. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna San Lorenzo (S09).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.36	0.38	0.41	0.39	6.6	72.7	76.1	82.7	77.2	6.6
1.0	0.88	0.91	0.91	0.90	2.1	87.9	91.3	91.3	90.2	2.1
5.0	4.87	4.91	4.79	4.86	1.2	97.5	98.1	95.8	97.1	1.2
25.0	25.80	26.07	26.37	26.08	1.1	103.2	104.3	105.5	104.3	1.1
45.0	43.39	45.94	45.75	45.03	3.2	96.4	102.1	101.7	100.1	3.2
50.0	50.80	50.16	50.30	50.42	0.7	101.6	100.3	100.6	100.8	0.7

Tabla 37. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT01).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.55	0.49	0.53	0.52	6.4	109.9	97.1	106.7	104.5	6.4
1.0	1.03	1.03	1.03	1.03	0.0	103.0	103.0	103.0	103.0	0.0
5.0	5.20	5.28	5.16	5.21	1.1	103.9	105.5	103.3	104.3	1.1
25.0	26.21	26.22	26.06	26.16	0.3	104.8	104.9	104.2	104.7	0.3
45.0	45.65	45.60	45.29	45.51	0.4	101.4	101.3	100.7	101.1	0.4
50.0	50.45	50.66	50.33	50.48	0.3	100.9	101.3	100.7	101.0	0.3

Tabla 38. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Balantetic Tepancoapan (BT03).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.47	0.37	0.45	0.43	12.5	93.2	73.2	89.9	85.4	12.5
1.0	0.97	0.85	0.95	0.92	6.8	96.5	84.9	94.8	92.1	6.8
5.0	5.32	4.68	5.04	5.01	6.5	106.5	93.5	100.8	100.3	6.5
25.0	24.91	24.16	25.32	24.80	2.4	99.6	96.6	101.3	99.2	2.4
45.0	46.01	44.49	46.29	45.60	2.1	102.2	98.9	102.9	101.3	2.1
50.0	50.85	49.92	50.78	50.52	1.0	101.7	99.8	101.6	101.0	1.0

Tabla 39. Concentraciones y porcentajes de recuperación de paraquat en las disoluciones fortificadas de la laguna Bosque Azul (B07).

Concentración adicionada (mg/L)	Concentración recuperada (mg/L)				% CV	% Recuperación				% CV
	1	2	3	Promedio		1	2	3	Promedio	
0.5	0.41	0.39	0.39	0.40	2.4	82.2	78.9	78.9	80.0	2.4
1.0	0.93	0.81	0.96	0.90	8.7	92.7	81.1	96.0	89.9	8.7
5.0	4.77	5.04	4.92	4.91	2.7	95.4	100.7	98.4	98.2	2.7
25.0	25.87	26.43	26.58	26.30	1.4	103.5	105.7	106.3	105.2	1.4
45.0	46.18	46.55	46.40	46.38	0.4	102.6	103.4	103.1	103.1	0.4
50.0	50.79	50.86	50.91	50.85	0.1	101.6	101.7	101.8	101.7	0.1

En general, para todas las muestras fortificadas, los mayores porcentajes del coeficiente de variación corresponden a las disoluciones de menor concentración (0.1, 1.0 y 5.0 mg/L), debido al mayor error experimental cometido en su preparación a partir de dilución de la muestra más concentrada (5.0 mg/L).

Con respecto a los valores de los coeficientes de correlación (r), todos los valores obtenidos fueron mayores a 0.98, por lo cual también se cumple con el criterio de linealidad establecido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de

Cobertura (CCAyAC) de la Secretaría de Salud. Con el objetivo de confirmar esta aseveración, se realizó el análisis de pruebas de rachas sobre las gráficas de la concentración recuperada en función de la concentración adicionada, los resultados indican que para todas las muestras existe un comportamiento lineal, ya que todas ellas cumplen con el número de rachas necesarias para indicar que sus respectivos residuos son aleatorios (tabla 40).

Tabla 40. Resultados de las pruebas de rachas sobre el ajuste lineal de las gráficas de concentración determinada en función de la concentración adicionada de las lagunas de Montebello.

Muestra	Rachas	Mínimo aceptable	Máximo aceptable	Cumple
Y01	8	5	15	✓
V02	10	5	15	✓
S02	9	5	15	✓
S04	7	5	15	✓
S06	12	5	15	✓
S08	7	5	15	✓
S09	13	5	15	✓
BT01	7	5	15	✓
BT03	5	5	15	✓
B07	11	5	15	✓

Los límites permisibles que debe cumplir el agua para uso y consumo humano y los tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización se establecen en la NOM-127-SSA1-1994, en la cual se encuentran los límites permisibles para algunos plaguicidas, sin embargo, el valor para el paraquat (PQ) no se encuentra reportado [40].

Por otra parte, la norma NOM-014-CONAGUA-2003 define los requisitos para la recarga artificial de acuíferos con aguas residuales tratadas y dentro de los

contaminantes no regulados por norma está reportado el diquat (DQ) con un máximo nivel permisible de 0.02 mg/L (20 µg/L) en agua residual [41].

La dosis letal media DL_{50} para ratas vía oral del diquat es 400 mg/kg y la del paraquat es 155 mg/kg, por lo tanto, el paraquat (PQ) es relativamente más tóxico que el diquat (DQ), porque tiene una dosis letal media más baja con respecto a la del diquat. Lo cual se ve reflejado en los límites máximos de contaminantes (MCL) de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para el diquat y el paraquat en el agua potable que son 20 µg/L y 3 µg/L, respectivamente. La Unión Europea no ha regulado los niveles de estos herbicidas en el agua potable y continúa aplicando los valores de 0.1 µg/L para los pesticidas individuales y 0.5 µg/L para los pesticidas totales [4].

Debido a la falta de un valor del límite permisible para el paraquat reportado en la normatividad nacional y ya que el límite máximo de diquat en la NOM-014-CONAGUA-2003 coincide con el valor permitido por la EPA, es congruente utilizar el nivel permitido por la EPA para el paraquat.

Los valores del límite de detección (290 µg/L) y de cuantificación (440 µg/L) del método propuesto, se encuentran muy por debajo del nivel máximo permisible por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para paraquat en agua potable (3 µg/L) y por la directiva de la Unión Europea (0.1 µg/L); para que estos límites de detección y de cuantificación sean aplicables a estas normatividades debe combinarse con un método de preconcentración de la muestra, como es la extracción en fase sólida.

Cabe resaltar que las muestras estudiadas no son de agua potable, por lo que es lógico esperar una mayor concentración de contaminantes, debido a esto se considera que el límite de detección del método es útil para determinar la concentración de paraquat en aguas superficiales contaminadas. Es importante mencionar que los límites de detección se compararon contra los niveles de la EPA correspondientes a agua potable, a pesar de que las muestras de agua provienen de lagunas, debido a que las comunidades que habitan el parque utilizan esta agua para consumo humano.

5. CONCLUSIONES

- El método propuesto es lineal, exacto (preciso y veraz) por lo que es aplicable a muestras acuosas con niveles de concentración dentro del intervalo de 0.5 a 50 mg/L.
- Se determinaron las siguientes figuras de mérito: intervalo lineal (0.5–50) mg/L, sensibilidad (0.0602 ± 0.0005) $\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$, coeficiente de correlación $r=0.9997$, límite de detección 0.29 mg/L, límite de cuantificación 0.44 mg/L, precisión (% CV: 4.8 %) y veracidad (90.0 % - 103.2 %).
- Las muestras del Parque Nacional de Lagunas de Montebello no presentan interferencias debidas a la matriz ya que obtuvieron recobros dentro del intervalo comprendido entre el 70 % y 110 % de recuperación que establece la CCAyAC como criterio de aceptación.
- A pesar de que todos los parámetros de la validación cumplieron los criterios de aceptación, los límites de detección (290 $\mu\text{g}/\text{L}$) y de cuantificación (440 $\mu\text{g}/\text{L}$) se encuentran muy por encima de los niveles máximos de paraquat en agua potable permitidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (3 $\mu\text{g}/\text{L}$) y para herbicidas por la Directiva de la Unión Europea (0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$); para disminuir los valores del límite de detección y del límite de cuantificación es necesario desarrollar un tratamiento de preconcentración del analito, siendo la extracción en fase sólida una alternativa.
- Es conveniente ampliar el alcance del método a distintos tipos de muestras acuosas como lo son el agua residual, de manantial o de río; ya que en este tipo de matrices pueden existir interferencias que dificulten la aplicación del método, para lo cual se debe evaluar el efecto de la matriz por medio de los porcentajes de recobros en muestras fortificadas a distintos niveles de concentración.
- Aún falta confirmar la presencia de concentraciones de paraquat que excedan los valores permitidos por las actuales normatividades ambientales.

ANEXOS

Anexo 1a. Pruebas de hipótesis sobre la pendiente para el intervalo lineal

Hipótesis nula = H_0

Hipótesis alterna = H_1

Riesgo $\alpha = 0.05$

Grados de libertad $(n-2) = 36$

m (obtenida) = 0.0601

$H_0: m = 0$

$H_1: m \neq 0$

$t_{calculada} = 247.2880$ $t_{tabla} = 2.0281$

$t_{calculada} > t_{tabla}$ por lo que se rechaza H_0

Anexo 1b. Pruebas de hipótesis sobre la ordenada al origen para el intervalo lineal

Hipótesis nula = H_0

Hipótesis alterna = H_1

Riesgo $\alpha = 0.05$

Grados de libertad $(n-2) = 36$

b (obtenido) = 0.005

$H_0: b = 0$

$H_1: b \neq 0$

$t_{calculada} = 0.7979$

$t_{tabla} = 2.0322$

$t_{calculada} < t_{tabla}$ por lo que se acepta H_0

Anexo 2. Pruebas de hipótesis sobre la pendiente para la evaluación de la presencia del efecto matriz en cada una de las muestras de la laguna de Montebello

Riesgo $\alpha = 0.05$

Grados de libertad $(n-2) = 16$

$H_0: m = 1$

$t_{\text{tabla}} = 2.1199$

$H_1: m \neq 1$

Tabla 41. Resultados de las pruebas de hipótesis para confirmar la ausencia del efecto matriz en las muestras de las lagunas de Montebello.

Clave	Lugar	Pendiente m ($\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$)	Desviación estándar de la pendiente S_m	$t = (m-1)/s_m$	$t_{\text{tablas}} > t $	Aceptar
Y01	Laguna Yalmutz	1.0168	0.0057	2.9319	No	H_1
V02	Laguna Vuelta del agua	1.0174	0.0099	1.7532	Sí	H_0
S02	Laguna San Lorenzo	1.0113	0.0072	1.5699	Sí	H_0
S04		1.0172	0.0048	3.5797	No	H_1
S06		1.0005	0.0032	0.1618	Sí	H_0
S08		1.0348	0.0050	6.9840	No	H_1
S09		1.0094	0.0078	1.2168	Sí	H_0
BT01	Laguna Balantetic	1.0104	0.0042	2.5086	No	H_1
BT03	Tepancoapan	1.0125	0.0057	2.1923	No	H_1
B07	Laguna Bosque Azul	1.0272	0.0046	5.8551	No	H_1

REFERENCIAS

- [1] Dick, F. D. (2006). Parkinson's disease and pesticide exposures. *British Medical Bulletin*, 79, 219-231. doi: 10.1093/bmb/ldl018
- [2] Dawson, A. H., Eddleston, M., Senarathna, L., Mohamed, F., Gawarammana, I., Bowe, S. J., Manuweera, G. y Buckley, N. A. (2010). Acute Human Lethal Toxicity of Agricultural Pesticides: A Prospective Cohort Study. *PLoS Medicine*, 7 (10), 1-10. doi: 10.1371/journal.pmed.1000357
- [3] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Organización Mundial de la Salud FAO/OMS. (2015). *Comisión del Codex Alimentarius: Manual de procedimiento* (23^a ed.) Roma: Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Recuperado el 20 de marzo, de <http://www.fao.org/3/a-i4354s.pdf>
- [4] Aramendía, M. A., Borau, V., Lafont, F., Marinas, A., Marinas J. M., Moreno, J. M., Porrás, J. M. y Urbano, F. J. (2006). Determination of diquat and paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry (MRM). *Food Chemistry*, 97, 181-188. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.005
- [5] Kolberg, D. I. S., Mack, D., Anastassiades, M., Hetmanski M. T., Fussell, R. J., Meijer, T. y Mol, H. G. J. (2012). Development and independent laboratory validation of a simple method for the determination of paraquat and diquat in potato, cereals and pulses. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404, 2465-2474. doi: 10.1007/s00216-012-6340-9
- [6] Pateiro-Moure, M., Martínez-Carballo, E., Arias-Estévez, M. y Simal-Gándara, J. (2008). Determination of quaternary ammonium herbicides in soils Comparison of digestion, shaking and microwave-assisted extractions. *Journal of Chromatography A*, 1196–1197, 110-116. doi: 10.1016/j.chroma.2008.03.081
- [7] Watts, M. (2011). *Paraquat*. Penang, Malaysia: Pesticide Action Network Asia and the Pacific (PAN AP). Recuperado el 20 de marzo, de <http://wssroc.agron.ntu.edu.tw/note/Paraquat.pdf>
- [8] Luna, J. R., Di Bernardo, M. L., García, M. Y., Ovalles, F. y Calderón, L. (2008). Determinación de paraquat en orina utilizando un sistema de inyección de flujo continuo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42 (2), 251-259.
- [9] Lara Sandoval, A. E., García Colmenares, J. M. y Chaparro Acuña, S. P. (2015). Validación del método voltamétrico para la determinación de residuos de

paraquat aplicado en cultivos de papa. *Acta Agronómica*, 64 (4) 336-341. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n4.44521>

[10] Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., Perez-Lamela, C., Simal-Gándara, J. y Arias-Estévez, M. (2006). Simultaneous Determination of the Herbicides Diquat and Paraquat in Water. *Journal of Chromatographic Science*, 44, 539-542.

[11] Norma Oficial Mexicana NOM-010-STPS-1999. (7 diciembre 1999). Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral. Diario Oficial de la Federación.

[12] Llorent-Martínez, E. J., Ortega-Barrales, P., Fernández-de Córdova, M. L. y Ruiz-Medina, A. (2011). Trends in flow-based analytical methods applied to pesticide detection: A review. *Analytica Chimica Acta*, 684, 30–39. doi: 10.1016/j.aca.2010.10.036

[13] Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM -051-FITO-1995. (29 diciembre 1995). Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el manejo de plaguicidas agrícolas cuya adquisición y aplicación está sujeta a la recomendación escrita de un profesional fitosanitario. Diario Oficial de la Federación.

[14] Alatorre Eden Wynter, R. D. C., Gallága Solórzano, J. C., Conde Moo, P. D. C. y Rosales Castillo, J. A. (2016). *Catálogo de Plaguicidas*. México: CICOPLAFEST Recuperado el 14 de marzo, de 2018, de <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx>

[15] Maya, F., Estela, J. M. y Cerdá, V. (2011). Improved spectrophotometric determination of paraquat in drinking waters exploiting a Multisyringe liquid core waveguide system. *Talanta*, 85, 588-595. doi: 10.1016/j.talanta.2011.04.022

[16] Mallat, E., Barzen, C., Abuknesha, R., Gauglitz, G. y Barceló, D. (2001). Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection. *Analytica Chimica Acta*, 427, 165–171.

[17] O. Zamora Martínez. (2014). *Protocolo de trabajo: Determinación y cuantificación de paraquat en muestras acuosas*. (versión 3). Laboratorio de Cromatografía. Instituto de Geología.

[18] Carneiro, M. C., Puignou, L. y Galceran, M. T. (2000). Comparison of silica and porous graphitic carbon as solid-phase extraction materials for the analysis of

cationic herbicides in water by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*, 408, 263–269.

[19] Winnik, B., Barr, D. B., Thiruchelvam, M., Montesano, M. A., Richfield, E. K. y Buckley, B. (2009). Quantification of Paraquat, MPTP, and MPP+ in brain tissue using microwave-assisted solvent extraction (MASE) and high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 195–201. doi: 10.1007/s00216-009-2929-z

[20] Picó, Y., Fernández, M., Ruiz, M. J. y Font, G. (2007) Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. *Journal Biochemical Biophysical Methods*, 70, 117–131. doi: 10.1016/j.jbbm.2006.10.010

[21] Żwir-Ferenc, A. y Biziuk, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications: Review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15 (5), 677-690.

[22] Buszewski, B. y Szultka, M. (2012). Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42 (3), 198-213. doi: 10.1080/07373937.2011.645413

[23] D. Harvey. (2000). *Modern Analytical Chemistry*. Estados Unidos de América: McGraw Hill.

[24] Luque de Castro, M. D. y Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2383–2389. doi: 10.1016/j.chroma.2009.11.027

[25] Bélanger, J. M. R. y Paré, J. R. J. (2006). Applications of microwave-assisted processes (MAP™) to environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 1049–1058. doi:10.1007/s00216-006-0766-x

[26] Centro Nacional de Metrología (CENAM) y Entidad Mexicana de Acreditación (ema). (2008). *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible*. México: CENAM y ema.

[27] Christian, G. D. (2009). *Química Analítica*. (6ª ed.) México: McGrawHill.

[28] Harris, D. C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis*. (7ª ed.) New York: W. H. Freeman and Company.

[29] Skoog, D. A., Holler, F. J. y Crouch, S. R. (2008). *Principios de análisis instrumental* (6ª ed.) Ciudad de México: CENGAGE Learning.

- [30] Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. (1ª ed. española, 2ª ed. Inglesa). España: Eurachem.
- [31] Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAyAC). (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México: Secretaría de Salud.
- [32] Centro Nacional de Metrología (CENAM) y Entidad Mexicana de Acreditación (ema). (2008). *Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico*. México: CENAM y ema.
- [33] Oficina Internacional de Pesas y Medidas BIPM, Joint Committee for Guides in Metrology JCGM 200:2008. (2009). *Vocabulario Internacional de Metrología - Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM), Traducción al español del VIM-3ª*. (1ª ed. en español). México: CENAM.
- [34] Eurachem. (2005). *Métodos analíticos adecuados a su propósito: Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. Publicación técnica CNM-MRD-PT-030*. (2ª ed). Querétaro, México: CENAM.
- [35] Schmid, W. A. y Lazos Martínez, R. J. (2004) *Guía para estimar la incertidumbre de la medición*. Querétaro, México: CENAM.
- [36] González del Castillo, E. C. (9 de septiembre de 2003). *Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR)*. México: CONANP. Recuperado el 14 de marzo, de 2018 de <http://ramsar.conanp.gob.mx/sitios.php>.
- [37] Miller, J. N. y Miller, J. C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. (cuarta ed.). Madrid: Prentice Hall.
- [38] Bello González, K. (2016). *Determinación del plaguicida paraquat en muestras tomadas de las lagunas de Montebello, Chiapas*. (Tesis de licenciatura). UNAM, Ciudad de México.
- [39] Norma Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002. (12 julio 2005). Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo de agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo. Diario Oficial de la Federación.
- [40] Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. (30 noviembre 1995). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación.

[41] Norma Oficial Mexicana NOM-014-CONAGUA-2003. (28 noviembre 2008). Requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada. Diario Oficial de la Federación.

[42] Colin Segundo, A. (2017). *Desarrollo y validación de un método analítico para la preconcentración y cuantificación de paraquat en muestras de agua epicontinental*. (Tesis de maestría). UNAM, Ciudad de México.