



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**DETECCIÓN DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS AMBIENTALES  
MEDIANTE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
LIMNOLOGÍA

PRESENTA:  
**ERICK RICARDO HJORT COLUNGA**

**TUTORA PRINCIPAL:**  
DRA. MARISA MAZARI HIRIART  
LABORATORIO NACIONAL DE CIENCIAS DE LA SOSTENIBILIDAD

**COMITÉ TUTOR:**  
DRA. CLAUDIA PONCE DE LEÓN HILL  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DR. ROBERTO BONIFAZ ALFONZO  
INSTITUTO DE GEOFÍSICA  
DRA. MARÍA GADALUPE PONCE VÉLEZ  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
DR. FERNANDO GONZÁLEZ FARÍAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**ASESORA EXTERNA:**  
M. EN C. ELBA ROJAS ESCUDERO  
FACULTAD DE QUÍMICA

**CIUDAD UNIVERSITARIA CD. MX., ABRIL 2019**

---



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.



## **DETECCIÓN DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS AMBIENTALES MEDIANTE LA TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

### **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
LIMNOLOGÍA

PRESENTA:  
**ERICK RICARDO HJORT COLUNGA**

**TUTORA PRINCIPAL:**  
DRA. MARISA MAZARI HIRIART  
LABORATORIO NACIONAL DE CIENCIAS DE LA SOSTENIBILIDAD

**COMITÉ TUTOR:**  
DRA. CLAUDIA PONCE DE LEÓN HILL  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DR. ROBERTO BONIFAZ ALFONZO  
INSTITUTO DE GEOFÍSICA  
DRA. MARÍA GUADALUPE PONCE VÉLEZ  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
DR. FERNANDO GONZÁLEZ FARÍAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**ASESORA EXTERNA:**  
M. EN C. ELBA ROJAS ESCUDERO  
FACULTAD DE QUÍMICA

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., ABRIL 2019**

---

---

**EL PRESENTE TRABAJO FORMA PARTE DE LOS PROYECTOS:**

**Estudio Hidrológico y de Calidad del Agua del Sistema Lagunar de Montebello, Chiapas.**

**Fondo sectorial CONAGUA-CONACYT.**

**Número de proyecto: 167603.**

**Coordinador: Dr. Óscar A. Escolero Fuentes**

**Instituto de Geología**

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Vulnerabilidad Socio-Ambiental de Río Grande-Lagos de Montebello, Chiapas.**

**Proyecto PAPIIT**

**Clave del proyecto: IT200618**

**Responsable del proyecto: Dra. Marisa Mazari Hiriart**

**Instituto de Ecología**

**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

---

## **Agradecimientos:**

A la UNAM por brindarme la oportunidad de continuar mis estudios dentro de ella.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM.

Agradezco al Concejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme una beca de manutención de nivel maestría para realizar mis estudios.

Al Dr. Óscar Escolero, por su increíble disposición para aceptarme en el proyecto y por su paciencia.

A los miembros de mi comité, la Dra. Marisa Mazari por su disposición para hacerme entrar en esta área del conocimiento totalmente nueva para mí, por su motivación para perseguir nuevos logros en mi vida académica. Al Dr. Roberto Bonifaz por su paciencia y gentileza a lo largo de todo este proyecto. A la Dra. Claudia Ponce de León, la Dra. Guadalupe Ponce y el Dr. Fernando González por sus observaciones y su gran disposición para ayudarme en el desarrollo de este trabajo.

A mi asesora externa, la M. en C. Elba Rojas, por su ayuda y orientación en la parte analítica y experimental de este trabajo.

Al M. en C. Manuel Hernández y M. en C. Francisco Rojo por su amabilidad y por su guía por este difícil camino de la química analítica.

A todas las personas que me facilitaron el trabajo: M. en C. Gustavo Pérez, a la Dra. Ana C. Espinosa, a la Dra. Eloísa Domínguez y a la Arq. María del Rosario Bonifaz. A Jannice Alvarado, Patricia Pérez, Stephanie Espinosa, Abi Haro, Antonio Barajas y Elisa Hernández por su ayuda en campo. A Blanca Hernández, Karla Jiménez, Jorge Meza por su ayuda en la parte experimental de este trabajo.

---

---

---

---

## **Dedicatorias personales**

A mi mamá, a mi papá y a mi hermanita.

A toda mi familia.

A Ana, Blanca, Jannice, Patricia, Toño, Nallely, Omar, Shiara, Stephanie, Chucho y Vane, por su amistad y por los buenos momentos de risa que pasamos.

A mis amigos de la facultad por esos buenos ratos en su compañía, por ser una gran fuente de motivación, a mis maestros ciclistas aventureros de quienes he aprendido mucho, a mis amigos de toda la vida que siempre estarán y nunca faltarán.

A toda la gente bonita que me he ido encontrando en mi camino.

A todo aquel que dedique un tiempo a leer este trabajo.

---

---

# Detección de plaguicidas en muestras ambientales mediante la técnica de Cromatografía de Gases

## Resumen

En la actualidad es cada vez mayor el uso de cultivos mejorados y la aplicación de insumos agroindustriales con la finalidad de intensificar y aumentar la producción agrícola (Hoff, Zoonen y Rene, 1999). Entre los productos agroindustriales se encuentran los compuestos químicos catalogados como plaguicidas. De acuerdo con Pimentel y Levitan (1986), estos compuestos en concentraciones suficientes pueden alterar la estructura y función de los ecosistemas, ya que eliminan algunas especies o disminuyen sus poblaciones en forma significativa. Por lo cual es necesario realizar el monitoreo de la presencia de estos compuestos en diferentes matrices ambientales, como por ejemplo, el sedimento de ríos, incluso si estos se encuentran en concentraciones bajas. Resulta por lo tanto de gran importancia desarrollar métodos de extracción y análisis que tengan suficiente resolución para obtener datos cualitativos y cuantitativos de la presencia de plaguicidas en concentraciones de microgramos por gramo ( $\mu\text{g/g}$ ) o incluso en concentraciones de nanogramos por gramo ( $\text{ng/g}$ ).

En este trabajo se desarrolla y valida un protocolo de extracción de plaguicidas en sedimento automatizado, realizado por medio de la técnica de micro extracción en fase sólida por *headspace*, o *Headspace Solid Phase Micro Extraction* (HS-SPME, por sus siglas en inglés); en la cual los plaguicidas son llevados a la fase de vapor para evitar al mínimo las interferencias de la matriz ambiental. En la fase vapor los plaguicidas se adsorben a una matriz sólida y porosa que posee afinidad química por los compuestos a extraer. Se realizaron pruebas para determinar las condiciones óptimas de la extracción de los analitos usando un método de HS-SPME (Lambropoulou y Albanis, 2007; Mukherjee y Gopal, 1996; Ouyang y Pawliszyn, 2006). La extracción se realizó en forma automática por medio de un auto muestreador Agilent GC120 (Agilent Technologies, CA). La identificación y cuantificación de los plaguicidas se realizó por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (GC/MS-QQQ) Agilent 7010 (Agilent Technologies, CA), para este análisis se usó un método de monitoreo de reacción múltiple *Multiple Reaction Monitoring* (MRM, por sus siglas en inglés). Se realizaron comparaciones usando material de referencia y el análisis se puso a prueba con muestras ambientales obtenidas en la cuenca del río Grande de Comitán en el estado de Chiapas.

Se determinó el contenido de materia orgánica mediante la técnica de pérdida por ignición *Loss On Ignition* (LOI, por sus siglas en inglés) (Dean, 1974). Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de la correlación entre el porcentaje de materia orgánica y la presencia de plaguicidas, y se realizó un análisis espacio temporal de la distribución de los plaguicidas dentro de la cuenca del río Grande de Comitán durante el periodo 2014-2015, como sitio experimental.

Palabras clave: *Plaguicidas organoclorados, micro extracción en fase sólida, cromatografía de gases, monitoreo multi reacción, espacio de cabeza, HS-SPME, SPME, Headspace, río grande de Comitán.*

---

## Abstract

In the present time, the use of improved crops and the application of agroindustrial inputs are increasing in order to intensify the agricultural production (Hoff, Zoonen y Rene, 1999). Among the agroindustrial products are the chemical compounds cataloged as pesticides. According to Pimentel y Levitan (1986), these compound in sufficient concentrations can alter the structure and function of ecosystems, since they eliminate some key species or diminish their population in a significant way. Therefore, it is necessary to monitor the presence of these compounds in different environmental matrices, such as river sediment, even if they are found in low concentrations. It is of great importance to develop extraction and analysis methods that have sufficient resolution to obtain qualitative and quantitative data of the presence of pesticides in concentration of micrograms per gram ( $\mu\text{g/g}$ ) or even in concentrations of nanograms per gram ( $\text{ng/g}$ ).

In this work, an automated extraction protocol is developed and validated, carried out by the technique of Headspace Solid Micro Extraction (HS-SPME); in which the pesticides are taken into vapor phase to avoid to the minimum the interferences of the environmental matrix. In the vapor phase, the pesticides are adsorbed to a solid porous matrix that has chemical affinity for the compounds to be extracted. Test were carried out to determine the optimum conditions for the extraction of the analytes using an HS-SPME method (Lambropoulou y Albanis, 2007; Mukherjee y Gopal, 1996; Ouyang y Pawliszyn, 2006). The extraction was performed automatically by means of an Agilent GC120 autosampler (Agilent Technologies, CA), for this analysis, a Multiple Reaction Monitoring method was used. Comparisons were made using reference material and the analysis was tested with environmental samples obtained in the Rio Grande de Comitán basin in the state of Chiapas. The content of organic matter was determined by the Loss On Ignition technique (Dean, 1974). With the results obtained, an analysis of the correlation between the percentage of organic matter and the presence of pesticides was made; a temporal space analysis of the distribution of pesticides within the basin of the Rio Grande de Comitán basin was elaborated for the period 2014-2015, as an experimental site.

**Keywords:** *Organochlorine pesticides, solid phase micro extraction, gas chromatography, multi reaction monitoring, headspace, HS-SPME, SPME, Rio Grande de Comitán.*

---

## ÍNDICE GENERAL

<b>Capítulo 1. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Plaguicidas</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Plaguicidas organoclorados</b> .....	<b>1</b>
<b>1.3 Uso de plaguicidas</b> .....	<b>2</b>
1.3.1 Los plaguicidas en la producción agrícola .....	2
1.3.2 Los plaguicidas en la lucha contra vectores .....	2
1.3.3 Consecuencias ambientales del uso de plaguicidas .....	3
1.3.4 Uso de plaguicidas en México. ....	3
1.3.5 Marcos regulatorios nacionales .....	5
<b>1.4 Plaguicidas en el ambiente</b> .....	<b>7</b>
1.4.1 Plaguicidas en ambientes acuáticos .....	8
<b>1.5 Análisis de plaguicidas</b> .....	<b>8</b>
1.5.1 Análisis a nivel de trazas .....	8
1.5.2 Extracción de los analitos .....	8
<b>1.6 Micro extracción en fase sólida (SPME)</b> .....	<b>9</b>
1.6.1 Micro extracción en fase sólida por <i>Headspace</i> (HS-SPME).....	9
1.6.2 Optimización de la micro extracción .....	10
1.6.2.1 Tipo de fibra .....	11
1.6.2.2 Tiempo de extracción .....	12
1.6.2.3 Temperatura de extracción .....	12
1.6.2.4 Peso de la muestra .....	13
1.6.2.5 Agitación .....	14
<b>1.7 Análisis de plaguicidas por cromatografía de gases</b> .....	<b>14</b>
1.7.1 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas .....	14
1.7.2 Monitoreo de cribado.....	15
1.7.3 Monitoreo de reacción múltiple.....	16
<b>Capítulo 2. Área de estudio</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 Geografía y demografía</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2 Hidrología</b> .....	<b>19</b>
<b>2.3 Clima</b> .....	<b>19</b>
<b>2.4 Geología</b> .....	<b>19</b>
<b>Capítulo 3. Justificación y Objetivos</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1 Justificación</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Objetivo general</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3 Objetivos específicos</b> .....	<b>21</b>
<b>3.4 Contribución científica</b> .....	<b>22</b>
<b>Capítulo 4. Método</b> .....	<b>23</b>
<b>4.1 Muestreo</b> .....	<b>23</b>
4.1.1 Muestreo .....	23
<b>4.2 Material y reactivos</b> .....	<b>24</b>
4.2.1 Materiales.....	24
4.2.2 Reactivos.....	24
<b>4.3 Instrumentación</b> .....	<b>25</b>
4.3.1 Cromatógrafo de Gases/Espectrómetro de Masas GC/MS.....	25
4.3.2 Condiciones cromatográficas .....	25

---

4.3.3 Método <i>Multiple Reaction Monitoring</i> MRM.....	26
<b>4.4 Análisis de residuos de plaguicidas .....</b>	<b>28</b>
4.4.1 Soluciones de estándares de referencia.....	28
4.4.2 Liofilización de las muestras .....	28
<b>4.5 Optimización de la extracción por HS-SPME.....</b>	<b>28</b>
4.5.1 Tiempo y temperatura de extracción .....	30
4.5.2 Peso de la muestra .....	30
4.5.3 Agitación de la muestra.....	30
4.5.4 Análisis estadístico de la optimización .....	30
<b>4.6 Validación del método de análisis cuantitativo .....</b>	<b>31</b>
4.6.1 Especificidad .....	31
4.6.2 Linealidad.....	31
4.6.2.1 Construcción de curvas de calibración .....	31
4.6.3 Límite de detección .....	33
4.6.4 Límite de cuantificación.....	33
4.6.5 Precisión y repetibilidad .....	34
4.6.6 Recuperación o Exactitud .....	34
<b>4.7 Determinación del contenido de materia orgánica .....</b>	<b>34</b>
<b>4.8 Análisis estadístico de los resultados .....</b>	<b>35</b>
<b>4.9 Sistemas de Información Geográfica .....</b>	<b>35</b>
<b>Capítulo 5. Discusión de los resultados .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1 Desarrollo del método MRM .....</b>	<b>36</b>
5.1.1 Establecimiento del tiempo de retención .....	36
5.1.2 Optimización del método MRM .....	37
<b>5.2 Desarrollo del método de extracción por HS-SPME .....</b>	<b>38</b>
5.2.1 Temperatura y tiempo de extracción .....	38
5.2.2 Efecto del peso de la muestra. ....	40
5.2.3 Agitación de la muestra.....	41
5.2.4 Condiciones óptimas de extracción.....	41
5.2.5 Selección de elaboración de curvas de calibración .....	43
5.2.6 Establecimiento de los límites de detección y los límites de cuantificación. ....	44
5.2.7 Recuperación y repetibilidad.....	48
<b>5.3 Presencia de los plaguicidas organoclorados en sedimento .....</b>	<b>51</b>
<b>5.4 Contenido de materia orgánica y cantidad de plaguicidas.....</b>	<b>55</b>
<b>5.5 Costos.....</b>	<b>59</b>
<b>Capítulo 6. Conclusiones.....</b>	<b>61</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>63</b>
<b>Anexo I. Glosario .....</b>	<b>73</b>
<b>Anexo II. Tablas y figuras complementarias. ....</b>	<b>74</b>
<b>Anexo III. Tablas de resultados .....</b>	<b>81</b>

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUCTURA DE UNA MOLÉCULA DE POLIDIMETILSILOXANO (PDMS). .....	12
FIGURA 2. UBICACIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO Y UNIDADES GEOLÓGICAS EN LA CUENCA DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN, CHIAPAS .....	18
FIGURA 3. PRINCIPALES USOS DE SUELO DENTRO DE LA CUENCA DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN .....	20
FIGURA 4. DIAGRAMA DE FLUJO DE LOS EXPERIMENTOS EN LA OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE LA EXTRACCIÓN POR HS-SPME. ....	29
FIGURA 5. GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTES DE LA RESPUESTA OBTENIDA DE LA EXTRACCIÓN DE p,p'-DDE EN INTERVALOS DE TIEMPO Y CONDICIONES DE TEMPERATURA DIFERENTES. ....	38
FIGURA 6. GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTES DE LA RESPUESTA OBTENIDA DE LA EXTRACCIÓN DE p,p'-DDT EN INTERVALOS DE TIEMPO Y CONDICIONES DE TEMPERATURA DIFERENTES. ....	39
FIGURA 7. GRÁFICAS DE CAJA Y BIGOTES DE LA RESPUESTA OBTENIDA DE LA EXTRACCIÓN DE p,p'-DDD EN INTERVALOS DE TIEMPO Y CONDICIONES DE TEMPERATURA DIFERENTES. ....	39
FIGURA 8. RESPUESTA DE $\Sigma$ DDT Y SUS METABOLITOS EN CONDICIONES DE TIEMPO Y TEMPERATURA VARIABLES. ....	40
FIGURA 9. EFECTO DE LA EXTRACCIÓN DE p,p'-DDT CONFORME AUMENTA EL PESO DE LA MUESTRA. ....	41
FIGURA 10. EFICIENCIAS EN LA EXTRACCIÓN DE A-HCH .....	42
FIGURA 11. PRESENCIA DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS EN LA CUENCA DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN.....	54
FIGURA 12. UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO EN UN CORTE LONGITUDINAL DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN. ....	55
FIGURA 13. PORCENTAJE DEL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA DE LOS SEDIMENTOS EN LA CUENCA DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN. ....	56
FIGURA 14. CORRELACIÓN DE <i>SPEARMAN</i> ENTRE EL PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA Y LA CANTIDAD DE PLAGUICIDAS EN CADA MUESTRA. ....	57
FIGURA 15. EXTRACCIÓN DEL SURROGADO TCMX ADICIONADO A LAS MUESTRAS AMBIENTALES.....	58
FIGURA 16. CORRELACIÓN DE <i>SPEARMAN</i> ENTRE EL PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA Y LA CONCENTRACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE TCMX EN CADA MUESTRA.....	58
FIGURA 17. CORRELACIÓN DE <i>SPEARMAN</i> ENTRE EL PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA Y LA CONCENTRACIÓN DE EXTRACCIÓN DEL SURROGADO $\alpha$ -HCH-D6. ....	59
FIGURA 18. EFECTO DE LA CANTIDAD DE SEDIMENTO EN LA EXTRACCIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS POR UN MÉTODO DE SPME CON UNA TEMPERATURA DE 70°C Y UN TIEMPO DE 60 MINUTOS. ....	76
FIGURA 19. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS A DIFERENTES TEMPERATURAS CON PRESIONES DE VAPOR BAJAS.....	76
FIGURA 20. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS A DIFERENTES TEMPERATURAS CON PRESIONES DE VAPOR ALTAS.....	77
FIGURA 21. FORMACIÓN DE LOS METABOLITOS DEL ENDOSULFÁN I Y II .....	79

---

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CONVENIOS Y PROTOCOLOS INTERNACIONALES EN LOS QUE MÉXICO ES SIGNATARIO.....	4
TABLA 2. PLAGUICIDAS PROHIBIDOS O DE USO RESTRINGIDO EN MÉXICO.....	5
TABLA 3. LÍMITES PERMISIBLES DE PLAGUICIDAS DE ACUERDO CON LA NOM-127-SSA1-1994.....	6
TABLA 4. MARCOS REGULATORIOS NACIONALES.....	7
TABLA 5. CONDICIONES DE EXTRACCIÓN HS-SPME OBTENIDAS DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS PARA PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS.....	11
TABLA 6. PUNTOS DE EBULLICIÓN Y SOLUBILIDAD EN AGUA DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS.....	13
TABLA 7. UBICACIÓN DE LOS SITIOS DE MUESTREO EN LA CUENCA DEL RÍO GRANDE DE COMITÁN, CHIAPAS.....	24
TABLA 8. CONCENTRACIONES DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS EN SEDIMENTO DE REFERENCIA NEW YORK / NEW JERSEY WATERWAY 1944.....	25
TABLA 9. TIEMPOS DE RETENCIÓN Y TRANSICIONES DE IONES UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS.....	27
TABLA 10. CONDICIONES DE FLUJO DE COLUMNA Y TIEMPO DE RETENCIÓN OBTENIDO DEL COMPUESTO METOXICLORO, PARA FIJAR EL FLUJO DE COLUMNA.....	36
TABLA 11. ORDEN DE ELUCIÓN Y IONES PRINCIPALES PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LINDANO Y SUS ISÓMEROS.....	37
TABLA 12. COMPARACIÓN ENTRE LOS COEFICIENTES DE CORRELACIÓN OBTENIDOS EN UNA CURVA DE CALIBRACIÓN OBTENIDA MEDIANTE EL MODO DE INYECCIÓN LÍQUIDA Y EL MODO DE INYECCIÓN POR HS-SPME.....	44
TABLA 13. COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS PARA EL CÁLCULO DEL LÍMITE DE DETECCIÓN.....	46
TABLA 14. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN, INTERVALOS DE LINEALIDAD Y PRECISIÓN DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS.....	47
TABLA 15. CONCENTRACIONES DETECTADAS EN EL SEDIMENTO DE REFERENCIA CERTIFICADO NEW YORK/NEW JERSEY 1944.....	48
TABLA 16. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE RECUPERACIÓN.....	50
TABLA 17. COSTOS POR MUESTRA BAJO DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	60
TABLA 18. NORMAS OFICIALES MEXICANAS QUE INVOLUCRAN EL USO DE PLAGUICIDAS.....	74
TABLA 19. INTERVALOS DE CONCENTRACIONES USADOS PARA EVALUAR LA RECUPERACIÓN.....	75
TABLA 20. GUIAS INTERNACIONALES PARA EVALUAR LAS CONCENTRACIONES DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS EN SEDIMENTO SUPERFICIAL Y SUS PARA EVALUAR LOS EFECTOS SOBRE LA VIDA ACUÁTICA.....	80

---

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Plaguicidas

El término plaguicida se utiliza para denominar a todos los compuestos químicos que son creados y aplicados con el objetivo particular de controlar plagas; es decir todas las especies no deseadas que causen perjuicio o interfieran con la producción agropecuaria, forestal y de jardinería; incluidos también los vectores de enfermedades humanas y de animales (DOF, 2014; Ongley, 1997). En la agricultura se incluyen a los herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas y roenticidas, cuyo blanco primordial son malezas, insectos, hongos, nematodos y roedores respectivamente (Ongley, 1997; Pimentel y Levitan, 1986). Es importante señalar que no existe un criterio técnico por el cual definir un plaguicidas, asimismo, tampoco existe algún criterio en cuanto a su origen, efectividad o toxicidad, puesto que estas moléculas poseen estructuras químicas muy diversas con efectos toxicológicos a la vez muy diferentes, por lo tanto las definiciones pretenden englobar a este grupo de sustancias destinadas a un fin en particular, combatir organismos no deseados (Ortíz, Avila-Chávez, y Torres, 2013). Los plaguicidas pueden clasificarse de varias formas, de acuerdo a los usos a los que están destinados, de acuerdo al tipo de organismo que controlan, el modo en el cual actúan o por su composición química; siendo este el más apropiado para esta investigación. Los plaguicidas pueden agruparse en orgánicos, inorgánicos y biológicos (Dierksmeier, 2000). Los de tipo orgánico se dividen en organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Ortíz *et al.*, 2013). En el compendio de plaguicidas *The Pesticide Manual* (BCPC, 2014) se enlistan 1,436 compuestos y 2,600 subproductos cada uno con toxicologías específicas.

### 1.2 Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas organoclorados comprenden un grupo con estructuras muy heterogéneas, compuestas principalmente de carbono, hidrógeno y varios átomos de cloro por molécula (Mrema *et al.*, 2013). Esta familia de compuestos tiene su origen con la aparición del dicloro difenil tricloroetano (DDT), el cual fue sintetizado desde 1874 pero no fue patentado y usado como insecticida hasta 1939. Debido a la efectividad de este compuesto comenzó el desarrollo de nuevas estructuras activas, por ejemplo, con la aparición del hexaclorociclohexano (HCH) en 1941 y el toxafeno en 1947. Para el final de la década de los cincuenta, la familia de los plaguicidas organoclorados ya estaba completa (Dierksmeier, 2000). Los plaguicidas organoclorados son clasificados como Contaminantes Orgánicos Persistentes, *Persistent Organic Pollutants* (POPs, por sus siglas en inglés), y estos

---

compuestos comparten propiedades con los Bifenilos Policlorados *Polychlorinated Biphenyls* (PCBs, por sus siglas en inglés), las Dibenzo Paradioxinas Policloradas, *Polychlorinated Dibenzodioxins* (PCDDs, por sus siglas en inglés) y los Dibenzo Furanos Policlorados, *Polichlorinated Furans* (PCFs, por sus siglas en inglés). Estos compuestos tienen la característica de que una vez que son liberados al ambiente, resisten los procesos de degradación, física, química, biológica y fotoquímica, por lo que persisten en el mismo. El hecho de poseer varios átomos de cloro en su estructura les confiere una conformación persistente y una alta lipofiliidad. Por lo tanto, estos compuestos tienden a bioacumularse en los tejidos adiposos y los efectos a largo plazo que los plaguicidas organoclorados generan son aún un problema de salud pública. Los efectos típicamente asociados a este tipo de compuestos incluyen: cáncer, efectos negativos en la reproducción, anomalías neuroconductuales, toxicidad endócrina e inmunológica (Mrema *et al.*, 2013).

## **1.3 Uso de plaguicidas**

### **1.3.1 Los plaguicidas en la producción agrícola**

La aplicación de plaguicidas fue parte de las tecnologías que introdujo la Revolución Verde para lograr la industrialización de los procesos de producción agrícola. Desde entonces estos compuestos se han convertido en insumos indispensables para la agricultura moderna, logrando un incremento en el rendimiento de la producción agrícola y aumentando el número de cosechas de una, hasta dos, o incluso tres veces por año (Bernal *et al.*, 2012; Ecobichon, 2001). Por cada dólar que se invierte en el control de plagas se genera un beneficio de cuatro dólares por los cultivos que se han protegido (Pimentel *et al.*, 1991). Con el paso del tiempo los plaguicidas han demostrado su valor al incrementar la producción agrícola, pero también protegiendo áreas naturales de plagas y contribuyendo a mejorar la salud de la población a través del control de enfermedades transmitidas por vectores, como es el caso de la malaria (Herrera-Portugal *et al.*, 2005). El uso de plaguicidas adquiere particular importancia en los países en desarrollo, los cuales exportan productos agrícolas a países con climas más fríos y periodos de cultivo más cortos. Estos modelos de mercado han tenido como consecuencia que la agricultura en estos países presente una mayor dependencia en el uso de plaguicidas (Wilson y Tisdell, 2001).

### **1.3.2 Los plaguicidas en la lucha contra vectores**

Debido a su actividad insecticida, los plaguicidas organoclorados se han utilizado también para el control de vectores, como mosquitos, moscas, moluscos y arácnidos, los cuales portan y transmiten numerosas enfermedades como la malaria, el dengue, la esquistosomiasis, la tripanosomiasis, entre otras (Dierksmeier, 2000).

De las enfermedades mencionadas, a nivel mundial se calcularon 212 millones de casos de malaria en 2015, de los cuales 429 000 fueron casos mortales (OMS, 2016). Contra esta enfermedad y contra otras transmitidas por vectores, suele ser más efectivo proveer a un trabajador con una mochila aspersor y pocos kilogramos de insecticida, que un médico provisto de una gran cantidad de recursos (Dierksmeier, 2000).

---

### 1.3.3 Consecuencias ambientales del uso de plaguicidas

Es difícil determinar los efectos que tienen los plaguicidas sobre la vida silvestre, este tema adquirió relevancia desde la década de 1960, cuando Rachel Carson, hizo notar los efectos negativos que el uso indiscriminado de plaguicidas tiene sobre las comunidades naturales que habitan entorno a los terrenos de cultivo. El amplio uso de plaguicidas tiene también un elevado costo ambiental, son capaces de transferirse de una matriz a otra, por lo que sus residuos pueden depositarse en el suelo o ser arrastrados por la lluvia hasta llegar a cuerpos de agua, transferirse a los organismos acuáticos o infiltrarse a sistemas de agua subterránea y contaminar pozos de extracción. Entre los efectos ambientales que estos compuestos pueden producir, se incluyen daños a la salud humana por contacto o por bioacumulación en alimentos; daños a la biodiversidad como mortandad de aves, mamíferos e insectos, entre ellos los polinizadores; daños a las pesquerías; la resistencia de insectos a los insecticidas y una mayor patogenicidad a los cultivos (Pérez y Aguilar, 2012). Las tasas de mortalidad y morbilidad en humanos debido a la exposición a plaguicidas, principalmente entre los agricultores, han aumentado de la misma forma que la producción agrícola, lo cual conlleva a una paradoja, en la cual pese a los efectos nocivos a la salud asociada con el uso de plaguicidas entre los agricultores y sus familias. En un análisis costo beneficio su uso sigue siendo redituable, debido principalmente a la necesidad económica de los agricultores y las políticas públicas que favorecen el uso de este tipo de agroquímicos; ya que las externalidades negativas que provocan no son asumidas ni por los agricultores, ni por los que los comercializan, sino por otros sectores de la sociedad que enfrentan las enfermedades y el deterioro ambiental (Wilson y Tisdell, 2001).

### 1.3.4 Uso de plaguicidas en México.

El promedio anual de consumo de plaguicidas en México es de 35 mil toneladas; en el año 2009 México fue el país con el consumo más alto del mundo (Ortíz *et al.*, 2013). De acuerdo con la clasificación de la OMS de los plaguicidas en función de su toxicidad, en México 17% de las ventas son de categoría Ia-Ib, extremadamente tóxicos; 44% categoría II, muy tóxicos; 21% categoría III, ligeramente tóxicos y 18% categoría IV, ligeramente tóxicos (Muñoz Piña y Ávila Forcada, 2005). Por lo tanto 61% de las ventas corresponden a plaguicidas extremadamente tóxicos y muy tóxicos.

A pesar de que México es signatario de protocolos y convenios internacionales que regulan el uso y comercio de plaguicidas (Tabla 1), en el territorio nacional se siguen utilizando plaguicidas prohibidos o de uso restringido como el DDT. Ya que al igual que en otros países tropicales, este compuesto puede ser usado en campañas sanitarias para el control de vectores como el de la malaria (Bouwman, van den Berg, y Kylin, 2011). Existe también evidencia del sobreuso de plaguicidas además de la errónea combinación de sustancias por parte de los agricultores (Pérez y Aguilar, 2012).

Tabla 1. Convenios y protocolos internacionales en los que México es signatario.

<b>Año de inclusión</b>	<b>Marco regulatorio</b>	<b>Objetivo</b>
1987	Protocolo de Montreal	Sentó las bases de la reducción en el uso de clorofluorocarbonos (CFC), en 1990 se agregó el control de los plaguicidas, así como un fondo de asistencia técnica.
1989	Convenio de Basilea	Controlar los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos, brindar protección particular a los países en desarrollo.
1992	Agenda 21	Programas de prevención y reducción de riesgos en el manejo de los plaguicidas y de otras sustancias tóxicas.
2001	Convenio de Estocolmo	Mitigar la liberación de los compuestos orgánicos persistentes al ambiente, lograr un mismo nivel de protección a la salud humana y a los ecosistemas en todo el mundo. En 2004 el Fondo para el Medio Ambiente Mundial del Banco Mundial (GEF) otorgó a México una donación para que la Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas de la SEMARNAT elaborara un plan de implementación.
2002	Código Internacional de Conducta sobre Plaguicidas	Definir responsabilidades y establecer normas de conducta en los procesos de manejo, prueba y reducción de peligros para la salud. Sirve de referencia para países en desarrollo carentes de sus propias reglamentaciones y herramientas de control sobre plaguicidas.
2005	Convenio de Róterdam	Asegurar que los productos contengan la información necesaria en las etiquetas. Contribuir al uso racional y ambiental de los productos mediante el intercambio de información.

---

### 1.3.5 Marcos regulatorios nacionales

La regulación mexicana en torno al uso de plaguicidas existe desde el año de 1984 con la publicación de la Ley General de la Salud (DOF, 1984) y en 1988 con la creación de la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas Fertilizantes y Substancias Tóxicas (CICLOPAFEST), que en 1991 estableció el Catálogo Oficial de Plaguicidas (DOF, 1991) donde se reúnen los plaguicidas prohibidos y de uso restringido en México (Tabla 2).

Tabla 2. Plaguicidas prohibidos o de uso restringido en México (DOF, 1991).

Categoría	Compuestos
Prohibidos	Acetato o propionato de fenil mercurio, ácido 2, 4, 5-T, aldrín, cianofos, cloranil, DBCP, dialifor, dieldrín, dinitroamina, dinoseb, endrina, erbon, formotion, fluracetato de sodio, fumisel, kepone/clordecone, mirex, monuron, nitrofen, schradan, triamifos
Restringidos	Aldicarb, dicofol, endosulfán, forato, lindano, metoxicloro, mevinfos, paraquat, pentaclorofenol, quintoceno, DDT.

Por su alto riesgo para la salud humana, su elevada persistencia y su característica bioacumulación, los plaguicidas BHC y DDT sólo podrán ser utilizados por las dependencias del ejecutivo en campañas sanitarias.

En este marco jurídico se regula cada paso en el ciclo de vida de estos compuestos hasta su disposición final como residuos peligrosos. Sin embargo, el marco jurídico en México es complejo, presenta vacíos, inconsistencias y duplicidades. La única norma que establece límites permisibles en agua para plaguicidas es la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000), la cual contempla únicamente nueve plaguicidas organoclorados, sin embargo, su cumplimiento ha mostrado deficiencias debido a la escasez de personal encargado de los sistemas de inspección y vigilancia, la carencia de laboratorios para llevar a cabo la identificación y cuantificación de este tipo de compuestos, así como la falta de personal calificado para realizar este tipo de análisis (Bernal, Jara, y Zavala, 2012). La Secretaría de Salud (SSA) es una de las instituciones con el papel más relevante, ya que establece los lineamientos de control sanitario, el otorgamiento de permisos, establecimientos y productos que manejen plaguicidas, sus disposiciones en cuando a su clasificación, basada en su riesgo y su elaboración (Tabla 3).

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) se encarga de establecer los límites máximos de sus residuos, así como su efectividad biológica, participa junto con otras instancias en la expedición del registro de plaguicidas y fertilizantes (Bernal *et al.*, 2012). Sin embargo, en el país no existen normas que establezcan los límites máximos permisibles de estos compuestos en los ambientes naturales. Los principales marcos regulatorios nacionales se enlistan en la Tabla 4 y las Normas Oficiales Mexicanas, que involucran plaguicidas se encuentran en el Anexo II, Tabla 18.

Tabla 3. Límites permisibles de plaguicidas de acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994 (DOF, 2000).

<b>Compuesto</b>	<b>Límite permisible (µg/L)</b>
Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03
Clordano (total de isómeros)	0.2
DDT (total de isómeros)	1.0
Gamma-HCH (Lindano)	2.0
Hexaclorobenceno	1.0
Heptacloro y heptacloro epóxido	0.03
Metoxicloro	20.0
2, 4-D	30.0

Tabla 4. Marcos regulatorios nacionales.

Año de publicación	Título	Objetivo
1984 <sup>1</sup>	Ley General de la Salud	Registro de plaguicidas para uso en México, importación y exportación de productos, autorización para formulación de productos (licencias sanitarias), aviso de funcionamiento de comercializadoras de plaguicidas, autorización en publicidad de agroquímicos.
1988 <sup>2</sup>	Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente.	Medidas para evitar efectos adversos en los ecosistemas. La aplicación de plaguicidas y fertilizantes debe ser compatible con el equilibrio de los ecosistemas. Impone restricciones a la importación de plaguicidas. Registro de plaguicidas para uso en México, disposición final de residuos.
1994 <sup>3</sup>	Ley Federal de Sanidad Vegetal	Establece lineamientos para determinar los límites máximos de residuos de plaguicidas mediante el Plan Nacional de Residuos de Plaguicidas.
2001 <sup>4</sup>	Ley de Desarrollo Rural Sustentable	Acceso a insumos agrícolas, aumentar la eficiencia del trabajo humano.
2007 <sup>5</sup>	Ley de Federal de Sanidad Animal	Registro de plaguicidas para uso en animales, límites máximos de residuos en los mismos.
2015 <sup>6</sup>	Programa de Monitoreo de Residuos Tóxicos	Coordinado por SAGARPA, es un programa interinstitucional donde participan más de diez organismos federales para asegurar que los productos cumplan con los estándares nacionales e internacionales de calidad e inocuidad.

<sup>1</sup>DOF, 2017; <sup>2</sup>DOF, 2015; <sup>3</sup>DOF, 2011; <sup>4</sup>DOF, 2012a; <sup>5</sup>DOF, 2012; <sup>6</sup>SENASICA, 2016

## 1.4 Plaguicidas en el ambiente

La producción mundial de plaguicidas crece un 11% anual, por lo que se estima que a nivel mundial se aplican cerca de 5 millones de toneladas métricas de plaguicidas año con año. Lo que tiene como resultado cerca de 26 millones de casos de envenenamiento no letales ocasionados por plaguicidas, 200,000 muertes y cerca de 750,000 enfermedades crónicas cada año (F. Carvalho, 2017; Pimentel, 2005). La mayor parte de los efectos crónicos asociados al uso de plaguicidas incluyen efectos neurológicos, respiratorios, reproductivos y diversos tipos de cáncer.

Los plaguicidas pueden migrar de los terrenos de cultivo a los sistemas acuáticos subterráneos o superficiales de varias maneras, ya sea en disolución, asociados a sólidos suspendidos en el agua y asociados a la materia orgánica, por lo que es necesario detectar los plaguicidas que se encuentran en complejas asociaciones con el sedimento acarreado por los cuerpos de agua (Pérez y Aguilar, 2012).

---

### **1.4.1 Plaguicidas en ambientes acuáticos**

La aplicación de fertilizantes y plaguicidas ha degradado la calidad del agua de sistemas acuáticos superficiales y subterráneos. Se calcula que en Estados Unidos 9 Ton/ha de suelo agrícola con contenido de plaguicidas y fertilizantes entran a los ríos y lagos cada año (National Research Council, 2003), en este mismo país Gilliom *et al.*, (2006) encontró residuos de uno o más plaguicidas o sus metabolitos en 90% de las escorrentías en áreas agrícolas durante el periodo de 1992-2001. También se encontraron residuos de plaguicidas en sedimentos y en tejidos de peces en un 57% y un 90% de las veces en escorrentías ubicadas en áreas agrícolas, siendo principalmente DDT, DDE, DDD y dieldrín, los cuales habían estado prohibidos desde algunos años antes del estudio, demostrando así su persistencia en el ambiente (Gilliom *et al.*, 2006). Una vez que los plaguicidas ingresan a los ecosistemas acuáticos, estos pueden causar la muerte de los organismos como peces, ya sea por el envenenamiento a especies susceptibles o por la eliminación de su alimento como pueden ser insectos o invertebrados y por lo tanto disminuyen la pesca en el sitio (Pimentel y Burgess, 2014). Existen también reportes de la toxicidad en mamíferos y aves, sin embargo, es más difícil determinar los efectos en estas poblaciones debido a su alta movilidad, típicamente los estudios en campo llevados a cabo con estos grupos de animales se obtienen estimados muy bajos de su mortalidad (Mineau *et al.*, 1999; WHO, 2017).

## **1.5 Análisis de plaguicidas**

### **1.5.1 Análisis a nivel de trazas**

Debido a su persistencia e hidrofobicidad, los plaguicidas organoclorados suelen acumularse en el suelo y sedimento, donde pueden permanecer retenidos por varios años (WHO, 1997). Por lo que establecer técnicas que permitan la determinación y monitoreo de plaguicidas es importante para cuantificar los niveles de acumulación en el ambiente, además de los posibles efectos a la salud humana que puedan derivarse por su presencia (Ozcan, Tor y Aydin, 2009). Comúnmente estos compuestos se encuentran en concentraciones a nivel de traza, en niveles de partes por billón (ppb), que equivale a un nanogramo de plaguicidas por gramo de sedimento (ng/g). Determinar las concentraciones de plaguicidas en muestras ambientales de suelo y sedimento se vuelve un reto, debido a que existen sustancias presentes que pueden interferir en la determinación de plaguicidas. Por esta razón para llevar a cabo un análisis a nivel de trazas por cromatografía de gases o *Gas Chromatography* (GC por sus siglas en inglés), es necesario realizar un paso previo, que consiste en la extracción de los analitos.

### **1.5.2 Extracción de los analitos**

Para lograr la determinación de los plaguicidas organoclorados en sedimentos, éstos se deben extraer de la matriz ambiental en la que se encuentran, lo cual es difícil de lograr debido a las fuertes interacciones que existen entre los plaguicidas y los diferentes constituyentes de la

---

matriz (Zhang, *et al.*, 2011). Los plaguicidas pueden estar unidos a la materia orgánica a través de enlaces covalentes e interacciones hidrofóbicas (P. N. Carvalho *et al.*, 2008). La forma más común de extraer compuestos orgánicos en sedimento es la extracción en fase sólida *Solid Phase Extraction* (SPE, por sus siglas en inglés), la cual ha sido usada debido a que es más rápida y posee una mayor selectividad, no obstante, este método es relativamente caro y aún emplea de una cantidad considerable de disolventes. Para superar estos inconvenientes, las técnicas de extracción desarrolladas en los últimos años han consistido en simplificar, miniaturizar y automatizar los procesos; a la vez que disminuyen el tiempo y el consumo de disolventes orgánicos, obteniendo una mejor resolución en el análisis por GC y un límite de detección más bajo. Las técnicas miniaturizadas de extracción en fase sólida o *Solid Phase Micro Extraction* (SPME, por sus siglas en inglés) en dos variables: 1) inmersión directa *Direct Immersion* (DI, por sus siglas en inglés), 2) por *headspace* (HS, por sus siglas en inglés) (Doong y Liao, 2001; Hou, Shen y Lee, 2003; Lambropoulou, Konstantinou y Albanis, 2007). Debido a que se trabaja con sedimentos, el modo de extracción probado en este trabajo fue la micro extracción en fase sólida por análisis de compuestos volátiles en fase vapor (HS-SPME, por sus siglas en inglés).

## 1.6 Micro extracción en fase sólida (SPME)

La micro extracción en fase sólida o *Solid Phase Micro Extraction* (SPME), fue desarrollada en 1990 por Arthur y Pawliszyn. Esta técnica se basa en crear un equilibrio entre la concentración del analito contenido en la muestra y la concentración del analito adsorbido por una fibra de SPME (Arthur y Pawliszyn, 1990). La fibra de SPME consiste en un eje de sílice fundido recubierto con una fase estacionaria, una vez que la fibra se ha expuesto, los analitos adsorbidos en ésta, donde se concentran por procesos de adsorción/absorción, la extracción se considera completa, una vez que se haya alcanzado un equilibrio de distribución entre la fibra y los analitos, lo que significa que la concentración del analito se mantendrá constante independientemente de si incrementa el tiempo de extracción o la temperatura (Flores-Ramírez *et al.*, 2014). Los analitos son extraídos y concentrados en el recubrimiento de la fibra, para después desorberse térmicamente en el inyector del cromatógrafo de gases. Con este método se logra ahorrar tiempo en la preparación de la muestra, no es necesario el uso de aparatos complicados, se elimina el uso de disolventes y por lo tanto la producción de desechos líquidos (Dong, Zeng, y Yang, 2005; Herbert *et al.*, 2006). Los límites de detección pueden mejorar debido a la capacidad de concentración que posee esta técnica, por lo que la extracción por SPME es usada con regularidad en el análisis de compuestos orgánicos a niveles traza, en particular para la extracción de compuestos orgánicos volátiles o semivolátiles; polares o no polares (Arthur y Pawliszyn, 1990; Carvalho *et al.*, 2008; da Silva, Augusto y Poppi, 2007).

### 1.6.1 Micro extracción en fase sólida por *Headspace* (HS-SPME)

En el modo de extracción por *headspace* (HS-SPME), los analitos se volatilizan y abandonan la matriz en la que se encuentran para entrar en la fase vapor y así ser adsorbidos por la fibra. Este método de extracción es útil para extraer compuestos volátiles o semivolátiles de

---

matrices sólidas, el cual consiste en posicionar la fibra sobre la muestra dentro de un vial con cierre hermético sin que la fibra entre en contacto con la muestra (Dong *et al.*, 2005). Mediante la variante de esta técnica el efecto matriz disminuye drásticamente debido a que solo se extrae la fracción volátil, se alarga la vida de la fibra, además de que es posible integrar la extracción, la concentración y la introducción de la muestra al GC-MS en un proceso ininterrumpido y automatizado, lo cual la convierte en una técnica más rápida y con la capacidad de procesar una mayor cantidad de muestras en un mismo evento (Doong y Liao, 2001). Algunas desventajas de esta técnica son que la fibra de extracción, por sus dimensiones es frágil, su costo es relativamente elevado y debido a la gran cantidad de extracciones que pueden realizarse con la misma fibra, puede ocurrir contaminación cruzada (Dong *et al.*, 2005; Lambropoulou y Albanis, 2007; Picó *et al.*, 2007).

### **1.6.2 Optimización de la micro extracción**

Existen varios factores que controlan la adsorción y desorción de los analitos y por lo tanto la eficiencia de la extracción. Se evaluaron los parámetros que tienen mayor influencia en este proceso de acuerdo con los datos obtenidos en la revisión bibliográfica (Tabla 5), los cuales son: el tipo de fibra usado, el volumen de muestra, la agitación, el tiempo y la temperatura a la que será sometida la muestra durante la extracción. Las pruebas se realizaron al extraer directamente del sedimento de referencia certificado New York/New Jersey 1944 (NIST, 2011).

Tabla 5. Condiciones de extracción HS-SPME obtenidas de artículos científicos para plaguicidas organoclorados.

Analitos	Matriz	Tipo de fibra	Condiciones de extracción SPME	Detector	Recuperación	Precisión	LOD	Referencia
					[%]	[%]	[ng/g]	
8 OCP	Suelo	PDMS 100 $\mu$ m	Tiempo de extracción 60 min a 65°C, volumen de muestra 40 mL sin adición de NaCl	GC/MS-MS	8-51	14-36	0.02-3.6	(Herbert <i>et al.</i> , 2006)
10 OCP	Sedimentos	PDMS 100 $\mu$ m	Tiempo de extracción 50 min a 80°C, 250 rpm agitación, 10 mL volumen de muestra, 2 g de NaCl	GC/MS-MS		9-17	0.005-0.11	(P. N. Carvalho <i>et al.</i> , 2008)
18 OCP	Suelo	PDMS-DVB 65 $\mu$ m	Tiempo de extracción 60 min a 70°C, 900 rpm agitación	GC-ECD	68-127	3-11	0.06-0.65	(Doong y Liao, 2001)
9 OCP	Sangre	PDMS 100 $\mu$ m	Tiempo de extracción 30 min a 90°C, sin agitación ni adición de NaCl	GC/MS-MS	90-120	14	0.02-3	(Hernández <i>et al.</i> , 2002)
16 OCP	Té	PDMS 100 $\mu$ m	Tiempo de extracción 40 min a 90°C, adición de 5 g de NaCl	GC-ECD GC/MS-MS	39-94	11	0.081	(Cai <i>et al.</i> , 2003)
5 OCP	Suelo	PDMS 60 $\mu$ m	Tiempo de extracción 40 min a 25°C sin agitación ni adición de NaCl	HPLC-UVD		5-8	56-84	(Vega Moreno, Sosa Ferrera, y Santana Rodríguez, 2006)

### 1.6.2.1 Tipo de fibra

La fibra usada para este estudio posee un recubrimiento de una película polimérica que consiste en una combinación entre polidimetilsiloxano (PDMS) y divinilbenceno (DVB) con un grosor de fibra de 65  $\mu$ m (Gonçalves y Alpendurada, 2004). El PDMS es un polímero no polar y es el más usado en la extracción de plaguicidas debido a su versatilidad y durabilidad (Figura 1). Las fibras pueden diseñarse con una porosidad específica, la fibra PDMS-DVB 65  $\mu$ m, usada en los experimentos posee mesoporos, los cuales proporcionan una mayor superficie de reacción, este es un factor importante en la extracción, puesto que las fibras porosas son capaces de extraer mayor cantidad de analitos que las fibras no porosas (Paula Barros *et al.*, 2012). En la extracción por *headspace* los plaguicidas se unen a la fibra principalmente por adsorción, sin embargo, este es un proceso competitivo, donde existe un número limitado de sitios donde los analitos se pueden unir, por lo que algunos analitos con mayor afinidad por la fibra pueden desplazar a aquellos que poseen menor afinidad por la fibra (Pawliszyn, Pawliszyn y Pawliszyn, 1997).

---

El tiempo de extracción depende del equilibrio que se pueda lograr, primero: entre la fase vapor y la matriz ambiental; y segundo: entre la fase gaseosa y la fibra. El espesor de la fibra juega también un papel fundamental, puesto que a un mayor espesor de fibra le tomará más tiempo establecer un equilibrio entre la fase vapor y la fibra. Las fibras pueden reusarse entre 20 y 150 veces, dependiendo de la matriz con la que se está trabajando (Garrido Frenich y Martínez Vidal, 2006; Li, Li, y Jen, 2003).

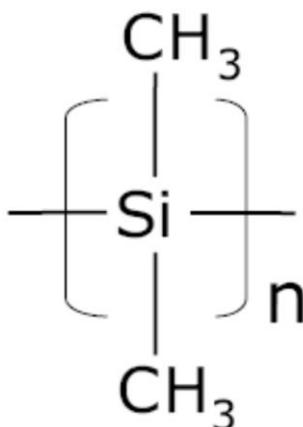


Figura 1. Estructura de una molécula de Polidimetilsiloxano (PDMS) (Pawliszyn *et al.*, 1997).

### 1.6.2.2 Tiempo de extracción

La eficiencia de extracción depende del equilibrio entre la muestra y la fibra de extracción, por lo que es necesario establecer las condiciones óptimas de tiempo, temperatura y agitación que permitan que los analitos lleguen de la forma más rápida a un equilibrio entre la muestra y el recubrimiento de la fibra y así llevar a cabo una extracción más eficiente. El tiempo de equilibrio se define como el tiempo después del cual la cantidad de analito extraído permanece constante y corresponde con los límites del error experimental (Abdulra'uf y Tan, 2015).

### 1.6.2.3 Temperatura de extracción

La temperatura tiene gran influencia en la extracción de los analitos, cuando el tiempo de equilibrio de los analitos y la fibra es excesivamente largo, un aumento en la temperatura tendrá como resultado una disminución considerable en el tiempo de extracción. Una mayor temperatura facilita la liberación de los analitos a la fase vapor, sin embargo, existe un efecto adverso, donde a temperaturas muy altas puede disminuir la cantidad de analitos que se extraen por adsorción debido a que aumenta la constante de distribución entre la fibra y la fase gaseosa (Kin, 2008). En la Tabla 6 se enlistan los puntos de ebullición encontrados para los plaguicidas analizados en este estudio.

Tabla 6. Puntos de ebullición y solubilidad en agua de los plaguicidas analizados (BCPC, 2014; Merck, 2001).

Compuesto	Punto de ebullición	Presión de vapor	Solubilidad en agua
$\alpha$ -HCH	288°C a 760 mm Hg	$9.4 \times 10^{-6}$ mm Hg a 20°C	1 mg/L
$\beta$ -HCH	288°C a 760 mm Hg	$9.4 \times 10^{-6}$ mm Hg a 20°C	0.1 mg/L
$\gamma$ -HCH	323.4°C a 750 mm Hg	$9.4 \times 10^{-6}$ mm Hg a 20°C	8 mg/L
$\Delta$ -HCH	323.4°C a 760 mm Hg	$9.4 \times 10^{-6}$ mm Hg a 20°C	6.5 mg/L
Heptacloro	145°C	$3 \times 10^{-4}$ mm Hg a 25°C	0.056 mg/L a 25°C
Aldrín	104 °C	$7.5 \times 10^{-5}$ mm Hg a 20°C	0.011 mg/L a 20°C
Epóxido de heptacloro			0.275 mg/L a 25°C
Endosulfán I	106°C a 0.7 mm Hg	$1.7 \times 10^{-7}$ mm Hg a 25°C	0.53 mg/L a 25°C
p, p'-DDE	316°C a 760 mm HgC	$6 \times 10^{-6}$ mm Hg a 25°C	0.12 mg/L
Dieldrín	$416 \pm 45^\circ\text{C}$ a 760 mm Hg*	$3.1 \times 10^{-6}$ mm Hg a 20°C	0.11 mg/mL
Endrina	$416 \pm 45^\circ\text{C}$ a 760 mm Hg*	$2 \times 10^{-7}$ mm Hg a 25°C	200 $\mu\text{g/L}$ a 25°C
Endosulfán II	$449 \pm 45^\circ\text{C}$ a 760 mm Hg*	$0.0 \pm 1.1$ mm Hg a 25°C	0.28 mg/L a 25°C
p,p'-DDD	193°C a 1 mm Hg	$1.35 \times 10^{-6}$ mm Hg a 25°C	0.09 mg/L
Aldehído de endrina	$435 \pm 45^\circ\text{C}$ a 760 mm Hg*	$2 \times 10^{-7}$ mm Hg a 25°C	0.25 mg/L
Sulfato de endosulfán	$480 \pm 45^\circ\text{C}$ a 760 mm Hg*	$1 \times 10^{-11}$ mm Hg a 25°C	0.22 mg/L a 22°C
p,p'-DDT	186°C a 0.1 mm Hg	$1.6 \times 10^{-7}$ mm Hg a 20°C	0.025 mg/L
Metoxicloro	346 °C	$4.2 \times 10^{-5}$ mm Hg a 25°C	0.045 mg/L

#### 1.6.2.4 Peso de la muestra

La extracción por HS-SPME depende del número de moles del analito que están presentes en la muestra, por lo tanto, entre mayor sea el peso de la muestra mayor el número de moles de analito que pueden entrar en fase vapor. Sin embargo, no existe suficiente información sobre si la extracción tiene una relación directamente proporcional a la cantidad de analito que se encuentra presente en la muestra, debido a que existe una serie de variables que puede intervenir en la eficiencia de la extracción, por ejemplo: la magnitud de la convección que se da dentro del vial de extracción, la agitación, la forma y capacidad del vial. Por ejemplo, Tsutsumi, Sakamoto y Kataoka, (1997) obtuvieron condiciones óptimas de extracción en muestras con volúmenes pequeños en viales proporcionalmente pequeños, lo cual nos habla

---

de que esta variable no puede ser siempre lineal, ni proporcional al volumen de muestra.

#### **1.6.2.5 Agitación**

El tiempo de equilibrio depende también del transporte de masa que ocurre entre la muestra, la fase de vapor y la fibra. Con velocidades de agitación altas se puede establecer más rápidamente un equilibrio entre la muestra y la fase gaseosa; sin embargo, si no se tiene buen control de la velocidad de agitación, las condiciones de extracción se modifican entre cada muestra y por lo tanto la reproducibilidad del método se verá afectada (Pawliszyn *et al.*, 1997).

La agitación por vortex/vial en movimiento, consiste en que el vial que contiene el sedimento o extracto se mueve de forma circular durante la extracción para lograr la agitación de la muestra. Algunas ventajas de esta técnica es que muestra buena reproducibilidad, sin embargo, algunos inconvenientes de esta forma de agitación son que puede existir fatiga en la aguja de la fibra o en la fibra misma, debido a que el vial se encuentra en movimiento con respecto a la fibra durante la extracción (Kin, 2008; Pawliszyn *et al.*, 1997).

### **1.7 Análisis de plaguicidas por cromatografía de gases**

Desde la aparición de la cromatografía de gases en la década de los cincuentas, se han realizado importantes avances en términos de selectividad y mejoras de los límites de detección para el estudio de los residuos de plaguicidas. Con el desarrollo de detectores cada vez más selectivos para el análisis de trazas, como fue el Detector de Captura de Electrones (ECD, por sus siglas en inglés) en la década de 1960, para la detección de plaguicidas halogenados; y la del Detector Fósforo Nitrógeno (NPD, por sus siglas en inglés), se logró obtener una mayor sensibilidad y selectividad para la detección de compuestos organofosforados y organoclorados (Hoff *et al.*, 1999).

#### **1.7.1 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas**

La implementación de un detector por Espectrometría de Masas (MS) en el análisis por Cromatografía de Gases (GC) fue difícil de lograr debido a que inicialmente era imposible realizar el acoplamiento de una columna empacada de cromatografía (que poseía un alto flujo de gas), con la cámara de ionización de un Espectrómetro de Masas, la cual requiere de un alto vacío ( $10^{-6}$  torr, aproximadamente). La detección por espectrometría de masas solo fue posible hasta la década de 1980 con la aparición de las columnas capilares para cromatografía, las cuales poseen un menor flujo de gas (menor a 20 mL/min) de modo que el volumen de gas que entra a la cámara de ionización es mínimo (Dierksmeier, 2000; Hoff *et al.*, 1999). Recientemente se han desarrollado sofisticadas técnicas de cromatografía acoplada a espectrometría de masas, en las cuales para la detección de los analitos se acoplan dos espectrómetros de masas unidos en serie para conformar lo que se conoce como un cromatógrafo de gases triple cuadrupolo (GC/MS-MS o GC/MS-QQQ). Estos instrumentos han permitido el análisis simultáneo de hasta 100 plaguicidas y sus metabolitos en niveles traza

---

(Ahmed, 2001).

La cromatografía de gases emplea diferencias en las propiedades químicas entre diferentes compuestos de una mezcla para separar cada uno por medio de una columna cromatográfica. A cada analito le lleva una cantidad específica de tiempo atravesar la columna (tiempo de retención), el cual es siempre constante independientemente de cuantos compuestos eluyan antes o después de él. El espectrómetro de masas para funcionar adecuadamente requiere de una muestra muy pura de la molécula a analizar. El espectrómetro funciona rompiendo cada molécula en fragmentos ionizados para detectarlos debido a su relación masa/carga ( $m/z$ ); cada molécula posee un patrón de fragmentación específico el cual es analizado para lograr una confirmación del compuesto. El análisis por cromatografía de gases puede complicarse cuando a dos moléculas diferentes les toma la misma cantidad de tiempo en atravesar por la columna (mismo tiempo de retención). Sin embargo, al analizarlo por espectrometría de masas, estas moléculas pueden tener un patrón de ionización diferente. Al combinar estos dos procesos se vuelve extremadamente difícil que dos moléculas de naturaleza diferente se comporten de la misma forma, tanto en la separación por cromatografía de gases, como en la detección por espectrometría de masas (Kin, 2008).

### **1.7.2 Monitoreo de cribado**

Entre los métodos de monitoreo que se pueden realizar con un GC/MS-QQQ, se encuentran los métodos de cribado, comúnmente llamados en inglés métodos de *Screening*. Con este tipo de métodos se puede obtener información sobre el tiempo de retención, la relación masa/carga y la abundancia de los iones de un compuesto. La confirmación de la presencia de un compuesto se consigue cuando se obtiene su espectro de masas “completo”, es decir la presencia y abundancia de todos sus iones desde la  $m/z$  50, hasta más allá de la  $m/z$  de sus iones moleculares (típicamente para plaguicidas organoclorados de 480  $m/z$ ). Este tipo de monitoreo no es selectivo, por lo que se debe tener especial cuidado en analizar la abundancia relativa de los iones principales del espectro, además de que se deben sustraer las señales de interferencia de fondo comúnmente causadas por pérdidas en la columna o componentes de la matriz (CCPR, 2010). Los resultados obtenidos se comparan con los espectros obtenidos de bibliotecas espectrales, las cuales contienen espectros de más de 250,000 compuestos y que son comparados para obtener un factor de coincidencia, con el cual se evalúan las semejanzas entre los espectros, para así obtener un análisis cualitativo de los compuestos presentes en la muestra. Para este tipo de monitoreo, generalmente se utiliza la herramienta AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution & Identification System*) la cual lleva a cabo un proceso llamado deconvolución cromatográfica. Esta herramienta posee un algoritmo con la capacidad de identificar los iones, agruparlos como un compuesto y purificar el espectro de cada compuesto para poder analizarlo y compararlo con las bibliotecas existentes. Por medio de estas herramientas, el análisis realizado en este trabajo no se restringe únicamente a los plaguicidas organoclorados, sino que es posible encontrar una variedad de compuestos que puedan resultar de interés en el sitio.

---

### 1.7.3 Monitoreo de reacción múltiple

Entre ellos se encuentran los métodos multiresiduo, se encuentran el *Single Reaction Monitoring* (SRM, por sus siglas en inglés) y el *Multiple Reaction Monitoring* (MRM, por sus siglas en inglés), estos métodos son de gran especificidad, poseen la capacidad de determinar confirmar y cuantificar diferentes residuos de plaguicidas en un mismo análisis. Existen algunas desventajas en el análisis de trazas por métodos multiresiduo como el MRM. Entre ellas se puede enumerar, su ineficiencia como métodos de cribado, es decir, como métodos exploratorios de la prevalencia de distintos analitos, además de que son métodos muy complejos y no permiten la generación de resultados en periodos cortos de tiempo (Gonçalves y Alpendurada, 2004).

En un análisis MRM por GC/MS-QQQ, cada plaguicida es analizado bajo un conjunto de parámetros específicos. El tiempo de retención (TR) obtenido por el GC será el primer parámetro en permitir la determinación de la identidad de un compuesto. En el siguiente paso, la columna cromatográfica desemboca directamente en la fuente del espectrómetro de masas, la fuente por medio de un filamento de tungsteno, en un proceso denominado impacto electrónico (EI), fragmenta las moléculas que eluyen por la columna y dirige los iones resultantes hacia los cuadrupolos. El MS-QQQ posee en realidad dos cuadrupolos: el cuadrupolo 1 (MS1) y el cuadrupolo 2 (MS2), la celda de colisión se ubica entre el MS1 y el MS2, y se considera también un cuadrupolo, sin embargo, esta tiene la función de fragmentar los iones seleccionados por el MS1. Dentro de la celda de colisión, los iones se someten a diferentes energías de colisión (CE, por sus siglas en inglés), en un proceso denominado disociación inducida por colisión (CID, por sus siglas en inglés) para obtener iones producto, que son seleccionados por el MS2 y llevados al detector (Ospina, Powell y Yost, 2003). Al proceso en el cual un ion precursor es seleccionado por el MS1, fragmentado en la celda de colisión a una determinada energía de colisión y cuyos iones producto son seleccionados por el MS2, para ser llevados al detector se le conoce como transición. Se recabó la información sobre las transiciones de cada compuesto y se seleccionaron aquellas con mayor abundancia para llevar a cabo la cuantificación del compuesto (ion cuantificador Q0), las demás transiciones seleccionadas se utilizaron para confirmar la identidad del compuesto (iones calificadores Q1, Q2 y Q3).

---

## CAPÍTULO 2. ÁREA DE ESTUDIO

La cuenca del río Grande de Comitán se localiza en la región sur-sureste del estado de Chiapas, en la frontera con Guatemala. Esta constituye una de las reservas forestales más importantes del estado (Figura 2). En el estado de Chiapas el sector primario tiene un valor equivalente al 4.96% del producto Interno Bruto Nacional, el cual ubica al estado en el séptimo lugar a nivel nacional como mayor productor agrícola (INEGI, 2010). Según las estimaciones realizadas con los mapas de uso de suelo en la cuenca del río Grande de Comitán, las actividades agrícolas son la principal actividad productiva de la región, los terrenos de cultivo abarcan cerca del 33% de la superficie total de la cuenca, en la cual se identifican dos tipos principales de agricultura, la de temporal y la de riego, ocupando un 24.8% y un 7.9% respectivamente del total de la cuenca (Figura 3) (Alvarado Velázquez, 2015; INEGI, 2015a).

En esta cuenca la geología es de gran relevancia debido a que corresponde a un ambiente kárstico, lo que propicia una mayor infiltración de agua al sistema de acuíferos locales y regionales, así como la cercanía del sitio a los Lagos de Montebello, lugar donde el río Grande desemboca, mismo que forma parte del Parque Nacional Lagunas de Montebello, que es considerado sitio RAMSAR (1325), y de gran importancia para el desarrollo económico y cultural del estado de Chiapas (CFE, 2012; CONANP, 2007).

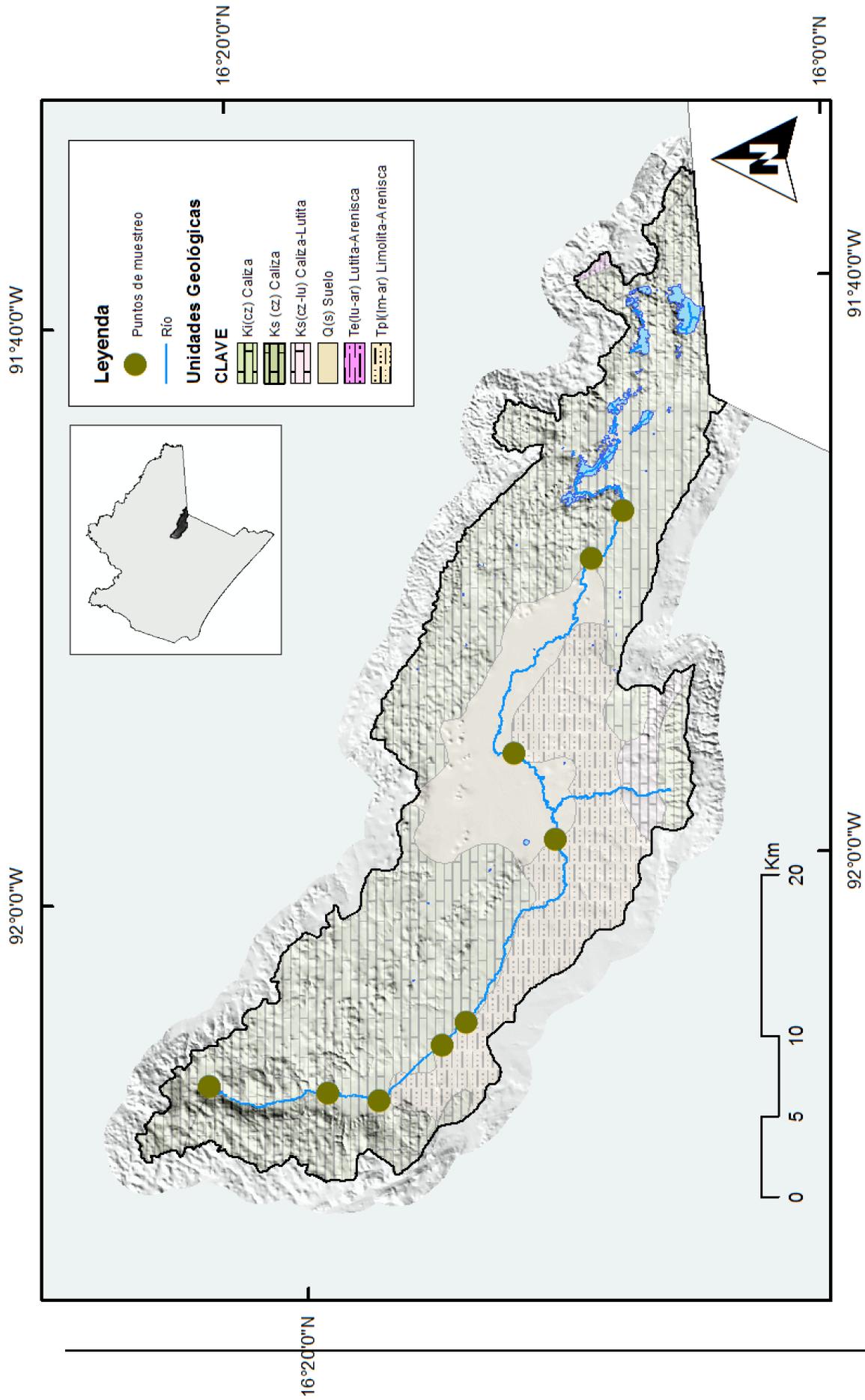


Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo y unidades geológicas en la cuenca del río Grande de Comitán, Chiapas. (Elaborado con información vectorial INEGI, 2015a, 2015b).

---

## 2.1 Geografía y demografía

La cuenca, comprende los municipios de La Independencia, La Trinitaria, Comitán de Domínguez y Las Margaritas. El centro urbano más importante dentro de esta cuenca es la ciudad de Comitán, con aproximadamente 141,000 habitantes, aunque existen gran cantidad de localidades esparcidas a lo largo de la cuenca (INEGI, 2010).

La cuenca del río Grande de Comitán (CRGC) (Figura 2) presenta una superficie calculada en 810 km<sup>2</sup>, y está en una altitud promedio de 1,500 msnm.

## 2.2 Hidrología

El área de estudio se encuentra dentro de la Región Hidrológica No. 30 Grijalva-Usumacinta. Forma parte de la cuenca del río Lacantún (INEGI, 2015b).

## 2.3 Clima

Presenta un clima que va desde templado húmedo a subhúmedo con lluvias todo el año a semicálido húmedo a sub-húmedo con abundantes lluvias en verano, con temperatura media anual de 22°C. La precipitación total anual es de 1,800 mm, con precipitaciones medias mensuales superiores a los 100 mm, con máximas en los meses de junio y septiembre (CFE, 2012; CONANP, 2007).

## 2.4 Geología

De acuerdo con Campa y Coney (1983), el área de estudio se encuentra estructuralmente dentro del Bloque Maya, en la región conocida como el Cinturón Plegado de Chiapas, en la provincia de Fallas de Transcurrencia (Campa y Coney, 1983; Sánchez-Montes de Oca, 1979). El registro estratigráfico que aflora en la zona es principalmente de tipo sedimentario conformado por el grupo Caliza Sierra Madre, constituido principalmente por calizas, lutitas, con diferentes grados de karstificación, además de que existe la evidencia de la existencia de un gran lago en esta cuenca, por lo que existen afloramientos de limolitas y una pequeña proporción de areniscas. Dentro de la cuenca se pueden encontrar desde pequeños sumideros hasta grandes fosas con perfiles cóncavos de fondo agudo o semiplano. Existen también grandes grutas y oquedales de variadas formas y tamaños, lomeríos de poca altura con laderas de inclinación variable que pueden formar paredes abruptas (Durán Calderón, 2013).

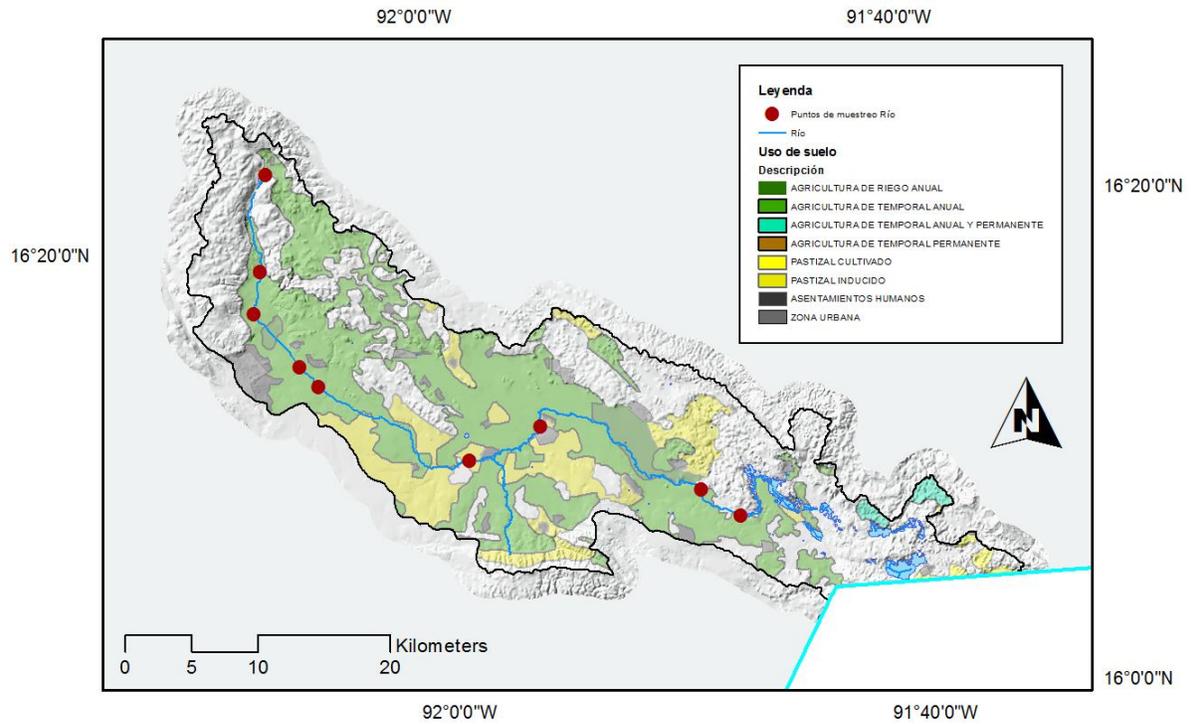


Figura 3. Principales usos de suelo dentro de la cuenca del río Grande de Comitán. (Elaborado con información vectorial INEGI, 2015a, 2015b)

---

## **CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

### **3.1 Justificación**

De acuerdo con Schreinemachers y Tipraqsa (2012) México se encuentra entre los 20 países con mayor uso de plaguicidas por área de cultivo a nivel mundial, además de ubicarse entre los diez países a nivel mundial con mayor crecimiento en el uso de plaguicidas por área de cultivo. En México las regulaciones impuestas sobre la limitación en el uso de plaguicidas prohibidos pocas veces se ven reflejadas en lo que sucede en la realidad de los terrenos agrícolas. Chiapas ocupa el quinto lugar en cuanto al número de casos de intoxicación por plaguicidas, teniendo 6.73 casos por cada 10,000 habitantes (Ortíz *et al.*, 2013). En el estado de Chiapas existen reportes sobre la aplicación de plaguicidas prohibidos en México de acuerdo con la lista de plaguicidas prohibidos (DOF, 1991), muchos de los cuales son adquiridos por los agricultores en la frontera con Guatemala (Alegria, Bidleman y Figueroa, 2006).

Por lo tanto, es necesario desarrollar investigación que provea de información cualitativa y cuantitativa sobre la presencia, comportamiento y destino tanto de los plaguicidas como de sus metabolitos, para lo cual es necesario el desarrollo de técnicas que permitan una forma simple y eficaz el estudio de los plaguicidas en matrices ambientales, para entender con mayor detalle los costos ambientales y los beneficios que existen en torno al uso de estos.

### **3.2 Objetivo general**

Determinar las concentraciones de plaguicidas organoclorados en muestras de sedimentos y analizar su distribución espacio-temporal en la cuenca del río Grande de Comitán, Chiapas.

### **3.3 Objetivos específicos**

Desarrollar y adaptar protocolos de extracción de plaguicidas mediante la técnica de HS-SPME en matrices de sedimento provenientes de la cuenca del río Grande de Comitán.

Determinar cualitativa y cuantitativamente la presencia de plaguicidas mediante la creación de un método MRM analizado por un GC/MS-QQQ.

Determinar el contenido de materia orgánica mediante la técnica de LOI en sedimentos de la cuenca del río Grande de Comitán.

---

Integrar los resultados obtenidos en información vectorial espacio-temporal de la distribución de plaguicidas dentro de la cuenca del río Grande de Comitán.

### **3.4 Contribución científica**

En este trabajo se desarrolló una variante nueva para la extracción de plaguicidas organoclorados en sedimento por HS-SPME. Durante el proceso de revisión bibliográfica no se tuvo conocimiento sobre un método de extracción de plaguicidas organoclorados o de compuestos orgánicos similares que incorpore los mismos pasos realizados en este trabajo. En particular, resulta importante la incorporación del proceso de liofilización, este proceso retira el agua de la muestra por medio de vacío a una temperatura inferior a los  $-40^{\circ}\text{C}$ , esta técnica fue descrita para el análisis de sedimentos por Alcántara (2013), para un método de extracción asistida por microondas (MAE). En la mayoría de los métodos revisados para la extracción de compuestos orgánicos en matrices sólidas por HS-SPME, las muestras pueden ser o no desecadas y en la mayoría de los casos son sometidas a una extracción inicial que transfiere los analitos a una matriz líquida, donde se llevan a cabo una serie de pasos para purificar y evaporar el exceso de disolvente, para finalmente extraer los analitos por *Headspace*. En este trabajo, debido a que la muestra se ha desecado por completo por medio de una liofilización, es posible realizar una extracción directa de los compuestos semi volátiles calentando el sedimento y adsorbiendo a este a la fibra PDMS/DVB, eliminado así la transferencia de los analitos a una matriz líquida y con ello una serie de pasos que implican un mayor consumo de disolventes y una mayor manipulación de la muestra. La configuración de estos procesos en este trabajo ofrece una alternativa rápida, sencilla y de bajo costo para el análisis de compuestos volátiles y semi volátiles, que también se puede probar en otras matrices sólidas.

Este trabajo también aporta conocimientos sobre la concentración de plaguicidas en sedimentos dentro de la cuenca del río Grande de Comitán, así como su relación con el contenido de materia orgánica y los efectos ambientales asociados a este proceso.

---

## CAPÍTULO 4. MÉTODO

### 4.1 Muestreo

Se realizaron tres campañas de muestreo en el periodo comprendido entre agosto de 2014 y octubre de 2015, llevándose a cabo durante las temporadas cálida-lluvias (4MB), cálida-secas (5MB) y cálida-lluvias (6MB), cubriendo así un ciclo anual. Cada campaña de muestreo estuvo conformada por nueve puntos de muestreo geoposicionados utilizando un GPS (Garmin, GPS map60CSx) (Tabla 7). Por cada sitio se obtuvieron muestras por triplicado de sedimentos del río Grande de Comitán.

Los sitios seleccionados en el río Grande de Comitán (Figura 2), denominados con el prefijo “MB-R” (abreviación de “Montebello Río”), se ubicaron desde su nacimiento en el lago de Juznajib (MB-R0) pasando en su trayectoria por zonas con pocas actividades agrícolas y bosque de galería (MB-R7, MB-R1 y MB-R2); así como zonas urbanas y la influencia de las descargas de aguas residuales provenientes de la ciudad de Comitán (MB-R3); zonas con la presencia de cultivos agrícolas en la parte media y baja del río (MB-R6, MB-R4 y MB-R5); hasta llegar a su desembocadura en la laguna de Balantetik (MB-L1), lugar donde inicia el sistema de Lagos de Montebello. Los sitios elegidos fueron seleccionados usando varios criterios: 1) La cercanía con estaciones de monitoreo ambiental ubicadas ahí desde 2013 por parte del equipo del proyecto CONACYT 0167603 “Estudio hidrológico y de calidad del agua del Sistema Lagunar de Montebello, Chiapas”, bajo la coordinación del Dr. Oscar Escolero Fuentes del Instituto de Geología de la UNAM. Estas estaciones proveen de información detallada en los parámetros de conductividad eléctrica, temperatura y caudal (datos no publicados), que pueden ayudar a entender los procesos que han ocurrido en los sitios de muestreo y complementar la información de los parámetros fisicoquímicos obtenidos durante las campañas de muestreo; 2) La distribución homogénea de sitios de muestreo en las partes altas, medias y bajas de la cuenca; y 3) La accesibilidad para llegar al sitio seleccionado.

#### 4.1.1 Muestreo

Las muestras de sedimento fueron extraídas a una profundidad menor a 30 cm usando una draga de tipo Ekman, ubicando las zonas de depósito de sedimentos, en meandros y sitios de acumulación previamente identificados. Las muestras fueron colocadas en botes de vidrio previamente lavados, protegidos de la radiación UV, transportados y mantenidos en refrigeración a 4°C, hasta su análisis (APHA/AWWA/WEF, 2012; Saadati *et al.*, 2013).

Tabla 7. Ubicación de los sitios de muestreo en la cuenca del río Grande de Comitán, Chiapas.

Clave sitio	Referencia del sitio	UTM (15Q)	
		X	Y
MB-R0	Lago Juznajib	0594926	1811191
MB-R7	Rancho Los Riegos	0594031	1803902
MB-R1	Puente Sabinos	0593385	1800760
MB-R2	Puente Los Desamparados	0596527	1796593
MB-R3	Puente San José	0597855	1795006
MB-R6	Puente Amarillo	0608809	1788768
MB-R4	Puente Santo Tomás	0614326	1790973
MB-R5	Rancho El Carrizal	0626059	1785457
MB-L1	Lago Balantetik	0628934	1783302

## 4.2 Material y reactivos

### 4.2.1 Materiales

Los disolventes utilizados acetona, n-hexano, metanol, acetonitrilo y acetato de etilo, fueron adquiridos de las marcas Conquimex (Consortio Químico Mexicano, Edo. Mex.), Burdick & Jackson (Honeywell Co., NJ) y J.T. Baker (Avantor Performance Materials, PA) en los grados reactivo y grado HPLC. Todo material de cristalería fue lavado con agua destilada y detergente libre de fosfatos, se dejó reposando en una solución de HCl al 10% por al menos 4 horas. Transcurrido el tiempo, se volvió a enjuagar con agua destilada y se secó a temperatura ambiente. El material fue almacenado en compartimentos cerrados libres de polvo y se enjuagó con hexano y acetona grado reactivo antes de su uso.

### 4.2.2 Reactivos

La mezcla de **estándares de referencia** corresponde a la mezcla M-8080 (AccuStandard Inc., CT), que incluye los compuestos: aldrín,  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\Delta$ -HCH, p,p'-DDD, p,p'-DDE, p,p'-DDT, dieldrín, endosulfán I, endosulfán II, sulfato de endosulfán, endrina, aldehído de endrina, heptacloro, epóxido de heptacloro y metoxicloro. Se agregó a esta mezcla 2,4,5,6-tetracloro-m-xileno (TCMX) (Chem Service Inc., PA) como surrogado y  $\alpha$ -HCH-D6 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara CA) como estándar interno (Saadati *et al.*, 2013). La **solución de estándar interno y surrogado** se creó con los compuestos TCMX y  $\alpha$ -HCH-D6. Los estándares de referencia se adquirieron en una pureza mayor a 99.5% en concentraciones

---

variadas. Para la extracción por HS-SPME se utilizaron fibras PDMS/DVB de 65µm StableFlex 57327-U (Merck Millipore Corporation Darmstadt, Alemania), montadas en un soporte de fibra automático. Para realizar la optimización de la extracción por HS-SPME se utilizó **sedimento de referencia certificado** New York/New Jersey Waterway Sediment 1944 (NIST, 2011). Este sedimento se encuentra liofilizado y homogeneizado, posee cuatro compuestos organoclorados en concentraciones entre 2 y 170 ng/g (Tabla 8). Las **muestras blanco de sedimento** consistieron en arena silíceas llevada a una temperatura de 550°C con una mufla por un tiempo de tres horas, las muestras fueron tamizadas a través de una malla de 2 milímetros, con lo cual se tiene un tamaño de partícula homogéneo y libre de residuos de materia orgánica (Ripp, 1996).

Tabla 8. Concentraciones de plaguicidas organoclorados en sedimento de referencia New York / New Jersey Waterway 1944 (Nist, 2011).

Compuesto	Concentración
$\alpha$ -HCH	2 ± 0.3 ng/g
p,p'-DDT	170 ± 32 ng/g
p,p'-DDE	86 ± 12 ng/g
p,p'-DDD	108 ± 16 ng/g

## 4.3 Instrumentación

### 4.3.1 Cromatógrafo de Gases/Espectrómetro de Masas GC/MS

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Análisis Cromatográficos en el Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad del Instituto de Ecología, UNAM. Se utilizó un Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas triple cuadrupolo (GC/MS-QQQ) modelo Agilent 7010 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA), equipado con una columna cromatográfica DB-5 (J&W 30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm de espesor de película). Las muestras fueron extraídas e introducidas al cromatógrafo por medio de un auto muestreador Agilent GC 120 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA).

### 4.3.2 Condiciones cromatográficas

Se utilizó como fase móvil helio de ultra alta pureza 99.999% (Praxair México, Ciudad de México) a un flujo constante de 0.973 mL/min en modo de inyección *splitless*. El programa de temperatura del horno inició a 60°C durante un minuto, incrementando a 40°C/min hasta llegar a los 170°C y cambiando el incremento en la temperatura a 10°C/min hasta llegar a los 295°C y manteniéndose en esa temperatura por cuatro minutos, teniendo un tiempo total de

---

corrida de 20.25 min. Las identidades de los compuestos fueron confirmadas con el espectrómetro de masas triple cuadrupolo acoplado al cromatógrafo de gases. La línea de transferencia del cromatógrafo de gases al espectrómetro se mantuvo a una temperatura constante de 300°C. El espectrómetro de masas contaba con una fuente de ionización de impacto electrónico, se mantuvo a una temperatura de 300°C; los cuadrupolos se mantuvieron a una temperatura de 180°C, la celda de colisión utilizó nitrógeno de ultra alta pureza (99.999%) (Praxair México, Ciudad de México) a un flujo de 1.5 mL/min, utilizando también helio de ultra alta pureza (99.999%) (Praxair México, Ciudad de México) como gas *quencher* a un flujo de 2.25 mL/min.

#### **4.3.3 Método *Multiple Reaction Monitoring* MRM**

El método MRM se construyó principalmente con información obtenida de la base de datos G9250AA 1.01 (Agilent Technologies, Inc., 2014). Esta base de datos posee información sobre tiempos de retención, iones precursores, *dwell times* (tiempo de residencia), energías de colisión y iones producto de los 17 plaguicidas organoclorados que se analizaron en este estudio. El surrogado y el estándar interno: TCMX y  $\alpha$  HCH-D6; fueron incorporados manualmente, obteniendo sus patrones de fragmentación mediante las repeticiones de experimentos sometidos a diferentes energías de colisión, seleccionando las transiciones que tuvieran mayor repetibilidad y una proporción de iones producto superior al 70%. La información obtenida, fue procesada por medio del software *Method from Compound List* versión B.07.00 (Agilent Technologies, Inc., 2013), con el cual se definen los intervalos de tiempo, los compuestos que se incluirán en cada intervalo, la resolución de los cuadrupolos, el *dwell time* y las transiciones que se agregaron a la base de datos, constituyen la primera versión del método MRM (Tabla 9).

Tabla 9. Tiempos de retención y transiciones de iones utilizadas para la determinación de plaguicidas organoclorados.

Tiempo de retención min	CAS	Compuesto	Ion precursor m/z	Energía de colisión eV	Ion producto m/z
6.872	877-09-8	TCMX	243.8	15	209.0
			208.8	50	102.0
			206.8	20	136.0
7.391	086194-41-4	$\alpha$ -HCH-D6	223.8	20	149.9
			186.8	20	149.9
			184.8	20	147.9
7.448	319-84-6	$\alpha$ -HCH	218.9	5	183.0
			216.9	5	181.0
			180.9	15	145.0
7.827	319-85-7	$\beta$ -HCH	218.9	5	183.1
			216.9	5	181.1
			181.0	15	145.0
7.943	319-85-7	$\gamma$ -HCH	218.9	5	183.1
			216.9	5	181.0
			181.0	15	145.0
8.295	319-86-8	$\Delta$ -HCH	219.0	5	183.1
			217.0	5	181.1
			181.1	15	145.1
9.109	76-44-8	Heptacloro	273.7	15	238.9
			273.7	15	236.9
			271.7	15	236.9
9.700	76-44-8	Aldrín	262.9	35	192.9
			262.9	35	190.9
			254.9	20	220.0
10.372	1024-57-3	Epóxido de heptacloro	354.8	15	264.9
			352.8	15	262.9
			262.9	35	193.0
10.011	959-98-8	Endosulfán I	194.9	5	160.0
			194.9	5	159.0
			194.9	20	125.0
11.375	72-55-9	p,p'-DDE	317.8	15	246.0
			315.8	15	246.0
			246.1	30	176.2
11.463	72-55-9	Dieldrín	277.0	5	241.0
			262.9	35	193.0
			262.9	35	191.0
11.854	72-20-8	Endrina	316.7	5	280.8
			262.8	35	193.0
			244.8	30	173.0
12.010	33213-65-9	Endosulfán II	206.9	15	172.0
			194.9	10	158.9
			194.9	25	124.9
12.116	72-54-8	p,p'-DDD	236.9	20	165.2
			234.9	15	199.1
			234.9	20	165.1
12.336	7421-93-4	Aldehído de endrina	278.9	10	242.9
			278.9	25	209.0
			249.9	30	214.9
12.757	1031-07-8	Sulfato de endosulfán	273.8	15	238.9
			273.8	15	236.9
			271.9	15	237.0
12.778	50-29-3	p,p'-DDT	237.0	20	165.2
			235.0	15	199.2
			235.0	20	165.2
13.776	72-43-5	Metoxicloro	227.0	15	212.1
			227.0	25	169.1
			227.0	40	141.1

---

## 4.4 Análisis de residuos de plaguicidas

### 4.4.1 Soluciones de estándares de referencia

Todas las soluciones se realizaron por el método de dilución serial, utilizando pipetas volumétricas de 0.5, 1, 2, 3, y 4 mL, además de matraces aforados de 5 y 10 mL, se utilizó acetona grado HPLC para realizar las diluciones (sección 5.2.1). La **solución madre** se creó a partir de la mezcla de plaguicidas organoclorados M-8080, el estándar interno  $\alpha$ -HCH-D6 y el surrogado TCMX (sección 5.2.2). La solución madre fue preparada en una concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  y se mantuvo en refrigeración a  $-70^{\circ}\text{C}$  (Flores-Ramírez *et al.*, 2014). A partir de esta solución se crearon **soluciones de trabajo** en el intervalo de 12 000 a 500  $\text{ng/mL}$ , las cuales se mantuvieron en refrigeración a  $0^{\circ}\text{C}$ . Las soluciones de trabajo se utilizaron para preparar soluciones en los intervalos de concentración adecuados para la elaboración de las curvas de calibración, el enriquecimiento de muestras, la adición del estándar interno y la adición del surrogado en las muestras ambientales.

Para las **muestras enriquecidas de sedimento** se adicionó con pipeta de repetición un volumen de entre 50 y 100  $\mu\text{L}$  de las soluciones de estándares de referencia a 0.75 g de la arena usada para las muestras blanco de sedimento (sección 5.2.2).

### 4.4.2 Liofilización de las muestras

Las muestras de sedimento obtenidas en campo fueron secadas en frío usando una liofilizadora FreeZone 4.5 (Labconco Corporation, MO) a una temperatura de  $-50^{\circ}\text{C}$  y una presión de  $\sim 0.033$  mbar. El sedimento liofilizado fue entonces homogeneizado por medio de un mortero y tamizado a través de una malla de 2 milímetros para eliminar gravas y tamaños de partícula mayores (ISO, 2017). A cada muestra analizada se le agregó una alícuota en diferentes concentraciones del surrogado y el ISTD en acetona grado HPLC. Las muestras de sedimento fueron pesadas y vaciadas en viales de vidrio de 20 mL para su extracción.

## 4.5 Optimización de la extracción por HS-SPME

Las muestras de sedimento contenidas en los viales fueron calentadas y agitadas por medio de una estación de extracción instalada en el auto muestreador GC 120 (Agilent Technologies, CA), durante este proceso la aguja de la fibra de SPME perfora el septo de PTFE/silicona y deja exponer la fibra PDMS/DVB dentro del vial que contiene la muestra. Posteriormente la fibra expuesta es retraída dentro de la aguja y llevada al inyector del cromatógrafo. Dentro del inyector del cromatógrafo la fibra se vuelve a exponer para desorber los plaguicidas térmicamente durante un tiempo y temperatura determinada, y así permitir que los compuestos ingresen a la columna cromatográfica.

En este trabajo se probaron las variables de tiempo, temperatura, peso de la muestra y agitación de la muestra, para con estos resultados obtener las condiciones de mejor extracción de los analitos por HS-SPME. El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente forma: 1) El peso de la muestra se mantuvo constante en 0.25 g. 2) Se realizó una optimización simultánea

de los parámetros temperatura y tiempo, para obtener un óptimo de estas dos condiciones. 3) El peso de la muestra se volvió a evaluar, bajo las condiciones óptimas de tiempo y temperatura. 4) La agitación de la muestra se probó por último una vez obtenidas las condiciones óptimas de tiempo, temperatura y peso de la muestra (Figura 4).

### Proceso de optimización de la extracción por HS-SPME

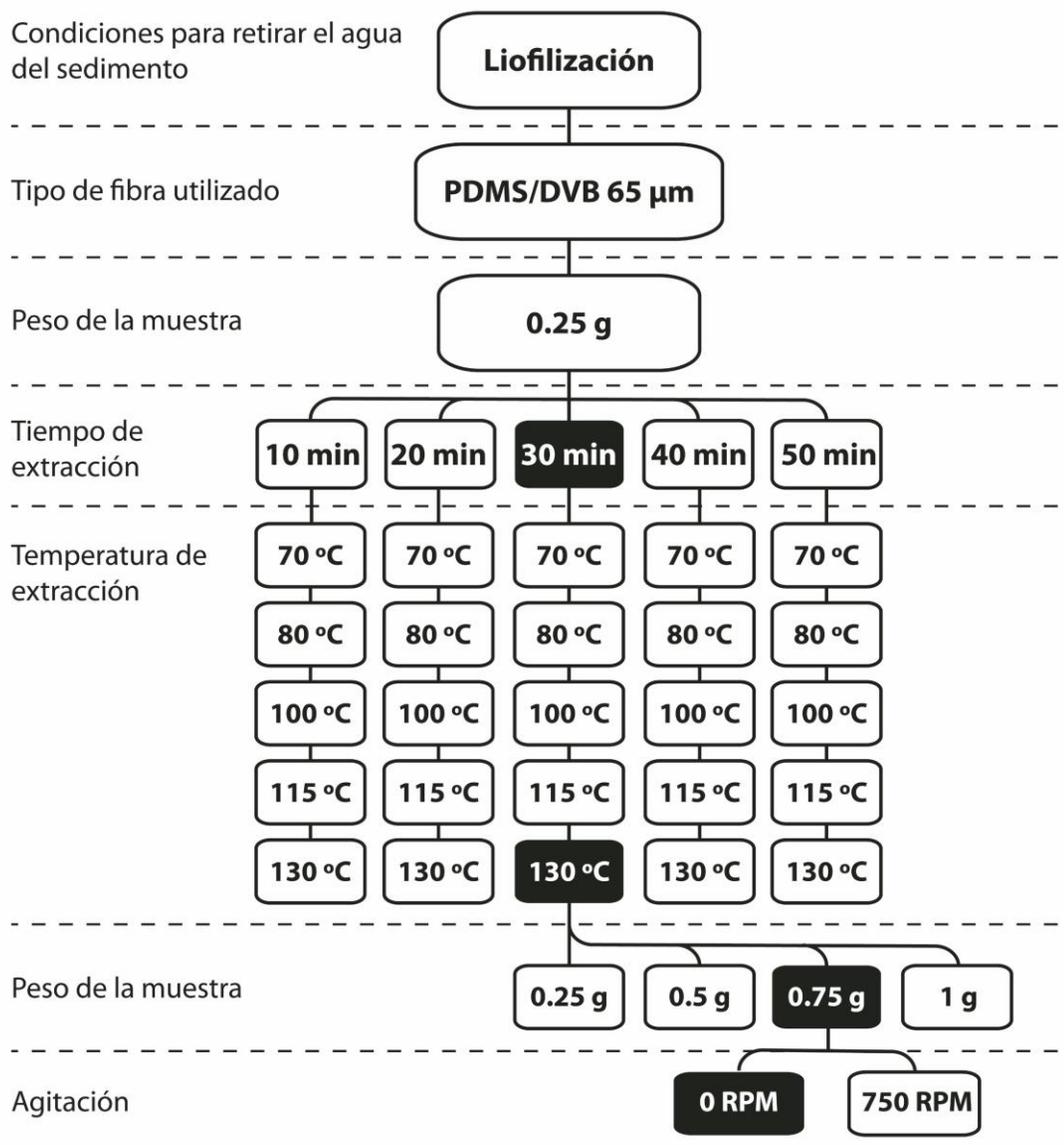


Figura 4. Diagrama de flujo de los experimentos en la optimización de los parámetros de la extracción por HS-SPME (en recuadro negro se muestran las condiciones óptimas seleccionadas).

---

#### **4.5.1 Tiempo y temperatura de extracción**

El efecto de estas dos variables fue probado en los intervalos de tiempo de 10, 20, 30, 40 y 50 minutos, así como en los intervalos de temperatura de 70, 85, 100, 115 y 130 °C, debido al contenido de materia orgánica que existe en el estándar de referencia y en las muestras a analizar, la temperatura de extracción no se llevó a más de 130°C debido al riesgo de ignición. Cada intervalo de tiempo se probó contra el intervalo de temperaturas mencionado, para obtener una matriz de experimentos (Figura 4). El orden de las extracciones fue establecido de forma aleatoria y las extracciones fueron realizadas en un periodo de tres semanas; se obtuvieron triplicados por cada condición. Después de cada inyección, se realizó un blanco de fibra para poder calcular el porcentaje de contaminación cruzada, es decir la proporción del analito que permanece en la fibra después de la desorción de los analitos en el cromatógrafo

#### **4.5.2 Peso de la muestra**

Se probaron los pesos de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 g en las condiciones de tiempo y temperatura óptimas (130°C por 30 minutos). Se obtuvieron triplicados de cada condición probada, los cuales fueron probados de forma aleatoria.

#### **4.5.3 Agitación de la muestra**

Una vez establecidas las condiciones de tiempo, temperatura y peso de la muestra, se probó el efecto de la agitación sobre la muestra para saber si esta tiene algún efecto sobre la eficiencia de la extracción. Se realizaron pruebas sin agitación y a 500 RPM, debido a que el automuestreador únicamente puede probar esta velocidad de agitación mientras extrae la muestra.

#### **4.5.4 Análisis estadístico de la optimización**

Los resultados obtenidos fueron sometidos a diversas pruebas estadísticas usando la plataforma R 3.3.3 (R Development Core Team, Viena). A los resultados obtenidos del proceso de optimización se les realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y pruebas de homocedasticidad (Bartlett). Se realizaron análisis de varianzas ANOVA y Kruskal-Wallis a los resultados que cumplían o no con los criterios de normalidad y homocedasticidad. Las hipótesis nulas de ambas pruebas  $H_0$ , establecen que las medias de cada grupo (ANOVA) o sumas de intervalos de cada grupo (Kruskal-Wallis) de las distribuciones de las variables cuantitativas en todos los grupos son iguales. Las hipótesis alternativas  $H_1$  de estas pruebas establecen que por lo menos una de las medias de cada grupo (ANOVA) o suma de intervalos de cada grupo (Kruskal-Wallis) difiere entre ellas.

---

## 4.6 Validación del método de análisis cuantitativo

La validación es el proceso mediante el cual se verifica la idoneidad del método para cumplir con la finalidad prevista. El método puede desarrollarse internamente, extraerse de la literatura u obtenerse de terceros. Podrá luego adaptarse o modificarse para que se ajuste a los requerimientos y capacidades del laboratorio. En este paso se establecen de manera satisfactoria algunos requisitos como la especificidad, linealidad de la respuesta, sensibilidad, precisión, repetibilidad y la recuperación que se obtiene basado en la técnica (CCPR, 2010).

### 4.6.1 Especificidad

La especificidad se refiere al grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices, sin interferencias de otros componentes. Es por lo tanto crucial establecer que la propiedad medida sólo se debe al analito y no a algo química o físicamente similar que surja por coincidencia, causando así un sesgo en la medición (Magnusson, 2014). El análisis MRM realizado por GC/MS-QQQ es de gran especificidad y permite confirmar de forma confiable la identidad de los compuestos analizados, teniendo la capacidad de seleccionar varios iones de cada molécula y evaluar sus transiciones por medio de una segunda fragmentación en la celda de colisión y posterior selección de iones producto en el segundo cuadrupolo.

### 4.6.2 Linealidad

La linealidad de la respuesta del detector se calcula por medio de una gráfica concentración/respuesta donde se realiza una regresión lineal con el propósito de obtener un coeficiente de correlación cercano o mayor a 0.99. En esta gráfica en el eje de las  $x$  se asigna el valor de la concentración teórica de cada solución de curva de calibración. En el eje de las  $y$  se asignaron los valores obtenidos a partir de la integración de los picos cromatográficos, es decir las áreas de respuesta de cada analito. La linealidad fue calculada usando el método de mínimos cuadrados con promedios no ponderados (EPA, 2014)

#### 4.6.2.1 Construcción de curvas de calibración

Las curvas de calibración son un elemento crucial para realizar un análisis cuantitativo. Mediante la creación de curvas de calibración se evalúa la relación (comúnmente proporcional) entre la respuesta del instrumento y la concentración de un analito introducido. Por medio de una curva de calibración, la señal producida por la presencia de un analito puede convertirse en valores de concentración, por medio de una regresión lineal siguiendo la fórmula de la ecuación de la recta (1).

$$(1) \quad y = mx + b$$

---

Donde:

$y$  = Señal obtenida en el GC/MS.

$m$  = Pendiente de la recta.

$x$  = Concentración del analito.

$b$  = Intersección de la recta con  $y$ .

Una curva de calibración funciona mediante el análisis de soluciones de estándares de referencia en al menos seis niveles de concentración diferentes, cada nivel se analizó por triplicado (Hernández *et al.*, 2002). Con los valores de señal obtenidos para cada respectivo nivel de concentración, se realizó una regresión lineal para obtener los valores de  $m$ ,  $b$  y el coeficiente de correlación  $r^2$  (EPA, 2014; Garrido-Frenich y Martínez-Vidal, 2006).

Las curvas de calibración se realizaron de dos formas, debido a que cada modo de inyección de los analitos requiere de condiciones específicas:

- 1) **Curva de calibración usando el modo de inyección líquida:** En esta forma las soluciones líquidas de estándares de referencia (sección 5.4.1), se introducen al GC/MS por medio de una micro jeringa de vidrio especial para cromatografía. En este modo de inyección el disolvente no interfiere con el análisis y la contaminación cruzada puede ser controlada de forma muy eficiente, puesto que la jeringa es lavada entre 30 y 40 veces, antes de cada inyección. Cada nivel de concentración se analizó por triplicado, se intercalaron blancos de disolvente cada tres inyecciones para establecer la línea base del GC/MS, así como para verificar la limpieza de la columna y la jeringa. El volumen de inyección fue constante durante todo el análisis, y se mantuvo en 1  $\mu$ L.
- 2) **Curva de calibración de la extracción por HS-SPME:** Esta forma consistió en realizar una curva de calibración a partir de la extracción de los analitos por HS-SPME usando las condiciones de extracción resultantes del proceso de optimización (sección 1.6.1). En esta forma los analitos no se encuentran en solución líquida, sino como muestras enriquecidas de sedimento (sección 5.2.2). Por lo tanto, la curva de calibración realizada de esta forma no sólo evalúa la linealidad de la respuesta de los analitos, sino que también evalúa la linealidad, repetibilidad y precisión del método de extracción. Cada nivel de concentración fue analizado por triplicado, pero debido a que este es un método extractivo, no se pudo utilizar una misma muestra, como es el caso de las muestras de inyección líquida, para este método se creó una muestra enriquecida de sedimento para cada triplicado en cada nivel de concentración. Se intercalaron blancos de fibra entre cada extracción para determinar la línea base del análisis.

En ambos casos los niveles de concentración fueron creados por dilución serial a partir de las soluciones de trabajo (sección 5.4.1), en intervalos de concentración que fueron de 250 a 50 ng/mL, de 50 a 5 ng/mL, de 5 a 0.05 ng/mL y de 0.1 a 0.001 ng/mL.

---

### 4.6.3 Límite de detección

El límite de detección *Limit of Detection* (LOD, por sus siglas en inglés), se refiere a la concentración mínima de un analito que puede ser medida y reportada por el procedimiento, y que por lo tanto se puede diferenciar con una certidumbre del 99%, que esta concentración es mayor a la que pudiera provenir de un blanco de método, aun cuando esta concentración no pueda ser cuantificable (EPA, 2012; FDA, 2001). Es decir que la respuesta de cada analito, se encuentra por arriba de cualquier respuesta que pueda provenir de un blanco y que por lo tanto existe un 1% de probabilidad de que exista un error de tipo I. El LOD se calculó analizando las desviaciones estándar de los resultados de muestras blanco y muestras con concentraciones cercanas a cero obtenidas en condiciones de repetibilidad, de acuerdo con Magnusson (2014). El LOD se estimó a partir de  $s'_0$ , usando la siguiente fórmula (2):

$$(2) \quad S'_0 = S_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

Donde:

$S'_0$  = Desviación estándar con corrección de blanco.

$S_0$  = Desviación estándar.

$n$  = Número de réplicas.

$n_b$  = Número de observaciones blanco usadas para calcular la corrección de blanco.

Con la desviación  $s'_0$  se realiza la estimación del LOD, de acuerdo con la fórmula (3) (Magnusson, 2014).

$$(3) \quad \text{LOD} = 3 * S'_0$$

### 4.6.4 Límite de cuantificación

El límite de cuantificación ó *Limit of Quantification* (LOQ, por sus siglas en inglés), es la concentración más baja a la cual los analitos pueden ser cuantificados con certidumbre. El LOQ se calculó de la misma forma que el LOD, basándose en las desviaciones estándar de los resultados en concentraciones cercanas a cero, fórmula (2), sólo que en este caso, el valor obtenido  $s'_0$ , se multiplicó por el factor  $k_Q$ , cuyo valor por defecto es 10 fórmula (4) (Currie, 1995; Magnusson, 2014).

$$(4) \quad \text{LOD} = 10 * S'_0$$

---

#### 4.6.5 Precisión y repetibilidad

La precisión de un método analítico describe la cercanía que tienen las mediciones individuales de un analito y sirve para evaluar el desempeño del método teniendo en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas que pueden esperarse durante su uso rutinario (FDA, 2001). La precisión se estima desde la extracción hasta la cuantificación cromatográfica. Se evalúan entre 6 y 15 repeticiones de las muestras de interés en una misma concentración, con los resultados se calcula la desviación estándar relativa ó *Relative Standard Deviation* (RSD, por sus siglas en inglés), la cual describe la propagación de los resultados (Magnusson, 2014). La precisión puede componerse de dos medidas, la repetibilidad y la reproducibilidad. La repetibilidad se refiere a la menor variación en los resultados, por ejemplo: en condiciones de un solo analista en un mismo equipo en un corto periodo de tiempo. La reproducibilidad se refiere a la mayor variación en los resultados, por ejemplo: la variación medida entre laboratorios. Se puede encontrar una tercera forma en el inter: la precisión intermedia (Magnusson, 2014).

#### 4.6.6 Recuperación o Exactitud

En esta prueba se evaluó la eficiencia del método para extraer los analitos de interés, lo cual consiste en determinar la capacidad del método para extraer una cantidad conocida de un analito dentro una matriz seleccionada. Para este análisis se utilizaron muestras enriquecidas de sedimento (sección 5.4.1). Los experimentos se realizaron en tres intervalos de concentración: bajo, medio y alto (FDA, 2001). Los intervalos de concentración probados fueron de 1 a 0.6 ng/g (intervalo bajo), de 6.4 a 4.2 ng/g (intervalo medio), y de 6.4 a 25.6 ng/g (intervalo alto), (Anexo II, Tabla 19). La recuperación se expresa como porcentaje, se obtiene a partir del cociente entre la concentración teórica de la muestra enriquecida y la concentración cuantificada por medio del método de extracción. Se realizaron seis réplicas de cada extracción.

### 4.7 Determinación del contenido de materia orgánica

La estimación del contenido de materia orgánica se llevó a cabo por medio del método de pérdida por ignición ó *Loss On Ignition* (LOI, por sus siglas en inglés) (Dean, 1974), el cual estima el contenido de carbono en los sedimentos oxidando la materia orgánica a dióxido de carbono y cenizas a una temperatura de 550°C en una mufla.

Las muestras de sedimento fueron inicialmente secadas en una estufa a 105°C, por un periodo entre 12 y 24 h, dependiendo de la textura del sedimento. Una vez seco, el sedimento fue tamizado para eliminar gravas y restos vegetales con un tamiz de 2 mm (ISO, 2017). Posteriormente fue homogeneizado con un mortero para deshacer agregados y se pesaron 10 g de sedimento seco en cápsulas de porcelana, las cuales se llevaron a la mufla. La pérdida de peso después de la combustión a una temperatura  $\geq 550^\circ\text{C}$  es proporcional al contenido de materia orgánica presente en el sedimento (Dean, 1974; Heiri, Lotter, & Lemcke, 2001; Hoogsteen *et al.*, 2015).

---

El valor obtenido de LOI es un porcentaje del contenido de materia orgánica y es calculado de acuerdo con la fórmula (4). La pérdida de peso es entonces proporcional a la cantidad de carbono orgánico contenido en la muestra (Heiri *et al.*, 2001).

$$(4) \quad LOI_{550} = \frac{DW_{105} - DW_{550}}{DW_{105}} * 100$$

Donde:

LOI = Porcentaje del carbono orgánico contenido en la muestra.

DW<sub>105</sub> = Corresponde al peso seco de la muestra antes de la combustión (g).

DW<sub>550</sub> = Peso seco de la muestra después de calentar a 550°C.

Se estableció un tiempo de 3 h a 550°C, con un peso constante de 10 g por muestra (De Vos *et al.*, 2005; Hoogsteen *et al.*, 2015).

#### **4.8 Análisis estadístico de los resultados**

De la misma forma que en el proceso de optimización, se realizaron pruebas estadísticas usando la plataforma R (R Development Core Team, Viena). Se realizaron pruebas de pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk), homocedasticidad (Bartlett), se realizaron pruebas de correlación de *Spearman* para evaluar la correlación entre el contenido de materia orgánica y la extracción de los compuestos.

#### **4.9 Sistemas de Información Geográfica**

Se realizaron mapas de la distribución espacio temporal de la presencia de plaguicidas y del contenido de materia orgánica por medio del sistema de información geográfica ArcGIS 10.4 (ESRI, 2014). Los datos vectoriales usados para establecer la cuenca hidrológica, el modelo digital de elevación, los cuerpos de agua y los mapas de uso de suelo fueron obtenidos de INEGI (2007), basándose también en mapas de Bonifaz para el uso de suelo y modelo digital de elevación de la cuenca (en proceso). Los sitios de muestreo fueron superpuestos sobre estas capas para mostrar la presencia espacial de las concentraciones de plaguicidas. Con el modelo digital de elevación se tomaron los datos de elevación para realizar el corte longitudinal del río.

---

## CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Durante el desarrollo de este trabajo se realizaron tres muestreos en la cuenca del río Grande de Comitán, recolectando 72 muestras en total. Se recopiló información sobre la geografía, geología e hidrogeología de la zona, generando mapas con las unidades geológicas que existen en la cuenca, así como de los principales cauces.

### 5.1 Desarrollo del método MRM

#### 5.1.1 Establecimiento del tiempo de retención

Para la detección de los plaguicidas de interés, se realizaron varios pasos, el primero de ellos consistió en fijar el tiempo de retención (TR) del método cromatográfico para hacerlo coincidir con el de la base de datos. Esto se realizó midiendo el cambio en el TR de un compuesto bajo flujos de columna diferentes, en este caso se utilizó el compuesto metoxicloro. Se realizaron cinco inyecciones modificando el flujo de la columna original de 1 mL/min a condiciones -20%, -10%, +10% y +20%, los cuales se muestran en la Tabla 10. Con los tiempos de retención obtenidos y el flujo de columna se realizó una regresión lineal ( $r^2=0.999993$ ), para fijar el flujo de columna que coincida con el TR establecido en la base de datos del metoxicloro; el cual fue de 14.021 min, por lo que el flujo se determinó en 0.973 mL/min. Esto fue confirmado positivamente mediante tres inyecciones sucesivas.

Tabla 10. Condiciones de flujo de columna y tiempo de retención obtenido del compuesto metoxicloro, para fijar el flujo de columna.

Número de inyección	Flujo de inyección mL/min	Tiempo de retención (metoxicloro) seg
1	0.80	14.369
2	0.90	14.159
3	1.00	13.974
4	1.10	13.811
5	1.20	13.662

### 5.1.2 Optimización del método MRM

Se realizaron varias optimizaciones de los métodos de MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) hasta llegar a un método final de análisis, para esto se analizó cada transición de forma manual y mediante la herramienta *Dynamic MRM Assistant* Versión B.07.00 (Agilent Technologies, Inc., 2013). Esta herramienta utiliza la información de varias réplicas para optimizar el *dwell time* a un intervalo óptimo de entre 8 y 20 muestreos por pico cromatográfico. Este proceso se realizó durante ocho iteraciones hasta llegar al método final de MRM, mediante el cual se llevó a cabo la optimización de la extracción por HS-SPME.

En un método como este, se debe poner especial atención en la detección de los isómeros, en particular para la detección del Lindano ( $\gamma$ -HCH) y sus isómeros  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH y  $\Delta$ -HCH, debido a que estos tienen exactamente el mismo patrón de fragmentación en sus moléculas y por lo tanto poseen exactamente las mismas transiciones. Esto puede tener como consecuencia que al ubicar dos o más isómeros en un mismo intervalo de tiempo, ambos compuestos sean cuantificados como uno solo y sus áreas se sumen, o que uno de estos compuestos pueda ser clasificado como otro. Por lo tanto, el tiempo de retención es un parámetro crítico en este análisis cromatográfico. El orden de elución de estos compuestos fue investigado y se encontraron inconsistencias en el orden de elución. De acuerdo con Basheer, Lee, y Obbard (2002) el isómero  $\gamma$ -HCH se encuentra entre el isómero  $\alpha$ -HCH y  $\beta$ -HCH. Lo cual no coincide con lo encontrado por Alcántara (2014) y la base de datos G9250AA, donde el orden de elución de los isómeros es  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH y  $\Delta$ -HCH (Tabla 11). Los tiempos de retención del resto de los compuestos analizados no mostraron ninguna inconsistencia entre lo reportado y lo encontrado.

Tabla 11. Orden de elución y iones principales para la detección y cuantificación de Lindano y sus isómeros.

Base de datos G9250AA		Alcántara, 2014	Carvahlo <i>et al.</i> , 2008	Basheer <i>et al.</i> , 2002		
Orden de elución	Iones principales m/z	Orden de elución	Orden de elución	Iones principales m/z		
$\alpha$ -HCH	216.9, 180.9, 218.9	$\alpha$ -HCH	$\alpha$ -HCH	109, 111, 181	$\alpha$ -HCH	181, 183, 219
$\beta$ -HCH	216.9, 181, 218.9	$\beta$ -HCH			$\gamma$ -HCH	227, 181, 238
$\gamma$ -HCH	216.9, 181, 218.9	$\gamma$ -HCH			$\beta$ -HCH	181, 183, 219
$\Delta$ -HCH	216.9, 181, 218.9	$\Delta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	109, 111, 181		

## 5.2 Desarrollo del método de extracción por HS-SPME

El método para la extracción de plaguicidas organoclorados consistió en la evaluación de varios parámetros, a continuación, se describe cada uno de ellos.

### 5.2.1 Temperatura y tiempo de extracción

En las muestras analizadas se lograron extraer los plaguicidas p,p'-DDT, p,p'-DDE y p,p'-DDD, cabe mencionar que no fue posible detectar el  $\alpha$ -HCH en ninguna de las condiciones de extracción probadas. En las gráficas de caja y bigotes (Figuras 5, 6 y 7), se muestran los resultados de las áreas obtenidas del p,p'-DDT y sus metabolitos en cada tratamiento. Se encontró que existen hasta cuatro órdenes de magnitud de diferencia entre las condiciones menos eficientes y las más eficientes. Las condiciones con las cuales se puede extraer una mayor cantidad de analito fue la combinación de 130°C por 50 minutos y las condiciones con las que se extrajo la menor cantidad de analitos fueron 70°C por 10 minutos. En ambos casos se encontró que conforme aumenta la temperatura o el periodo de tiempo, la extracción de los analitos aumenta. El análisis estadístico se realizó evaluando las variables de temperatura y tiempo por separado. Para evaluar el tiempo se agruparon las diferentes temperaturas probadas en cada intervalo de tiempo, no fue posible realizar un análisis estadístico de estos resultados debido a que no mostraron homocedasticidad ni normalidad, sin embargo, podemos concluir de forma descriptiva que:  $\mu 10 \text{ min} < \mu 20 \text{ min} < \mu 30 \text{ min} < \mu 40 \text{ min} < \mu 50 \text{ min}$ . Al no haber argumentos estadísticos suficientes, se compararon las diferencias entre los promedios de las extracciones realizadas entre 30 y 50 minutos, con lo cual se encontró que la extracción aumenta un 13%. Si bien la extracción es mayor en un intervalo de tiempo de 50 minutos, se optó por utilizar un tiempo de 30 minutos como el óptimo, debido a que corresponde con la duración del análisis cromatográfico (5.3.2).

### Extracción de DDE

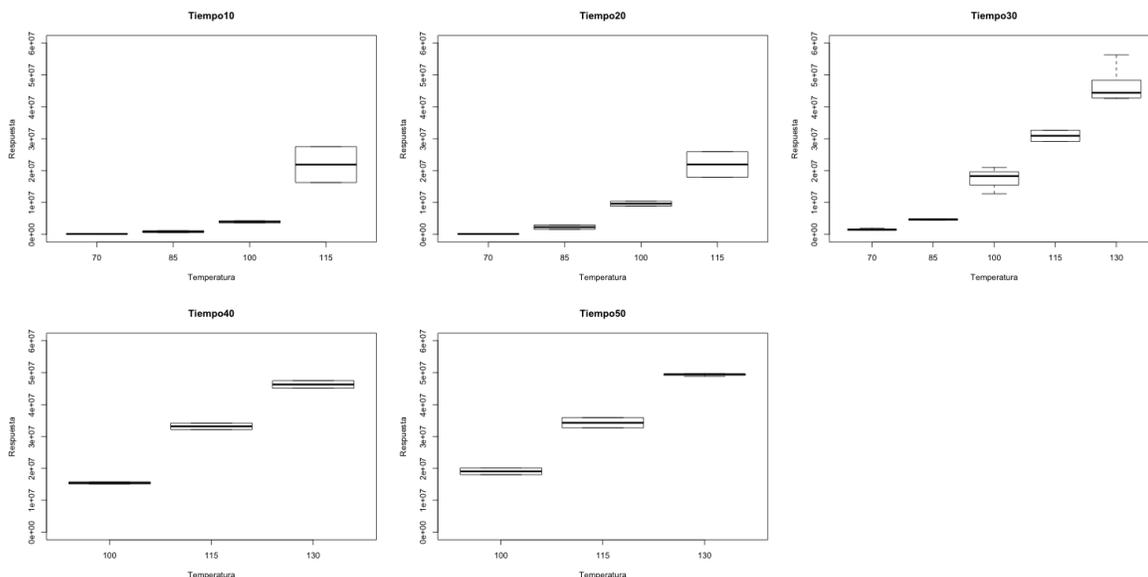


Figura 5. Gráficas de caja y bigotes de la respuesta obtenida de la extracción de p,p'-DDE en intervalos de tiempo y condiciones de temperatura diferentes.

## Extracción de DDT

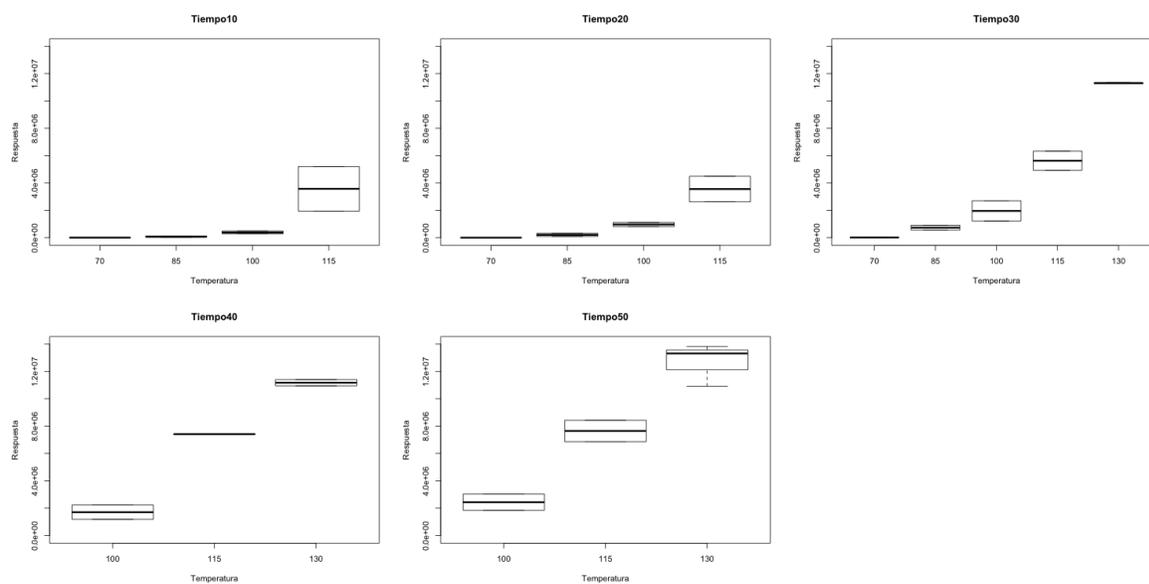


Figura 6. Gráficas de caja y bigotes de la respuesta obtenida de la extracción de p,p'-DDT en intervalos de tiempo y condiciones de temperatura diferentes.

## Extracción de DDD

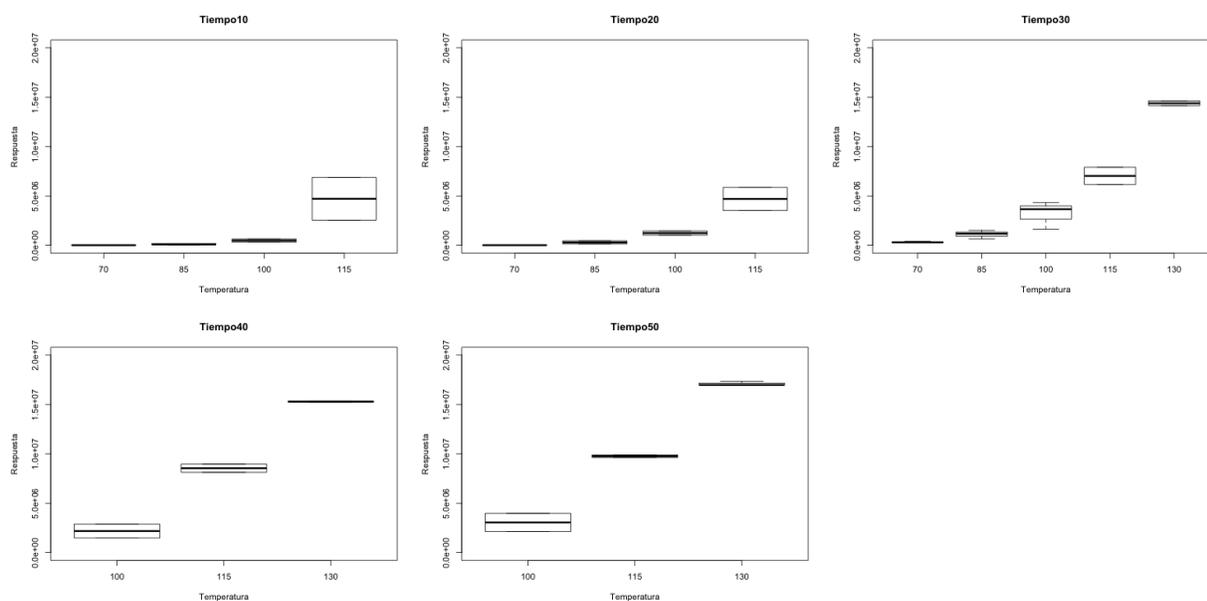


Figura 7. Gráficas de caja y bigotes de la respuesta obtenida de la extracción de p,p'-DDD en intervalos de tiempo y condiciones de temperatura diferentes.

Para evaluar el efecto de la temperatura en la extracción, los resultados de tiempo fueron agrupados por este factor de acuerdo a su temperatura. De la misma forma que con el tiempo de extracción, los resultados no mostraron homocedasticidad ni normalidad, por lo que no fue posible realizar un análisis estadístico. Al igual que con el tiempo, conforme aumenta la temperatura, aumenta la extracción de los analitos, por lo que podemos concluir de forma descriptiva que:  $\mu_{70^{\circ}\text{C}} < \mu_{85^{\circ}\text{C}} < \mu_{100^{\circ}\text{C}} < \mu_{115^{\circ}\text{C}} < \mu_{130^{\circ}\text{C}}$ . La temperatura óptima de extracción se determinó en  $130^{\circ}\text{C}$ .

Una buena forma de visualizar la matriz de resultados obtenida de estos experimentos es mostrar ambas variables en una gráfica 3D, en donde el eje  $x$  corresponde a la temperatura de extracción, el eje  $z$  el tiempo de extracción y el eje  $y$  la extracción del analito. En esta gráfica podemos observar que el incremento de la temperatura aumenta la eficiencia en la extracción; en particular debido a que eleva la transferencia de masa y las tasas de difusión.

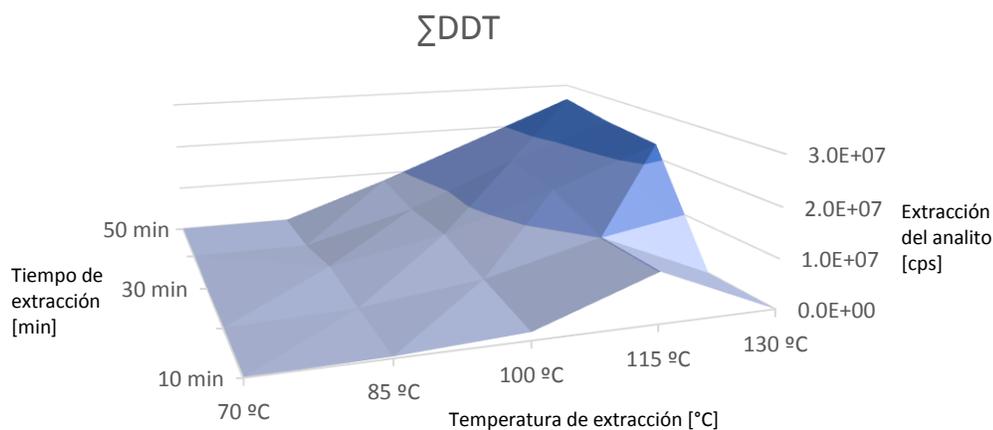


Figura 8. Respuesta de  $\Sigma\text{DDT}$  ( $p,p'$ -DDD +  $p,p'$ -DDE +  $p,p'$ -DDT) sus metabolitos en condiciones de tiempo y temperatura variables.

### 5.2.2 Efecto del peso de la muestra.

Una vez determinadas las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de extracción ( $130^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos), se evaluó la respuesta de los analitos conforme aumenta el peso de la muestra, (Figura 9). Los resultados obtenidos mostraron homocedasticidad y normalidad, por lo que se realizó una prueba ANOVA de una sola vía. Se obtuvo un valor de  $p > \alpha$  ( $p$ -value = 0.5035) con lo cual se acepta  $H_0$ , por lo que no existen diferencias estadísticamente significativas entre cada tratamiento. Sin embargo, de forma descriptiva se encontró que la menor variabilidad de los resultados se logró con un peso de 0.75 g, por lo cual este valor se fue seleccionado para el método. Estos resultados, concuerdan con lo encontrado por Chang y Doong (2006), en donde extraen plaguicidas organoclorados por una técnica similar; la mayor extracción se logró con el peso más bajo (0.5 g) del intervalo probado (0.5 a 2 g). Esto se explica debido a que, al haber una mayor carga de sedimento en las muestras más pesadas, la liberación de los plaguicidas se ve obstaculizada por la misma matriz, por lo que existe

---

una menor difusión de los plaguicidas hacia la fase vapor en los intervalos de peso más altos, de forma similar a lo encontrado en este trabajo (Anexo II, Figura 18).

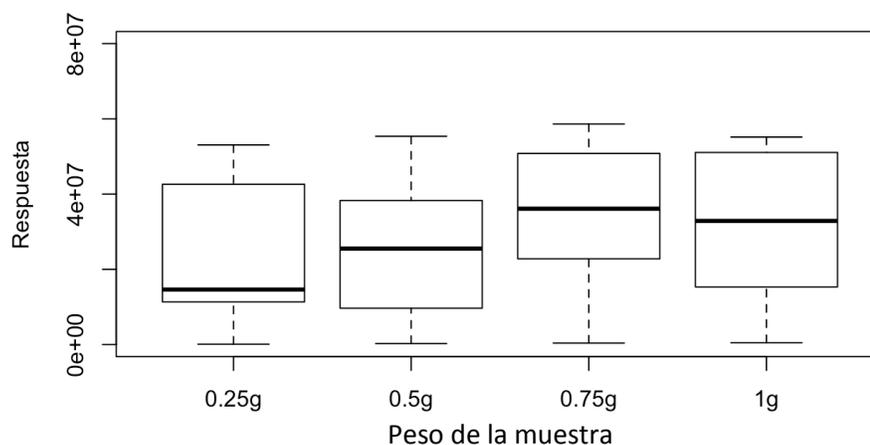


Figura 9. Efecto de la extracción de p,p'-DDT conforme aumenta el peso de la muestra.

### 5.2.3 Agitación de la muestra

Las pruebas de agitación de la muestra se realizaron bajo condiciones de extracción de 130°C por 30 minutos, con un peso de muestra de 0.25 g. Los resultados obtenidos cumplieron con los criterios de homocedasticidad y normalidad, por lo que se realizó una prueba t- de Student. Se obtuvo un valor  $p > \alpha$  ( $p\text{-value} = 0.66$ ), por lo que se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas entre cada tratamiento. Las muestras con agitación mostraron una mayor variabilidad en los resultados, la fibra puede tener un desgaste mecánico por el movimiento del vial, lo cual puede disminuir la vida útil de la fibra de modo que al no existir una ventaja significativa sobre la extracción, se decidió no usar agitación.

### 5.2.4 Condiciones óptimas de extracción

Conforme a los resultados analizados, se llegó a la conclusión de que las condiciones óptimas de extracción para plaguicidas organoclorados por la técnica HS-SPME son las siguientes:

<b>Temperatura de extracción:</b>	<b>130 °C</b>
<b>Tiempo de extracción:</b>	<b>30 minutos</b>
<b>Peso de la muestra:</b>	<b>0.75 g</b>
<b>Agitación:</b>	<b>Sin agitación</b>

No obstante, en estas pruebas no fue posible la detección del  $\alpha$ -HCH en el sedimento de referencia New York/New Jersey 1944 (NIST, 2011), lo cual puede ser debido a que este

compuesto se encontraba en concentraciones muy bajas ( $2 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (lo que representa un 1.2% de la concentración del compuesto p,p'-DDT). Un factor determinante en la eficiencia de la extracción es la volatilidad de cada compuesto. Las respuestas diferentes de cada plaguicida organoclorado, dependen de su volatilidad, constante de distribución, estructura molecular y presión de vapor (Tabla 6). Esto debido a que algunos compuestos entran en fase vapor más rápido que otros; por ejemplo, los analitos más volátiles ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\Delta$ -HCH, heptacloro, epóxido de heptacloro, endosulfán y aldrín), poseen tiempos de equilibrio más cortos y su temperatura de extracción es menor (Anexo II, Figura 19). Estos compuestos poseen presiones de vapor entre  $3 \cdot 10^{-4}$  y  $6.3 \cdot 10^{-6}$  mm de Hg, por lo que a una temperatura de  $50^\circ\text{C}$  la mayor parte de ellos llegará a su máxima capacidad de extracción. A una temperatura de  $80^\circ\text{C}$ , estos compuestos empezaran a tener difusión entre la fibra y la fase vapor, por lo que la extracción disminuye drásticamente (Figura 10 A) (Chang y Doong, 2006; Doong y Liao, 2001; Santos, Sarrion, y Galceran, 1997).

Los compuestos con tiempos de equilibrio más largos (p,p'-DDT, dieldrín, endrina y metoxicloro) entrarán en fase vapor a mayor temperatura (Anexo II, Figura 20); a  $50^\circ\text{C}$  la extracción de estos compuestos es mínima, y la mayor parte de estos compuestos aún permanece adsorbido a la muestra. Conforme se incrementa la temperatura, se incrementa la capacidad de extracción, donde el máximo ocurre a  $80^\circ\text{C}$  (Figura 10 B) (P. N. Carvalho et al., 2008; Flores-Ramírez et al., 2014). Por encima de los  $80^\circ\text{C}$ , empieza a haber difusión entre la fibra y la fase vapor, por lo que la extracción disminuye (Herbert *et al.*, 2006). Por lo tanto, a una temperatura de  $80^\circ\text{C}$ , se tiene la capacidad de extracción máxima de los compuestos con presiones de vapor más grandes, sin embargo, para los compuestos con presiones de vapor más bajas, a esta temperatura, su eficiencia se ve disminuída. La temperatura más baja a la cual se realizaron las extracciones en este trabajo fue de  $70^\circ\text{C}$ , por lo que esto se encontraba fuera del intervalo óptimo para la extracción de compuestos de volatilidad más alta como el lindano ( $\gamma$ -HCH) y sus isómeros.

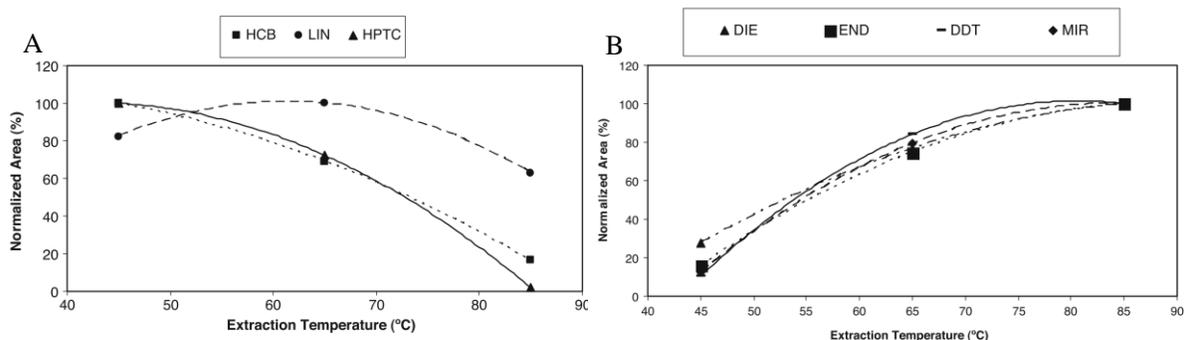


Figura 10. Eficiencias en la extracción de  $\alpha$ -HCH (Figura a, HCB [■]) y p,p'-DDT (Figura b, DDT [-]), tomado de Herbert, *et al.*, (2006).

---

### 5.2.5 Selección de elaboración de curvas de calibración

Como se ha mencionado, la técnica de extracción por el modo *headspace* posee varias ventajas, sin embargo, establecer un análisis cuantitativo mediante esta técnica conlleva una serie de retos técnicos y conceptuales. Existe información muy limitada sobre como en particular se construye una curva de calibración para un método como el de HS-SPME. La mayoría de los artículos citados evalúan principalmente eficiencia de la extracción y sólo en tres de ellos se encontró mencionada de forma explícita, cómo ocurre la elaboración de las curvas de calibración (Hernández *et al.*, 2002; Ho y Hsieh, 2001; Shen y Lee, 2003). Una pregunta generada a partir de esta investigación es saber si tiene validez cuantificar la presencia de los analitos extraídos por HS-SPME, mediante una curva de calibración generada por inyección líquida. Durante el desarrollo de este trabajo se observó que los resultados obtenidos en las curvas de calibración generadas por el modo de inyección HS-SPME poseen una mayor variabilidad que los resultados de la inyección líquida (Tabla 12). El modo de inyección líquida es una forma más directa de introducir los analitos, por lo que intervienen una menor cantidad de pasos. Esto tiene efectos positivos sobre la precisión, la repetibilidad y por lo tanto constituye análisis cuantitativo más robusto. Las repeticiones de cada nivel de concentración en la inyección directa son réplicas de una misma muestra, mientras que en el modo HS-SPME se prepara una muestra para cada repetición, lo cual eleva la incertidumbre.

Las curvas creadas por inyección líquida son más simples de elaborar, los resultados poseen menor variabilidad, que se traduce en coeficientes de correlación más altos. Sin embargo, pese a las ventajas que tiene la construcción de una curva de calibración de forma líquida, conceptualmente no tiene sentido montar un análisis cuantitativo en el cual la curva de calibración se construya bajo un método diferente del usado para extraer las muestras ambientales. En la literatura citada, no existe alguna comparación entre las equivalencias de estos dos métodos, por lo que no se puede concluir si existe una relación entre ambos métodos y por lo tanto los resultados obtenidos entre cada curva no son comparables. Esto ocurre en particular porque esta técnica introduce los analitos de una forma muy diferente a la inyección directa, en la inyección por *headspace* no existe volumen de inyección, la fibra desorbe los compuestos que tiene adsorbidos en su superficie, y si bien las fibras poseen proporciones de largo, ancho y grosor estandarizado, no existe ningún volumen controlable que pueda ser depositado en el inyector del GC/MS.

Tabla 12. Comparación entre los coeficientes de correlación obtenidos en una curva de calibración obtenida mediante el modo de inyección líquida y el modo de inyección por HS-SPME; n=3 (0.002-16 ng/mL).

Compuesto	Coeficiente de correlación ( $r^2$ )	
	Inyección líquida	HS-SPME
TCMX	0.9983	0.9968
$\alpha$ -HCH-D6	0.9986	0.9972
$\alpha$ -HCH	0.9955	0.9961
$\beta$ -HCH	0.9967	*0.9841
$\Delta$ -HCH	0.9925	0.9974
$\gamma$ -HCH	0.9977	*0.9745
Heptacloro	0.9962	*0.9827
Aldrín	0.9967	0.9955
Epóxido de heptacloro	0.9981	*0.9795
Endosulfán I	0.9952	*0.7391
p,p'-DDE	0.9972	*0.9589
Dieldrín	0.9961	*0.9566
Endosulfán II	0.9952	*0.7998
Endrina	0.9940	*0.9436
p,p'-DDD	0.9973	*0.9474
Aldehído de endrina	0.9928	*0.8912
p,p'-DDT	0.9959	*0.9340
Sulfato de endosulfán	0.9922	*0.9140
Metoxicloro	0.9968	*0.9460
<b>Promedio</b>	<b>0.9954</b>	<b>0.9439</b>

\*fuera del valor recomendado 0.99 (EPA, 2014; Garrido Frenich y Martínez Vidal, 2006).

### 5.2.6 Establecimiento de los límites de detección y los límites de cuantificación.

Un paso importante en la implementación de un método consiste en conocer y determinar el límite de detección (LOD), a partir del cual se obtiene también el límite de cuantificación (LOQ). Con estos dos parámetros se evalúa el desempeño del método. Existen varias formas de obtener el límite de detección, el primer paso consiste en determinar el límite de detección instrumental, es decir el del GC/MS-QQQ, a partir del cual es posible conocer el límite de detección del método de extracción HS-SPME y posteriormente el límite de cuantificación del método de extracción (Ripp, 1996; USEPA, 2016).

---

El límite de detección instrumental se calculó por medio de  $L_d$  (Anexo II, Fórmula 5). Para obtener el límite de detección del método de extracción HS-SPME, se realizaron varias pruebas para encontrar aquella que cumplió satisfactoriamente los criterios de validación del método. Establecer el límite de detección suele ser el cálculo más problemático en la validación de métodos (Bernal, 2014). Debido a que existen múltiples formas de realizar este cálculo, cada una de estas considera las particularidades que posee el análisis utilizado. Comúnmente el límite de detección es calculado a partir de la variabilidad del blanco, sin embargo, en el método de extracción HS-SPME la fibra puede no desorber por completo los analitos, y por lo tanto los blancos de fibra pueden producir señal correspondiente a los analitos que se busca determinar. Esto es de particular interés y de no tomar en cuenta este efecto puede derivar en el reporte de falsos positivos.

Se probaron cinco formas de calcular el límite de detección:

- 1)  $MDL_b$  (USEPA, 2016), es utilizado cuando los blancos producen valores numéricos y es detectado a partir de la variabilidad de los blancos y el valor  $t$  de una prueba de Student (Anexo II, Fórmula 5).
- 2)  $MDL_{(t99, n-1)}$  (E. Bernal, 2014; USEPA, 2016), se realiza por el cálculo de al menos siete repeticiones de muestras fortificadas en concentraciones cercanas a cero (Anexo II, Fórmula 6).
- 3)  $L_d$  (Currie, 1995), es el más común y el recomendado por la IUPAC, se calcula a partir de la variabilidad de muestras fortificadas en concentraciones cercanas a cero y el valor  $t$  de una prueba de Student cuando  $\alpha = \beta = 0.05$  (Anexo II, Fórmula 7)
- 4)  $(S'_0) \cdot 3$  (Magnusson, 2014), presenta un factor de corrección de blanco, se basa en el cálculo de la desviación estándar en muestras con niveles de concentración cercanos a cero (Fórmula 2).
- 5)  $RMSE$  (Bernal, 2014), se obtiene a partir de los resultados de una curva de calibración, obteniendo la sumatoria del cuadrado del error asociado a cada medición (Anexo II, Fórmula 8).

En la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos para cada método, dónde los límites de detección obtenidos son  $MDL_b > MDL_{(t99, n-1)} > L_d > (S'_0) \cdot 3 > RMSE$ .

Tabla 13. Comparación entre los resultados obtenidos para el cálculo del límite de detección (valores reportados en ng/g).

Compuesto	$MDL_b$ <sup>[1]</sup>	$MDL_{(t99, n-1)}$ <sup>[2]</sup>	$L_d$ <sup>[3]</sup>	$(S'_0) \cdot 3$ <sup>[4]</sup>	RMSE <sup>[2]</sup>
TCMX	0.050	0.103	0.140	0.070	0.000
$\alpha$ -HCH-D6	0.072	0.080	0.137	0.064	0.000
$\alpha$ -HCH	0.111	0.161	0.194	0.122	0.000
$\beta$ -HCH	0.279	0.199	0.290	0.162	0.000
$\gamma$ -HCH	0.127	0.167	0.364	0.120	0.000
$\Delta$ -HCH	0.315	0.249	0.194	0.203	0.000
Heptacloro	0.036	0.030	0.232	0.001	0.000
Aldrín	0.168	0.400	0.244	0.243	0.000
Epóxido de heptacloro	0.248	0.176	0.292	0.123	0.000
Endosulfán I	-0.094	2.120	0.972	0.967	0.000
p,p'-DDE	1.754	0.170	0.317	0.128	0.000
Dieldrín	0.548	0.595	0.328	0.327	0.000
Endrina	2.520	1.734	0.865	0.844	0.000
Endosulfán II	6.540	1.857	0.038	0.861	0.000
p,p'-DDD	6.144	1.579	0.807	0.804	0.000
Aldehído de endrina	14.363	4.759	0.859	1.244	0.000
Sulfato de endosulfán	3.298	0.854	0.504	0.462	0.000
p,p'-DDT	1.922	1.135	0.464	0.502	0.000
Metoxicloro	6.778	1.237	0.614	0.611	0.000

<sup>[1]</sup>(USEPA, 2016) <sup>[2]</sup>(Bernal, 2014); <sup>[3]</sup>(Currie, 1995); <sup>[4]</sup>(Magnusson, 2014).

Como se puede observar los LOD obtenidos mediante el método *RMSE* son cercanos a cero y se encuentran varios órdenes de magnitud por debajo de los valores calculados por los demás métodos, esto resultaría en una alta probabilidad de producir errores de tipo  $\alpha$ , por lo que el cálculo para determinar el LOD se descartó por este método. La mayor parte de los LOD calculados en este trabajo, se encuentran entre los valores reportados por el método 8081 (EPA, 2014), con valores entre 1.1 y 5.7 ng/g, a excepción de cuatro compuestos endosulfán I, endosulfán II, p, p'-DDD y aldehído de endrina. Se observó, que los LOD calculados por el análisis de muestras con niveles de concentración cercanos a cero ( $MDL_{[t99, n-1]}$ ,  $L_d$  y  $[S'_0] \cdot 3$ ) poseen valores muy similares entre ellos, en particular entre  $L_d$  y  $(S'_0) \cdot 3$ , cuyos valores de concentración difieren en milésimas. El cálculo por medio de  $MDL_b$  arroja valores negativos (endosulfán I) y los valores más altos de concentración. Los límites de detección obtenidos por estos tres métodos, salvo pequeñas excepciones, tienen el siguiente orden de menor a mayor sensibilidad: heptacloro <  $\alpha$ -HCH-D6 < TCMX <  $\Delta$ -HCH <  $\alpha$ -HCH < epóxido de heptacloro < p,p'-DDE <  $\beta$ -HCH <  $\gamma$ -HCH < aldrín < dieldrín < p,p'-DDT < sulfato de endosulfán < metoxicloro < p,p'-DDD < endosulfán II < endrina < endosulfán I < aldehído de endrina. Siendo el heptacloro el compuesto con mayor sensibilidad y el aldehído de endrina el compuesto con menor sensibilidad.

En la práctica es imposible establecer un límite de detección “verdadero” para los analitos, debido a que siempre existe una incertidumbre sobre la validez de los resultados a estos niveles de concentración (Ripp, 1996). Por lo tanto es labor del analista decidir el método para determinar el LOD que mejor se adapte a las condiciones del análisis (Saadati *et al.*, 2013). Tras realizar esta comparativa se decidió optar por los métodos basados en el análisis de muestras fortificadas en niveles de concentración cercanos a cero ( $MDL_{(t99, n-1)}$ ,  $L_d$  y  $[S'_o] \cdot 3$ ) en particular se optó por el valor obtenido por el método  $L_d$ , debido a que ofrece una justificación robusta.

Se puede observar que el límite de detección es lo suficientemente bajo, como para usarlo como método de cribado para contaminación por plaguicidas (Herbert *et al.*, 2006a). El LOQ se calculó a partir del LOD, los valores obtenidos para cada compuesto se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Límite de cuantificación, intervalos de linealidad y precisión de los plaguicidas analizados.

<b>Compuesto</b>	<b>Intervalo lineal [ng/g]</b>	<b>Linealidad</b>	<b>Precisión</b>	<b>LOQ [ng/g]</b>
TCMX *	0.002-16	0.9968	6.46	0.47
$\alpha$ -HCH-D6 *	0.002-16	0.9972	9.01	0.46
$\alpha$ -HCH *	0.002-16	0.9961	9.67	0.65
$\beta$ -HCH	0.002-16	0.9841	13.79	0.97
$\Delta$ -HCH *	0.002-16	0.9974	9.74	0.65
$\gamma$ -HCH	0.002-16	0.9745	17.22	1.21
Heptacloro	0.002-16	0.9827	21.37	0.77
Aldrín *	0.002-16	0.9955	14.79	0.81
Epóxido de heptacloro	0.002-16	0.9795	18.81	0.97
Endosulfán I	0.002-16	0.7391	78.17	3.24
p,p'-DDE	0.002-16	0.9589	19.28	1.06
Dieldrín	0.002-16	0.9566	21.58	1.09
Endosulfán II	0.002-16	0.7998	29.00	0.13
Endrina	0.002-16	0.9436	27.78	2.88
p,p'-DDD	0.002-16	0.9474	25.69	2.69
Aldehído de endrina	0.002-16	0.8912	66.47	2.86
p,p'-DDT	0.002-16	0.9340	28.02	1.55
Sulfato de endosulfán	0.002-16	0.9140	39.64	1.68
Metoxicloro	0.002-16	0.9460	38.84	2.05
<b>Promedio</b>		<b>0.9439</b>	<b>26.07</b>	<b>1.31</b>

\*Compuestos que cumplen con los criterios de validación (EPA, 2014; Garrido Frenich y Martínez Vidal, 2006).

## 5.2.7 Recuperación y repetibilidad

La prueba de recuperación se realizó en primera instancia con el sedimento de referencia certificado New York/New Jersey 1944 (NIST, 2011). Este material no posee los 17 compuestos para los cuales se estableció el análisis y sólo se evaluó para los compuestos  $\alpha$ -HCH, p,p'-DDT, p,p'-DDE y p,p'-DDD. La recuperación de estos compuestos se cuantificó con una curva de calibración elaborada por HS-SPME (sección 4.6.2). Los resultados se muestran en la Tabla 15, donde podemos observar que sólo los compuestos p,p'-DDT y p,p'-DDD se encuentran dentro de los valores recomendados. Cabe mencionar que, a pesar de ser un material de referencia certificado la variabilidad de las concentraciones de plaguicidas va de un 13 a un 18%, lo cual contribuye a incrementar la variabilidad de los resultados y no poder establecer con exactitud el porcentaje de recuperación real de esta técnica. En la columna Recuperación promedio (Tabla 15) se calcula la recuperación comparada con el valor promedio de las concentraciones de plaguicidas en el sedimento de referencia; en la columna Intervalo de la recuperación (Tabla 15), se muestran los valores mínimos y máximos de la recuperación. Resulta importante señalar que no fue posible extraer el compuesto  $\alpha$ -HCH, del material de referencia certificado cuya concentración reportada es de  $2 \pm 0.3$  ng/g. Si bien se calculó un LOQ de 0.65 ng/g para el  $\alpha$ -HCH, y una linealidad ( $r^2$ ) de 0.996 en el intervalo de 0.65 a 16 ng/g, no fue posible detectar residuos de este compuesto, pese a que en muestras fortificadas se logró extraer en concentraciones más bajas. Una explicación puede ser que este compuesto se haya perdido en el material de referencia, debido a que inicialmente este compuesto ya se encontraba en una concentración muy baja. Otra explicación puede ser que las condiciones de extracción seleccionadas como óptimas, están fuera del intervalo óptimo para los compuestos de mayor volatilidad como el  $\alpha$ -HCH y su familia de isómeros (Sección 5.2.4, Figura 10). También es posible que el comportamiento del material de referencia certificado sea muy diferente al de las muestras fortificadas, en particular debido a que se encuentra adsorbido de forma natural a la matriz de sedimento por un tiempo mucho mayor. El proceso de extracción de muestras fortificadas no opera de la misma forma, el tiempo que el plaguicida está en contacto con la matriz de sedimento es mucho menor y el proceso no ocurre de forma natural, sino por la adición deliberada de los compuestos. De ser así, esto representa una desventaja para la técnica, dado que la extracción debería de realizarse para cada intervalo óptimo lo que duplicaría el esfuerzo y el número de extracciones realizadas.

Tabla 15. Concentraciones detectadas en el sedimento de referencia certificado New York/New Jersey 1944 (NIST, 2011).

Compuesto	Concentración reportada [ng/g]	Concentración determinada por HS-SPME [ng/g]	Recuperación promedio [%]	Intervalo de la recuperación [%]	RSD [%]
$\alpha$ -HCH	$2 \pm 0.3$	0	0	0	0
p,p'-DDT*	$170 \pm 32$	116	68	57-84	9.24
p,p'-DDE	$86 \pm 12$	29	33	39-29	11.30
p,p'-DDD*	$108 \pm 16$	124	114	100-134	12.66

---

Los resultados de la prueba de recuperación en las muestras enriquecidas de sedimento (sección 4.4.1), se muestran en la Tabla 16. En la concentración 1, el porcentaje de recuperación de los plaguicidas se encuentra entre los valores de 53.67% y de 246%, con una repetibilidad RSD de 5.59% a 122.83%. En el Intervalo 2, el porcentaje de recuperación de los plaguicidas se encuentra en el intervalo de 47.82% a 135.94%, con una RSD de 3.88% a 30.43%. En el Intervalo 3, el porcentaje de recuperación de los plaguicidas se encuentra en el intervalo de 18.18% a 162.73%, con una RSD de 4.12% a 52.03%.

Si bien el promedio total de la recuperación de los analitos es de 102.9%, y la precisión de 19.6%, no todos los compuestos se encontraron dentro de los límites recomendados. Sólo los compuestos TCMX,  $\alpha$ -HCH-D6,  $\beta$ -HCH,  $\Delta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, heptacloro, aldrín, epóxido de heptacloro, p,p'-DDE y dieldrín, se encontraron dentro los valores recomendados entre 70 y 120%; con una RSD  $\leq$  20% (FDA, 2001; SANCO, 2010; Thompson, Ellison, y Wood, 2002). Los compuestos restantes no cumplieron con los criterios recomendados, ya sea porque el porcentaje de recuperación no es suficiente, o porque su RSD posee un valor superior al 20%. En algunos casos, la RSD puede llegar hasta un 122%, en particular en el intervalo de concentraciones más bajo (Tabla 16). Es importante mencionar que se observó un comportamiento muy diferente en esta prueba, a comparación de lo observado en el proceso de optimización de la extracción realizado con el sedimento de referencia certificado. Por ejemplo, la variabilidad de los resultados fue menor que la observada en las pruebas de recuperación; lo cual puede explicarse porque en el sedimento de referencia certificado los plaguicidas se encuentran ligados a la matriz de forma natural y por un periodo prolongado de tiempo, desde 1944, año en el que este material fue colectado (NIST, 2011). Cuando se fortifican las muestras blanco de sedimento con la solución de estándar interno y surrogado, no se logra ligar los compuestos tan fuertemente a la matriz, como en el sedimento de referencia, debido a que no existe el mismo número de sitios activos a causa del bajo contenido de materia orgánica (0%), tampoco transcurre el tiempo suficiente como para que ocurra un proceso similar al que ocurriría con las muestras ambientales. Gao *et al.*, (1998) señala que entre 30 y 70% del total de los plaguicidas agregados a una matriz, se adsorben en las primeras cuatro horas, mientras que el resto se realiza de una forma muy lenta en un periodo muy largo de tiempo. Por lo tanto, la evaluación realizada podría dar una sobre valoración de la eficiencia de la extracción, de la misma forma que también elevará la variabilidad en las mediciones (Magnusson, 2014).

Tabla 16. Resultados de la prueba de recuperación en tres niveles de concentración.

Compuesto	Concentración 1		Concentración 2	
	RSD [%]	Rec [%]	RSD [%]	Rec [%]
TCMX*	5.59	112.71 ± 1.99	6.32	81.70 ± 2.31
α-HCH-D6*	7.25	107.80 ± 2.47	4.53	82.34 ± 1.67
α-HCH	7.34	106.20 ± 2.47	3.88	78.08 ± 1.35
β-HCH*	7.69	114.95 ± 2.80	10.48	82.16 ± 3.85
Δ-HCH	8.49	113.26 ± 3.04	8.07	78.33 ± 2.83
γ-HCH	9.89	118.06 ± 3.69	10.97	77.13 ± 3.79
Heptacloro	17.69	95.98 ± 5.37	14.39	47.82 ± 4.73
Aldrín*	9.46	99.77 ± 2.98	21.57	74.65 ± 3.53
Epóxido de heptacloro	8.35	103.94 ± 2.74	14.16	67.08 ± 4.25
Endosulfán I	122.83	53.67 ± 20.85	31.54	33.14 ± 4.68
p,p'-DDE	8.30	107.71 ± 2.83	18.02	62.29 ± 5.02
Dieldrín	7.32	108.28 ± 2.51	22.25	60.25 ± 6.00
Endosulfán II	16.35	203.19 ± 10.50	28.82	105.41 ± 13.58
Endrina	24.18	276.90 ± 21.17	23.15	111.53 ± 11.55
p,p'-DDD	12.62	246.35 ± 9.83	25.59	135.94 ± 15.56
Aldehído de endrina	120.49	195.17 ± 75.36	22.17	87.79 ± 11.85
p,p'-DDT	9.40	119.59 ± 3.56	30.43	75.75 ± 10.31
Sulfato de endosulfán	11.19	104.95 ± 3.71	27.92	81.36 ± 10.16
Metoxicloro	29.17	124.60 ± 11.49	27.18	94.88 ± 11.53
<b>Promedio</b>	<b>23.35</b>	<b>132.27</b>	<b>18.10</b>	<b>78.33</b>

\* Valores dentro de los límites aceptables, n=6 (FDA, 2001; SANCO, 2010; Thompson *et al.*, 2002). Intervalos evaluados disponibles en Anexo II, Tabla 19.

Tabla 17 (Continuación). Resultados de la prueba de recuperación en tres niveles de concentración.

Compuesto	Concentración 3		Promedio	
	RSD [%]	Rec [%]	RSD [%]	Rec [%]
TCMX*	4.12	92.13 ± 1.55	<b>5.34</b>	<b>95.51 ± 7.44</b>
α-HCH-D6*	6.40	107.91 ± 2.82	<b>6.06</b>	<b>99.35 ± 6.94</b>
α-HCH	7.56	162.73 ± 5.02	<b>6.26</b>	<b>115.67 ± 20.32</b>
β-HCH*	8.84	87.16 ± 3.14	<b>9.00</b>	<b>94.76 ± 8.313</b>
Δ-HCH	10.52	157.40 ± 6.76	<b>9.03</b>	<b>116.33 ± 18.68</b>
γ-HCH	7.76	55.27 ± 5.17	<b>9.54</b>	<b>83.48 ± 15.03.</b>
Heptacloro	9.07	100.17 ± 3.71	<b>13.71</b>	<b>81.32 ± 13.71</b>
Aldrín*	8.20	106.32 ± 3.56	<b>13.08</b>	<b>85.05 ± 14.77</b>
Epóxido de heptacloro	8.54	106.41 ± 3.71	<b>10.35</b>	<b>92.48 ± 10.39</b>
Endosulfán I	28.42	149.46 ± 17.34	<b>60.93</b>	<b>78.76 ± 29.27</b>
p,p'-DDE	10.47	89.54 ± 3.83	<b>12.26</b>	<b>86.51 ± 10.78</b>
Dieldrín	9.81	105.11 ± 4.21	<b>13.13</b>	<b>91.21 ± 12.66</b>
Endosulfán II	13.19	129.29 ± 6.96	<b>19.45</b>	<b>145.96 ± 24.03</b>
Endrina	18.75	73.96 ± 5.75	<b>22.03</b>	<b>154.13 ± 50.90</b>
p,p'-DDD	37.00	100.58 ± 15.19	<b>25.07</b>	<b>160.96 ± 35.84</b>
Aldehído de endrina	22.17	87.79 ± 7.95	<b>54.94</b>	<b>123.58 ± 29.22</b>
p,p'-DDT	35.68	94.37 ± 13.75	<b>25.17</b>	<b>96.57 ± 10.37</b>
Sulfato de endosulfán	23.79	18.18 ± 12.73	<b>20.97</b>	<b>68.16 ± 21.15</b>
Metoxicloro	52.03	37.66 ± 8.00	<b>36.13</b>	<b>85.71 ± 20.83</b>
<b>Promedio</b>	<b>18.00</b>	<b>93.29</b>	<b>19.60</b>	<b>102.92</b>

\* Valores dentro de los límites aceptables, n=6 (FDA, 2001; SANCO, 2010; Thompson *et al.*, 2002). Intervalos evaluados disponibles en Anexo II, Tabla 19.

### 5.3 Presencia de los plaguicidas organoclorados en sedimento

El método de extracción por HS-SPME, fue desarrollado para la detección de plaguicidas organoclorados en sedimentos de la cuenca del río Grande de Comitán. Se encontraron residuos de plaguicidas en la tres temporadas analizadas, los residuos se encontraron en cinco de los nueve sitios colectados, se detectaron tres plaguicidas en total: endosulfán I, sulfato de endosulfán y p,p'-DDD; en un intervalo de concentraciones entre 2.73 y 6.03 ng/g (peso seco). Se encontró la mayor cantidad de plaguicidas durante la temporada cálida secas 5MB, que corresponde al periodo de lluvias, donde la aplicación de agroquímicos y las escorrentías superficiales son mayores, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente

---

significativas de la presencia de plaguicidas entre las tres temporadas ni entre los sitios analizados.

En la temporada **4MB**, se encontraron residuos de endosulfán I en el sitio RG6 (3.93 ng/g) y sulfato de endosulfán en el sitio L1 (4.01 ng/g), lugar donde el río tiene su desembocadura y donde se depositan hasta 120,000 ton/año de sedimentos, producto de la erosión aguas arriba (Alvarado, 2017).

En la temporada **5MB**, se encontraron residuos de p,p'-DDD en el nacimiento del río RG0 (2.73 ng/g) y sulfato de endosulfán en el sitio RG1 (5.27 ng/g), se encontraron residuos de sulfato de endosulfán el sitio L1 (6.03 ng/g), esta es la concentración más alta que se encontró en este trabajo, que coincide en el sitio con mayor sedimentación y la temporada de lluvias que ocurre de junio a octubre.

En la temporada **6MB**, únicamente se encontraron residuos de endosulfán I en el sitio RG4 (4.62 ng/g).

El endosulfán y su metabolito el sulfato de endosulfán, fueron los compuestos que más se detectaron en las muestras analizadas. De acuerdo con CICOPLAFEST (2004), el endosulfán, al igual que el lindano ( $\gamma$ -HCH) y el metoxicloro, son los únicos plaguicidas organoclorados para los cuales su uso sigue siendo autorizado en México. Por lo tanto, la detección de este compuesto en el área de estudio puede deberse a su reciente aplicación en el sitio y no a su persistencia. El endosulfán grado técnico se compone de una mezcla de dos estereoisómeros, el endosulfán I, también llamado  $\alpha$ -endosulfán en una proporción del 70% y el endosulfán II o  $\beta$ -endosulfán en una proporción del 30%. El endosulfán I es el compuesto con mayor estabilidad de los dos, mientras que el endosulfán II gradualmente se convierte de forma irreversible en endosulfán I a temperatura ambiente, razón por la que se podría explicar por qué únicamente se encontró el isómero I en las muestras ambientales analizadas. La vida media del endosulfán puede ir de dos meses en humedales tropicales (Laabs, *et al.*, 2007) hasta seis años (IPAN, 2008), por lo que estos compuestos son clasificados como Contaminantes Orgánicos Persistentes ( $t_{1/2}$  acuática > 2 meses), (UNEP, 2009). El endosulfán I es también el isómero con mayor grado de toxicidad; en mamíferos la LD<sub>50</sub> del endosulfán I es de 76 mg/kg, a comparación de 340 mg/kg para el endosulfán II (Patocka *et al.*, 2016). Los efectos del endosulfán son aún más graves cuando este se encuentra disuelto en agua, en concentraciones por arriba de 0.3  $\mu$ g/mL empiezan a producirse mortandades de peces (IPAN, 2008).

El sulfato de endosulfán se origina por transformación biológica (Anexo II, Figura 21), cuando el ion sulfito del endosulfán I es oxidado principalmente por la acción microbiológica, para formar el ion sulfato, en un pH neutro y en ausencia de materia orgánica o de algún otro catalizador (Guerin, 2001; Walse, Scott, y Ferry, 2003). Este compuesto es el más abundante de los metabolitos del endosulfán y posee una vida media incluso mayor al endosulfán I y II (Sappington, Khan, y Steeger, 2007), lo cual lo hace un compuesto recalcitrante, sobre todo si se considera el efecto de “persistencia conjunta” (Fenner, Scheringer, y Hungerbühler, 2003) en el cual se considera la persistencia los plaguicidas y la de sus metabolitos, lo cual eleva considerablemente la persistencia ambiental y su toxicidad entre un 20 y 40% de las dosis (Weber *et al.*, 2010).

---

El p,p'-DDD es uno de los principales productos de la degradación del DDT, este metabolito se produce en condiciones anaeróbicas, posee características físicas y químicas, muy similares al DDT; como lipofilicidad, un proceso de secuestro muy fuerte con el carbono de la materia orgánica, una vida media de entre 10 y 15 años, que lo hace un compuesto altamente persistente en ambientes naturales, que le da la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse (Herrera-Portugal *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2011). La toxicidad del DDT y su uso como plaguicida agrícola fue muy amplio, en México ocurrió desde 1945 hasta 1990; desde entonces se le dio un uso restringido para el cual únicamente podía ser utilizado por las autoridades sanitarias para el control de la malaria. Desde 1998 este compuesto ha sido sustituido en algunas ocasiones por plaguicidas piretroides, sin embargo, el DDT sigue siendo aún el plaguicida más usado en estas campañas sanitarias (Díaz-Barriga y Borja-Aburto, 2003), esto podría explicar la presencia de metabolitos del DDT en sitios con muy poca actividad agrícola, como en el sitio RG0, el cual se ubica en la parte más alta de la cuenca y la zona más conservada en el área de estudio, en este lugar no existen actividades agrícolas importantes, por lo que la detección de este compuesto podría deberse a que ha sido utilizado para el control de la malaria. La relación entre p,p'-DDT / p,p'-DDE es comúnmente utilizada como un indicador del tiempo de aplicación del DDT, sin embargo, debido a que no se encontraron residuos de los compuestos DDE y DDT, no podemos concluir que el tiempo de aplicación, sin embargo, existen reportes sobre el posible ingreso de estos plaguicidas por la frontera sur con Guatemala (Alegria *et al.*, 2006)

En la Figura 11, se muestran los resultados de esta investigación, lo cuales coinciden con trabajos similares efectuados en el estado de Chiapas, por ejemplo: Hernández-Romero *et al.*, (2004), detectaron DDD y endosulfán I en concentraciones entre 247.9 y 814.5 ng/g en sedimentos de la laguna costera Pozuelos-Murillo. Castro-Castro (2002) encontró al sulfato de endosulfán como el plaguicida más frecuente y DDD como el plaguicida con las concentraciones más altas en sedimentos en la laguna Pampa El Cabildo, de la misma forma que Gonzalez (2000). En estos casos no se observa la presencia de DDT, pero sí de sus metabolitos. En ninguno de los casos se encuentra endosulfán II en las muestras analizadas (Hernández-Romero *et al.*, 2004).

Los resultados observados van de acuerdo con lo reportado por González-Farías *et al.*, (2002) en sedimentos de una laguna costera del norte del país, en los cuales el análisis de la relación del plaguicida y sus metabolitos, muestra que la relación del endosulfán I y sus metabolitos demuestra una reciente aplicación, mientras que para el DDT y sus metabolitos la relación indica una aplicación años atrás.

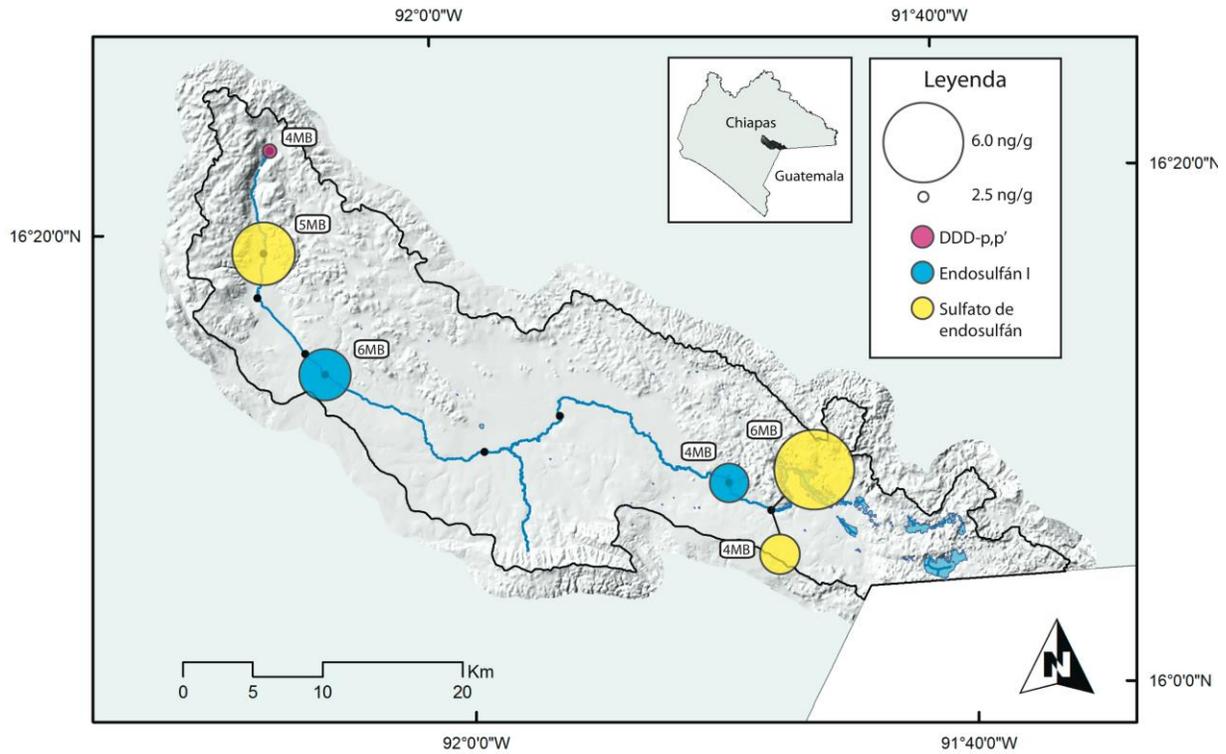


Figura 11. Presencia de los plaguicidas organoclorados en sedimentos de la cuenca del río Grande de Comitán, Chiapas.

En la Figura 12 se muestra un corte longitudinal del río Grande de Comitán, en la cual se puede observar el decremento en la pendiente del río a partir del sitio RG3, por lo que en los sitios RG4 y RG6 se esperaría una mayor concentración de los plaguicidas, debido a un mayor depósito de sedimentos ya que estos sitios se encuentran en áreas con gran cantidad de actividades agrícolas (Alvarado, 2017). Sin embargo, no se detectaron residuos de estos compuestos, solamente en los sitios aguas abajo RG5 y L1.

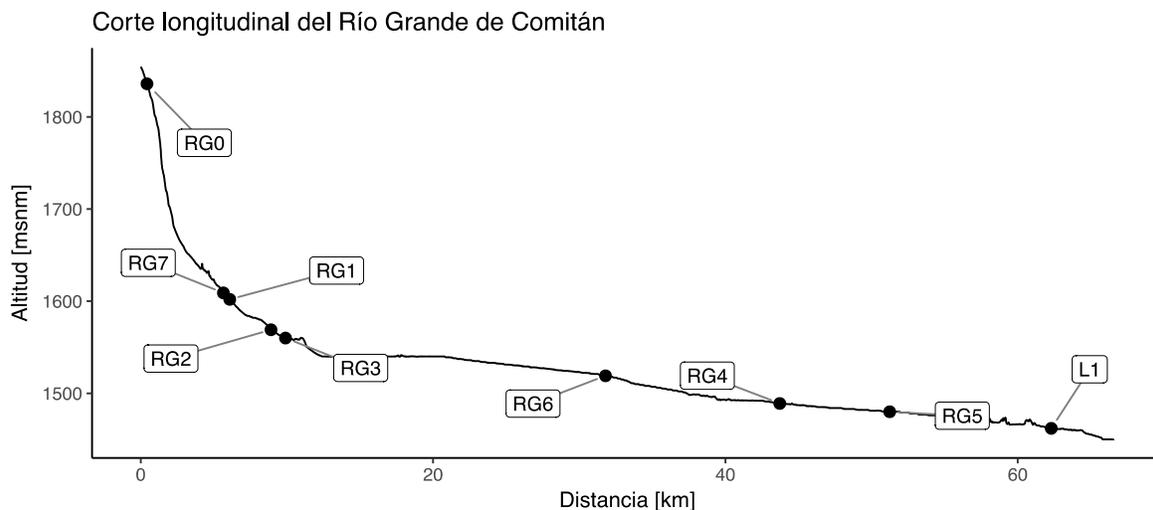


Figura 12. Ubicación de los puntos de muestreo en un corte longitudinal del río Grande de Comitán, Chiapas (elaboración propia, con datos vectoriales de INEGI, 2015b).

#### 5.4 Contenido de materia orgánica y cantidad de plaguicidas

El proceso de adsorción de plaguicidas al sedimento es complejo, existe una relación muy fuerte entre el contenido de materia orgánica en los sedimentos y su capacidad para adsorber compuestos no orgánicos. En sedimentos con contenido de materia orgánica superiores al 5%, el principal proceso de adsorción de los plaguicidas es por medio de la materia orgánica (Spark y Swift, 2002). Los sedimentos analizados poseen un contenido de materia orgánica en un intervalo entre 7.83% y 37.70%. Un contenido de materia orgánica en este intervalo puede dificultar la extracción de los plaguicidas, en particular, la de los compuestos con características hidrofóbicas, de acuerdo con Khan y Schnitzer (1972), 100 g de ácidos húmicos pueden retener hasta 2 g de compuestos hidrofóbicos por el proceso de adsorción. Por lo tanto la capacidad de adsorción de los sedimentos aumenta, a medida que el material húmico madura y se condensa molecularmente, en este proceso los grupos funcionales tienden a dividirse, incrementando su aromaticidad (Evans, Gill, y Robotham, 1990). Por lo tanto la cantidad de plaguicidas adsorbidos tiene una correlación inversamente proporcional a su solubilidad en agua y directamente proporcional al contenido de materia orgánica en el sedimento (Gao *et al.*, 1998). En la Figura 15 se muestra el contenido de materia orgánica calculado por medio de la técnica de LOI en los sitios de muestreo durante las tres temporadas. Cabe mencionar que esta técnica puede sobreestimar la cantidad de materia orgánica debido a (i) la remoción de H<sub>2</sub>O higroscópica, intercrystalina y de los minerales arcillosos, (ii) debido a la liberación de CO<sub>2</sub> proveniente de carbonatos CaCO<sub>3</sub> y CaMg(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, (iii) debido a la remoción de H<sub>2</sub>O en los grupos hidroxilo de los sesquióxidos y (iv) por la oxidación de C elemental como el del carbón vegetal (De Vos *et al.*, 2005). En la Figura 13 se observa el porcentaje de materia orgánica del sedimento colectado. Cabe mencionar la correspondencia que esos resultados tienen con otros trabajos realizados en la zona, de acuerdo con Barajas

(2017) en el sitio RG6 se puede observar que posee también los valores más bajos de los sitios estudiados en cuanto al contenido de carbono orgánico total (COT) en agua, a pesar de que este sitio se encuentra en la zona con mayor número de áreas de uso agrícola y una de las microcuencas con un mayor aporte de sedimentos de toda la cuenca del río Grande de Comitán (entre 3.31 y 9.08 ton/ha/año) (Alvarado, 2017).

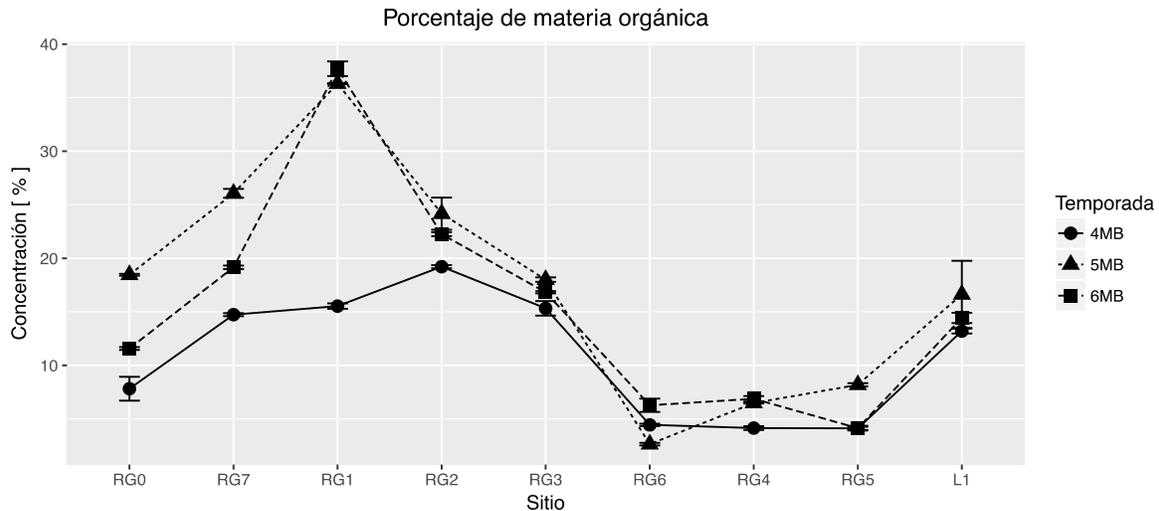


Figura 13. Porcentaje del contenido de materia orgánica de los sedimentos en la cuenca del río Grande de Comitán.

Se realizó una prueba de correlación de *Spearman* para evaluar si existe una correlación entre el contenido total de plaguicidas y el porcentaje de materia orgánica en las muestras. Las áreas de los plaguicidas detectados se sumaron para obtener el total de los plaguicidas por cada muestra y esta se probó contra el porcentaje de materia orgánica. En esta prueba no se encontró correlación alguna ( $r = 0.0066$ ,  $p\text{-value} = 0.9535$ ), los resultados de esta prueba se observan de manera gráfica en la Figura 14. Estas pruebas también se realizaron por temporada de muestreo y por sitio de muestreo, sin encontrar alguna correlación. Con estos resultados se puede apreciar que la presencia o ausencia de plaguicidas no depende del contenido de materia orgánica en el sedimento. Un alto contenido de materia orgánica eleva la probabilidad de detectar una mayor cantidad de plaguicidas, debido a que la materia orgánica provee de sitios en los cuales estos compuestos se pueden adsorber. Sin embargo, se detectaron plaguicidas en los sitios con el menor contenido de materia orgánica (RG6), así como en los sitios con el mayor contenido de materia orgánica (RG1), por lo que la detección de estos compuestos no está relacionada únicamente con la capacidad de adsorción que tiene cada sitio, debido al contenido de materia orgánica, sino que existen otras variables que intervienen en el proceso.

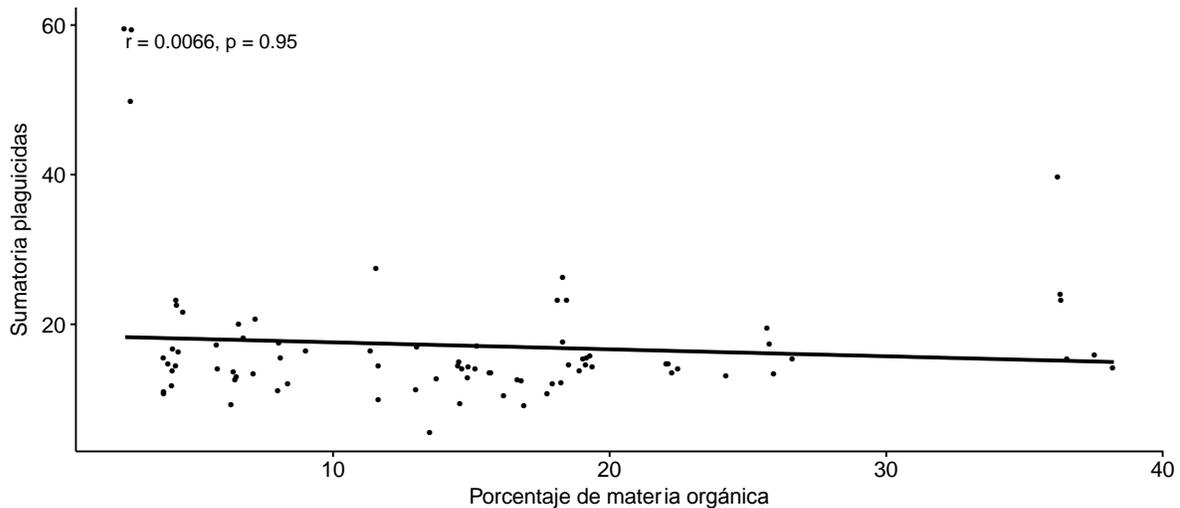


Figura 14. Correlación de *Spearman* entre el porcentaje de materia orgánica y la cantidad de plaguicidas en cada muestra.

Esta misma prueba también se utilizó para evaluar la adsorción del estándar interno y el sustituto a la materia orgánica de las muestras. A todas las muestras se les agregó la misma cantidad de estándar interno y de sustituto, sin embargo, la extracción de estos compuestos varió considerablemente en las muestras analizadas. Como se observa en la Figura 15, la extracción del TCMX varía en las muestras analizadas, como es el caso del sitio RG6, el cual es el sitio con el menor contenido de materia orgánica, pero también el sitio con el mayor promedio en la extracción del TCMX. Estos resultados podrían darnos una idea de que en este sitio no existen suficientes sitios activos que adsorban el compuesto y que por lo tanto esto daría como resultado una extracción muy alta (temporada 5MB). Sin embargo, estos datos no son consistentes al realizar la prueba de correlación de *Spearman*, no se encontró correlación entre estas dos variables ( $r = 0.0079$ ,  $p = 0.48$ ) (Figura 16). Los sitios RG4 y RG5 poseen niveles similares de contenido de materia orgánica que el sitio RG6 (Figura 13), sin embargo, la extracción del TCMX no es mayor en estos sitios, lo cual indica que, si bien la correlación entre la materia orgánica y la capacidad de adsorber los plaguicidas existe y está comprobada (van der Werf, Hayo M. G., 1996), al menos no es el proceso dominante en la adsorción de estos compuestos (Figura 16). Este mismo efecto se puede observar en el análisis entre la correlación entre el porcentaje de materia orgánica y la extracción del  $\alpha$ -HCH-D6 ( $r = -0.28$ ,  $p = 0.012$ ) (Figura 17).

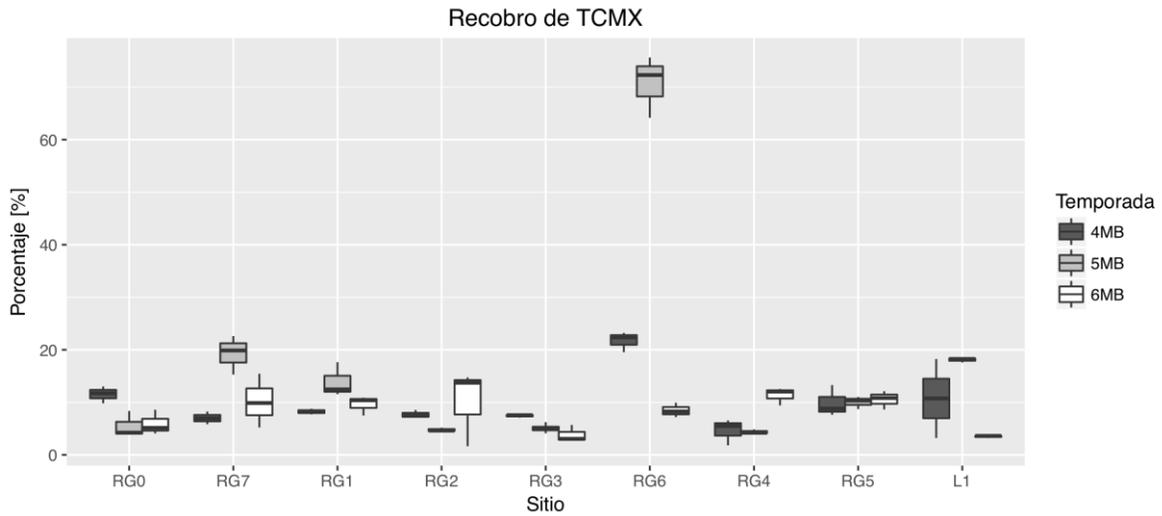


Figura 15. Extracción del surrogado TCMX adicionado a las muestras ambientales.

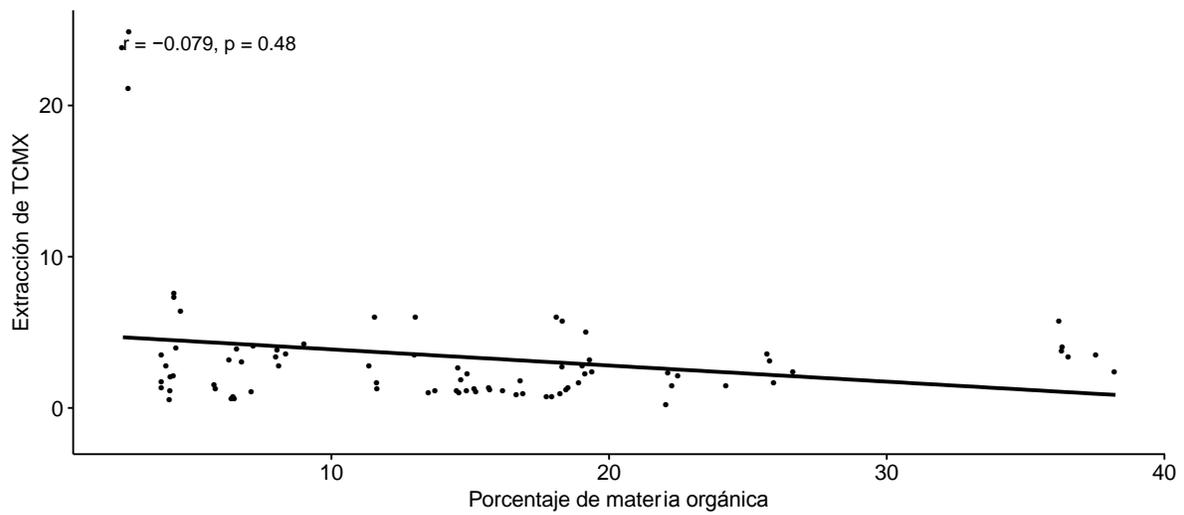


Figura 16. Correlación de *Spearman* entre el porcentaje de materia orgánica y la concentración de la extracción de TCMX en cada muestra [ng/g].

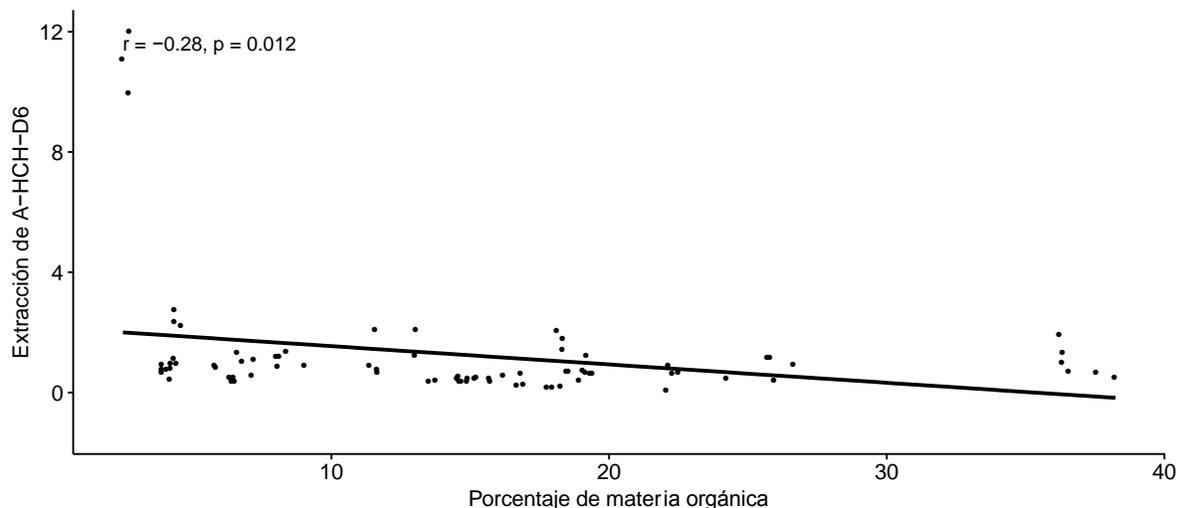


Figura 17. Correlación de *Spearman* entre el porcentaje de materia orgánica y la concentración de extracción del surrogado  $\alpha$ -HCH-D6 [ng/g].

Por medio de estos resultados, se verificó la capacidad del método para analizar muestras ambientales, también fue posible evaluar la capacidad de este método para analizar residuos de plaguicidas en niveles de concentración menores que el sedimento de referencia certificado. La implementación de este método ofreció resultados confiables sobre los procesos de contaminación ambiental por plaguicidas que ocurren en la cuenca del Río Grande de Comitán. En particular en un sistema que posee alta heterogeneidad, con aportes producto de la erosión del sistema kárstico, las actividades humanas y las características sedimentológicas del lugar (Sección 2.4).

## 5.5 Costos

En la Tabla 17 se muestra el análisis de costos realizado para la técnica de extracción HS-SPME y su comparación con otros métodos de extracción. Estos cálculos se realizaron sin incluir el costo del analista ni de otro tipo de gastos indirectos. En ésta se observa que a pesar del alto costo que tienen las fibras de SMPE, el costo del análisis se compensa con la cantidad de extracciones que se pueden realizar con cada fibra ( $n \approx 100$ ). Por lo que este método se encuentra en un intermedio entre el costo de la extracción asistida por microondas MAE-SPE y la extracción líquido líquido LLE.

---

Tabla 18. Costos por análisis de muestra bajo diferentes métodos de extracción

<b>Tipo de extracción</b>	<b>Costo (M.N.)</b>
LLE	\$18.98
MAE-SPE	\$56.31
HS-SPME	\$35.66
HF-LPME (un paso) <sup>1</sup>	\$1.44

<sup>1</sup>Marbán, 2014

---

## CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

- Se determinaron concentraciones de los plaguicidas organoclorados en las muestras de sedimento de la cuenca del río Grande de Comitán, la distribución espacio-temporal de los compuestos se encuentra ilustrada en la Figura 11.
- Se logró establecer un análisis MRM con el GC/MS-QQQ, lo cual implicó una gran cantidad de variables por controlar para poder establecer un análisis cualitativo y cuantitativo para los plaguicidas organoclorados del presente trabajo. Este método posee grandes ventajas, por ejemplo, determinar los compuestos en niveles de concentración muy bajos y una gran selectividad en los compuestos a analizar. La identidad de los compuestos se comprobó de tres formas: analizando el tiempo de retención (TR), la prevalencia de los iones principales del compuesto y las transiciones entre los iones precursores y los iones productos a determinadas energías de colisión.
- La técnica HS-SPME cumplió con los criterios de validación sólo para cinco de los 19 compuestos estudiados. Los compuestos TCMX,  $\alpha$ -HCH-D6,  $\alpha$ -HCH,  $\Delta$ -HCH y aldrín tuvieron un RSD  $\leq 20\%$ , una linealidad con coeficientes de correlación superiores a 0.995, un LOD de hasta 0.00047  $\mu\text{g/L}$  y una recuperación superior al 85.05%. Las señales obtenidas mediante el análisis por GC, fueron simétricas y de resolución mayor a 3. Aún cuando el método tiene varias deficiencias, comparado con métodos más robustos, como son SPE y MAE-SPE; en particular al establecer un análisis cuantitativo con curvas de calibración realizadas con el método completo de extracción; el método aquí propuesto es una buena alternativa a las técnicas convencionales, en particular por la rapidez, el bajo consumo de reactivos y el grado de automatización que posee, por lo que puede ser utilizado como un método rápido en el análisis cualitativo y cuantitativo de plaguicidas organoclorados en matrices complejas.
- Se encontraron residuos de plaguicidas organoclorados en el 22.22% de las muestras de sedimento analizadas. La distribución espacio temporal y los valores de concentración determinados no constituyen ningún riesgo a la salud pública, tampoco superan los valores recomendados para la conservación de la vida acuática.
- Se determinó el contenido de materia orgánica mediante la técnica de LOI, obteniendo valores en los intervalos entre el 2.65 y el 37.69%, los sitios con contenido más bajo de materia orgánica se encontraron en la zona media del río, (RG6, RG4 y RG5). En las pruebas estadísticas realizadas no se encontró relación alguna entre el contenido de materia orgánica y la presencia de los plaguicidas. Tampoco se encontró correlación entre el contenido de materia orgánica y la adsorción del ISTD y el surrogado.
- El endosulfán es el único plaguicida detectado cuyo uso no se encuentra prohibido en México (DOF, 1991; IPAN, 2008). Sin embargo, sí lo es en más de 55 países alrededor del mundo. Se encontró evidencia de su reciente aplicación en la zona, ya sea por la detección del compuesto o uno de sus metabolitos. De los plaguicidas detectados el

---

endosulfán estuvo presente en el 86% de las veces en las muestras ambientales.

- La técnica de extracción HS-SPME, en combinación con el método de análisis MRM realizado por medio de un GC/MS-QQQ, ofrece ventajas considerables que la hacen viable como una alternativa de análisis rápido y confiable de plaguicidas semi volátiles en sedimento. El análisis por este método ha demostrado estar a la par con otras técnicas de extracción en cuanto al límite de detección y su capacidad para establecer un análisis cuantitativo. La implementación de este método es también viable desde el punto de vista económico, pues a pesar de que el costo de las fibras de SPME es alto, el costo total del análisis disminuye por la cantidad de extracciones que se pueden realizar con una misma fibra, además del ahorro que se produce al no necesitar disolventes o algún otro implemento. Una de las características más notables de este método es la de su simpleza, la cual es posible que permita realizar extracciones exitosas sin alguna modificación especial en diferentes tipos de matrices ambientales, como pueden ser: suelo, vegetales o tejidos animales; siempre y cuando se mantenga la condición de haberlos liofilizado previamente. Existe una gran cantidad de aspectos de este método que aún se pueden explorar en futuros trabajos, por ejemplo: la capacidad que este tiene para extraer una mayor diversidad de compuestos, en particular, las de de compuestos volátiles o semi volátiles además de los plaguicidas organoclorados, tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y policlorobifenilos (PCB), los cuales actualmente son de gran relevancia y de interés ambiental, debido a su persistencia, bioacumulación y su capacidad para comportarse como disruptores endócrinos. Sin embargo, pese a todas las ventajas que la técnica propuesta en este trabajo ofrece, existen aún dudas por explorar; en particular en torno al establecimiento de un análisis cuantitativo, debido a que no siempre se reporta en la bibliografía la forma específica en que se realizó. Otro aspecto que resulta interesante de explorar, es el papel que juega la materia orgánica y las características sedimentológicas en los procesos de adsorción y conocer más a fondo el tipo de relación que existe entre la materia orgánica y los procesos de adsorción de estos contaminantes orgánicos.

---

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdulra'uf, L. B., y Tan, G. H. (2015). Chemometric approach to the optimization of HS-SPME / GC – MS for the determination of multiclass pesticide residues in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 177, 267–273.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.031>
- Ahmed, F. E. (2001). Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks, *Trends in Analytical Chemistry* 20(11), 649–661.
- Alcántara, V. (2013). *Caracterización y diagnóstico de la contaminación por plaguicidas en el Lago de Xochimilco*. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias de la Tierra. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Alegria, H., Bidleman, T. F., y Figueroa, M. S. (2006). Organochlorine pesticides in the ambient air of Chiapas, Mexico. *Environmental Pollution* 140(3), 483–491.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.007>
- Alvarado, J. (2017). *Evaluación del transporte de sedimentos y la calidad del agua, utilizando SWAT, en el río Grande de Comitán, Chiapas*. Tesis de Maestría Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Alvarado Velázquez, J. (2015). *Evaluación espacial de la contaminación en la cuenca del río Grande de Comitán, Chiapas*. Tesis de Licenciatura Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *Standard Methods*, (17 Ed), American Public Health Organization, Washington, EUA. <https://doi.org/ISBN 9780875532356>
- Arthur, C. L., y Pawliszyn, J. (1990). Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry* 19(62), 2145–2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>
- Barajas, F. (2017). *Análisis de nutrientes en río, pozos y norias de la cuenca del Río Grande de Comitán, Chiapas, México*. Tesis de Licenciatura Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Basheer, C., Lee, H. K., y Obbard, J. P. (2002). Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography – mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 968, 191–199.
- British Crop Production Council. (2014). *The Pesticide Manual*. (C. MacBean, Ed.), *Flyer* (16 Ed.) British Crop Production Council, Hampshire, RU.
- Bernal, E. (2014). Limit of detection and Limit of Quantification Determination in Gas Chromatography. In G. Xinghua (Ed.), *Advances in Gas Chromatography* Cap. 3 (p. 222). InTech. Rijeka, Croacia.
- Bernal, M., Jara, A., y Zavala, J. (2012). Contaminación por plaguicidas. En R. Pérez y A. Aguilar (Eds.), *Agricultura y Contaminación del Agua*, Instituto de Investigaciones Económicas. Ciudad de México, México.
- Bouwman, H., van den Berg, H., y Kylin, H. (2011). DDT and malaria prevention: Addressing the paradox. *Environmental Health Perspectives* 119(6), 744–747.

- 
- <https://doi.org/10.1289/ehp.1002127>
- Cai, L., Xing, J., Dong, L., y Wu, C. (2003). Application of polyphenylmethylsiloxane coated fiber for solid-phase microextraction combined with microwave-assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in Chinese teas. *Journal of Chromatography A* 1015(1–2), 11–21. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01328-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01328-1)
- Campa, M. F., y Coney, P. (1983). Tectono-stratigraphic terrane and mineral resource distributions in Mexico. *Canadian Journal of Earth Sciences* 20(6), 1040–1051.
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48–60. <https://doi.org/10.1002/fes3.108>
- Carvalho, P. N., Rodrigues, P. N. R., Alves, F., Evangelista, R., Basto, M. C. P., y Vasconcelos, M. T. S. D. (2008). An expeditious method for the determination of organochlorine pesticides residues in estuarine sediments using microwave assisted pre-extraction and automated headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 76(5), 1124–1129. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.035>
- Castro-Castro, V. (2002). *Contaminación por plaguicidas organoclorados en la Laguna Pampa El Cabildo, Chiapas, y su efecto tóxico en postlarvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei)*. Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural. El Colegio de la Frontera Sur. México.
- Comisión Federal de Electricidad. (2012). *Estudio para conocer la calidad del agua de las lagunas de Montebello, Chiapas*. Tomo II Geohidrología, México 196 pp.
- Chang, S.-M., y Doong, R.-A. (2006). Concentration and fate of persistent organochlorine pesticides in estuarine sediments using headspace solid-phase microextraction. *Chemosphere* 62(11), 1869–1878. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.023>
- Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas y Substancias Tóxicas. (2004). *Catálogo Oficial de Plaguicidas*, México, 4–48.
- Codex Committee on Pesticide Residues, Food and Agriculture Organization, World Health Organization (2010). *Directrices sobre buenas prácticas de laboratorio en el análisis de residuos de plaguicidas CAC/GL 40-1993*.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (2007). *Programa de Conservación y Manejo Parque Nacional Lagunas de Montebello*. SEMARNAT, Ciudad de México, México.
- Currie, L. A. (1995). Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure & Applied Chemistry* 67(10), 1699–1723. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00104-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00104-X)
- da Silva, G. A., Augusto, F., y Poppi, R. J. (2007). Simultaneous optimization by neuro-genetic approach of a multiresidue method for determination of pesticides in *Passiflora alata* infuses using headspace solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 1138(1–2), 251–261. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.075>
- De Vos, B., Vandecasteele, B., Deckers, J., y Muys, B. (2005). Capability of loss-on-ignition as a predictor of total organic carbon in non-calcareous forest soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 36(19–20), 2899–2921. <https://doi.org/10.1080/00103620500306080>
- Dean, W. E. (1974). *Determination of Carbonate and Organic Matter in Calcareous*

- 
- Sediments and Sedimentary Rocks by Loss on Ignition: Comparisson With Other Methods. *Journal of Sedimentary Petrology* 44(1), 242–248.
- Díaz-Barriga, F., y Borja-Aburto, V, Waliszewski S., Yáñez L. (2003). DDT in Mexico. En Fiedler H (eds). *Persistent Organic Pollutants*. The Handbook of Environmental Chemistry (Vol. 3 Series: Anthropogenic Compounds), 30. Springer, Berlin, Alemania. [https://doi.org/10.1007/10751132\\_14](https://doi.org/10.1007/10751132_14)
- Dierksmeier, G. (2000). *Plaguicidas. Residuos, efectos y presencia en el medio*. R. Barnet, (Ed.). Editorial Científico-Técnica. La Habana, Cuba.
- Diario Oficial de la Federación. (1991). RELACION de plaguicidas prohibidos para su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso en México. Diario Oficial de la Federación. México.  
[http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4697687&fecha=03/01/1991](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4697687&fecha=03/01/1991)
- DOF. (2000). NOM-127-SSA1-1994 "Salud Ambiental, Agua para Uso y Consumo Humano-Limites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe someterse el Agua para su Potabilización, Control. Diario Oficial de la Federación. México  
[www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html](http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html)
- DOF. (2011). Ley Federal de Sanidad Vegetal. Diario Oficial de la Federación, México.  
<http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/117.pdf>
- DOF. (2012). Ley de Desarrollo Rural Sustentable. Diario Oficial de la Federación, México. <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/235.pdf>
- DOF. (2012). Ley Federal de Sanidad Animal. Diario Oficial de la Federación, México.  
<http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LFSA.pdf>
- DOF. (2014). Decreto por el que se reforman, adicionan y derogan diversas disposiciones del Reglamento en Materia de Registros, Autorizaciones de Importación y Exportación y Certificados de Exportación de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y Sustancias y Materiales Tóxicos. Diario Oficial de la Federación, México.  
[http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5332473&fecha=13/02/2014&print=true](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5332473&fecha=13/02/2014&print=true)
- DOF. (2015) Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Diario Oficial de la Federación, México.  
<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/148.pdf>
- DOF. (2017). Ley General de Salud Diario. Oficial de la Federación, México.  
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Dong, C., Zeng, Z., y Yang, M. (2005). Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD. *Water Research* 39(17), 4204–4210.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.08.004>
- Doong, R. A., y Liao, P. L. (2001). Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil samples using headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 918(1), 177–188. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00740-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00740-3)
- Durán Calderón, J. I. (2013). *Análisis Geomorfológico del Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Ecobichon, D. J. (2001). Pesticide use in developing countries. *Environmental Health Perspectives* 160, 27–33. <https://doi.org/10.2307/3434166>
- Environmental Protection Agency. (2012). Code of Federal Regulation 40 Ch 1 (7-1-11 Ed)

- 
- Environmental Protection Agency, Washington DC.
- EPA. (2014). *Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/Chemical Methods* (3 Ed). EPA publication SW-846. Washington, DC.
- Evans, K., Gill, R., y Robotham, P. (1990). The PAH and organic content of sediment particle size fractions. *Water, Air, and Soil Pollution* 51, 13–31.
- Food and Drug Administration. (2001). Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. *U.S. Department of Health and Human Services*, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Ch 4–10. Silver Spring, EUA. <https://doi.org/http://www.labcompliance.de/documents/FDA/FDA-Others/Laboratory/f-507-bioanalytical-4252fml.pdf>
- Fenner, K., Scheringer, M., y Hungerbühler, K. (2003). Joint persistence of transformation products in chemicals assessment: Case studies and uncertainty analysis. *Risk Analysis* 23(1), 35–53. <https://doi.org/10.1111/1539-6924.00288>
- Flores-Ramírez, R., Ortiz-Pérez, M. D., Batres-Esquivel, L., Castillo, C. G., Ilizaliturri-Hernández, C. A., y Díaz-Barriga, F. (2014). Rapid analysis of persistent organic pollutants by solid phase microextraction in serum samples. *Talanta* 123, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.023>
- Gao, J. P., Maguhn, J., Spitzauer, P., y Kettrup, A. (1998). Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany). I: Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. *Water Research* 32(5), 1662–1672. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00377-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00377-1)
- Garrido Frenich, A., y Martínez Vidal, J. (Eds.). (2006). *Pesticide Protocols*. Totowa NJ: Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1385/159259929X>
- Gilliom, R. J., Barbash, J. E., Crawford, C. G., Hamilton, P. , Martin, J. D., Nakagaki, N., Wolock, D. M. (2006). *Pesticides in the Nation's Streams and Groundwater, 1992–2001*: U.S Geological Survey. Circular 1291. Reston, EUA. <http://pubs.usgs.gov/circ/2005/1291/pdf/circ1291.pdf>
- Gonçalves, C., y Alpendurada, M. F. (2004). Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. *Journal of Chromatography A* 1026(1–2), 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.117>
- González-Farías, F., Cisneros Estrada, X., Fuentes Ruíz, C., Díaz González, G., y Botello, A. V. (2002). Pesticides distribution in sediments of a tropical coastal lagoon adjacent to an irrigation district in northwest Mexico. *Environmental Technology*, 23(11), 1247–1256. RU. <https://doi.org/10.1080/09593332308618323>
- González, L. (2000). *Características fisicoquímicas y evaluación de plaguicidas organoclorados en la Laguna Pampa el Cabildo, Chiapas*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chiapas. México.
- Guerin, T. F. (2001). A biological loss of endosulfan and related chlorinated organic compounds from aqueous systems in the presence and absence of oxygen. *Environmental Pollution (Barking, Essex 1987)*, 115(2), 219–230. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00112-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00112-9)
- Hart, K., y Pimentel, D. (2002). Encyclopedia of Pest Management. En D. Pimentel (Ed.), *Encyclopedia of Pest Management* (pp. 677–679). Marcel Dekker. New York, NY.
- Heiri, O., Lotter, A., y Lemcke, G. (2001). Loss on Ignition as a method for estimating

- 
- organic and carbonate content in sediments : reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology* 25, 101–110. <https://doi.org/10.1023/A>
- Herbert, P., Morais, S., Paíga, P., Alves, A., y Santos, L. (2006a). Analysis of PCBs in soils and sediments by microwave-assisted extraction, headspace-SPME and high resolution gas chromatography with ion-trap tandem mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 86(6), 391–400. <https://doi.org/10.1080/03067310500352346>
- Herbert, P., Morais, S., Paíga, P., Alves, A., y Santos, L. (2006b). Development and validation of a novel method for the analysis of chlorinated pesticides in soils using microwave-assisted extraction-headspace solid phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 384(3), 810–816. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0211-6>
- Herbert, P., Silva, A. L., João, M. J., Santos, L., y Alves, A. (2006). Determination of semi-volatile priority pollutants in landfill leachates and sediments using microwave-assisted headspace solid-phase microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386(3), 324–331. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0632-x>
- Hernández-Romero, A. H., Tovilla-Hernández, C., Malo, E. A., y Bello-Mendoza, R. (2004). Water quality and presence of pesticides in a tropical coastal wetland in southern Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 48(11–12), 1130–1141. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.01.003>
- Hernández, F., Pitarch, E., Beltran, J., y López, F. J. (2002). Headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and tandem mass spectrometry for the determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in whole human blood. *Journal of Chromatography B* 769(1), 65–77. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(01\)00627-4](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(01)00627-4)
- Herrera-Portugal, C., Ochoa, H., Franco-Sánchez, G., Yáñez, L., y Díaz-Barriga, F. (2005). Environmental pathways of exposure to DDT for children living in a malarious area of Chiapas, Mexico. *Environmental Research* 99(2), 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.03.010>
- Ho, W. H., y Hsieh, S. J. (2001). Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants. *Analytica Chimica Acta* 428(1), 111–120. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)01219-8](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)01219-8)
- Hoff, V. Der, Zoonen, P. Van, y Rene, G. (1999). Trace analysis of pesticides by gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 843, 301–322.
- Hoogsteen, M. J. J., Lantinga, E. A., Bakker, E. J., Groot, J. C. J., y Tittonell, P. A. (2015). Estimating soil organic carbon through loss on ignition: Effects of ignition conditions and structural water loss. *European Journal of Soil Science* 66(2), 320–328. <https://doi.org/10.1111/ejss.12224>
- Hou, L., Shen, G., y Lee, H. K. (2003). Automated hollow fiber-protected dynamic liquid-phase microextraction of pesticides for gas chromatography – mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A*, 985, 107–116.
- Instituto Nacional de Estadística y GeografíaI. (2010). Censo de población y vivienda. [www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx](http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx)
- INEGI. (2015a). Recursos Naturales Datos Vectoriales 1:250,000 serie V. <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/usuarios/Default.aspx>
- INEGI. (2015b). Red Hidrográfica escala 1:50,000 edición 2.0.

- 
- [www.inegi.org.mx/geo/contenidos/recnat/hidrologia/Descarga.aspx](http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/recnat/hidrologia/Descarga.aspx)
- International Pesticide Action Network. (2008). Information for the consideration of Endosulfan Provision of information to the Stockholm Convention Secretariat for use by the POPs Review Committee ( POPRC ), Endosulfan Fact Sheet 1(ii) 46, Londres, RU.
- Khan, S. y Schnitzer, M. (1972). The retention of hydrophobic organic compounds by humic acid. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 36(7), 745–754.  
[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(72\)90085-3](https://doi.org/10.1016/0016-7037(72)90085-3)
- Kin, C. M. (2008). *Development and validation of a Solid Phase Microextraction method for simultaneous determination of pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography*. Tesis de doctorado. University of Malaya. Kuala Lumpur, Malasia.
- Laabs, V., Wehrhan, A., Pinto, A., Dores, E., y Amelung, W. (2007). Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. *Chemosphere* 67(5), 975–989. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.067>
- Lambropoulou, D. A., y Albanis, T. A. (2007). Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 70(2), 195–228. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.10.004>
- Lambropoulou, D. A., Konstantinou, I. K., y Albanis, T. A. (2007). Recent developments in headspace microextraction techniques for the analysis of environmental contaminants in different matrices. *Journal of Chromatography A* 1152(1–2), 70–96.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.094>
- Lee, J., Lee, H. K., Rasmussen, K. E., y Pedersen-Bjergaard, S. (2008). Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review. *Analytica Chimica Acta* 624(2), 253–268.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.06.050>
- Li, H. H.-P., Li, G.-C. G., y Jen, J. J.-F. (2003). Determination of organochlorine pesticides in water using microwave assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 1012(2), 129–137.  
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00916-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00916-6)
- Magnusson, O. (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Eurachem Guide.  
<https://doi.org/978-91-87461-59-0>
- Marbán, L.A. (2014). Determinación de clenbuterol en hígado de bovino utilizando técnicas de microextracción y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS). Tesis de Licenciatura (Químico en Alimentos) Facultad de Química Universidad Nacional Autónoma de México.
- Merck. (2001). *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. (M. O’Neil, Ed.) (Treceava edición). Merck Research Laboratories. Whitehouse Station, NJ.
- Mineau, P., Fletcher, M., Glaser, L., Thomas, N., Brassard, C., Wilson, L. Porter, S. (1999). Poisoning of Raptors with organophosphorous and carbamate pesticides with emphasis on Canada, U.S. and U.K. *Journal of Raptor Research* 33(1), 1–37.
- Mrema, E. J., Rubino, F. M., Brambilla, G., Moretto, A., Tsatsakis, A. M., y Colosio, C. (2013). Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology* 307, 74–88. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.11.015>
- Mukherjee, I., y Gopal, M. (1996). Chromatographic techniques in the analysis of

- 
- organochlorine pesticide residues. *Journal of Chromatography. A* 754(1–2), 33–42. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(96\)00426-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(96)00426-8)
- Muñoz Piña, C., y Ávila Forcada, S. (2005). Los efectos de un impuesto ambiental a los plaguicidas en México. *Gaceta Ecológica* 74, 33–42.
- National Research Council. (2003). *Frontiers in Agricultural research: Food, Health, Environment and Communities*. Washington, DC. <https://www.nap.edu/read/10585/chapter/5#61>
- National Institute of Standards and Technology. (2011). *Certificate of Analysis Standard Reference Material 1944 New York/New Jersey Waterway sediment*. Gaithersburg, MD.
- International Standards Organization. (2017). *14688-1 Geotechnical investigation and testing - Identification and classification of soil* (Vol. 2006) Génova, Suiza
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Informe Mundial sobre el Paludismos 2016-Puntos Clave* (Vol. 5) Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. [https://doi.org/10.1016/S1696-2818\(09\)73201-9](https://doi.org/10.1016/S1696-2818(09)73201-9)
- Ongley, E. D. (1997). *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje - 55)*. Food and Agriculture Organization. Burlington, Canadá.
- Ortíz, I., Avila-Chávez, M. A., y Torres, L. G. (2013). Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal* 4(1), 3. <https://doi.org/10.7603/s40682-013-0003-1>
- Ospina, M. P., Powell, D. H., y Yost, R. A. (2003). Internal energy deposition in chemical ionization/tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 14(2) 102–109. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(02\)00814-0](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(02)00814-0)
- Ouyang, R. G., y Pawliszyn, J. (2006). SPME in environmental analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386, 1059–1073. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0460-z>
- Ozcan, S., Tor, A., y Aydin, M. E. (2009). Application of ultrasound-assisted emulsification-micro-extraction for the analysis of organochlorine pesticides in waters. *Water Research* 43(17), 4269–4277. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.06.024>
- Patocka, J., Qinghua, W., França, T., Ramalho, T., Pita, R., y Kuca, K. (2016). Clinical aspects of the poisoning by the pesticide endosulfan. *Química Nova* 39(8), 987–994.
- Paula Barros, E., Moreira, N., Elias Pereira, G., Leite, S. G. F., Moraes Rezende, C., y Guedes De Pinho, P. (2012). Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-ion trap/mass spectrometry method for analysis of volatiles in wines. *Talanta* 101, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.08.028>
- Pawliszyn, J., Pawliszyn, B., y Pawliszyn, M. (1997). Solid Phase Microextraction (SPME). *The Chemical Educator* 2(4), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00897970137a>
- Pérez, R., y Aguilar, A. (2012). *Agricultura y contaminación del agua*. Instituto de Investigaciones Económicas UNAM. Ciudad de México, México.
- 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 of Biochemical and Biophysical Methods* 70, 117–131. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.10.010>
- Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States In Integrated Pest Management: Innovation-Development Process. *Environment, Development and Sustainability* 7, 229–252.

- 
- [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3_4)
- Pimentel, D., y Burgess, M. (Eds.). *Integrated Pest Management Pesticide Problems Vol. 3.* (2014) (p. 474). Springer. Dordrecht, Holanda.
- Pimentel, D., y Levitan, L. (1986). Pesticides: mounts applied and amounts reaching pests. *Bioscience* 36(2), 86–91. <https://doi.org/10.2307/1310108>
- Pimentel, D., Mclaughlin, L., Zepp, A., Lakitan, B., Kraus, T., Kleinman, P. y Selig, G. (1991). Environmental and Economic Effects of Reducing Pesticide Use, *BioScience* 41(6), 402–409.
- Ripp, J. (1996). Analytical Detection Limit Guidance & Laboratory Guide for Determining Method Detection Limits, Wisconsin Department of Natural Resources Laboratory Certification Program. Madison, WI. <http://www.dnr.state.wi.us>
- Saadati, N., Abdullah, M. P., Zakaria, Z., Sany, S. B. T., Rezayi, M., y Hassonizadeh, H. (2013). Limit of Detection and Limit of Quantification Development Procedures for Organochlorine Pesticides Analysis in Water and Sediment Matrices. *Chemistry Central Journal* 7(1), 63. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-63>
- Sánchez-Montes de Oca, R. (1979). Geología petrolera de la Sierra de Chiapas. *Boletín de la Asociación Mexicana de Geólogos Petroleros* 31, 67–97.
- SANCO. (2010). Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. SANCO/2007/3131. Bruselas, Bélgica.
- Santos, F. J., Sarrion, M. N., y Galceran, M. T. (1997). Analysis of chlorobenzenes in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 771(1–2), 181–189. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)00132-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(97)00132-5)
- Sappington, K., Khan, F., y Steeger, T. (2007). *Addendum to the Ecological Risk Assessment of Endosulfan*. United States Environmental Protection Agency. Washington DC, EUA.
- Schreinemachers, P., y Tipraqsa, P. (2012). Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. *Food Policy* 37(6), 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.003>
- Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Lista de compuestos que estarán sujetos a monitoreo por especie (2016). México. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/128437/2-Listadodecompuestossujetosamonitoreo.pdf>
- Shen, G., y Lee, H. K. (2003). Determination of triazines in soil by microwave-assisted extraction followed by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 985(1–2), 167–174. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01222-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01222-0)
- Spark, K. M., y Swift, R. (2002). Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *The Science of the Total Environment* 298(1–3), 147–161.
- Swinnerton, J. W., Linnenbom, V. J., & Cheek, C. H. (1962). Determination of Dissolved Gases in Aqueous Solutions by Gas Chromatography. *Analytical Chemistry*, 34(2), 483–485. <https://doi.org/10.1021/ac60184a010>
- Thompson, M., Ellison, S. L. R., y Wood, R. (2002). Harmonized Guidelines For Single-Laboratory Validation Of Methods Of Analysis. *Pure And Applied Chemistry* 74(5) 835-855.
- Tsutsumi, T., Sakamoto, M., y Kataoka, H. (1997). Automated Headspace Solid-Phase

- 
- Microextraction and Gas Chromatography – Mass Spectrometry for Screening and Determination of Multiclass Pesticides in Water. In J. Martinez Vidal y A. Garrido Frenich (Eds.), *Methods in Biotechnology*, pp. 343–364. Humana Press Inc. Totowa, NJ.
- United Nations Environment Programme. (2009). Stockholm Convention On Persistent Organic Pollutants (Pops) Text and Annexes. *United Nations Environment Programme*. Secretariat of the Stockholm Convention. Ginebra, Suiza  
<http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-2009.En.pdf>
- United States Environmental Protection Agency. (2016). Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Pub. L. No. EPA-821-R16-006, 8. USEPA. Washington, DC. Retrieved from [www.epa.gov/cwa-methods](http://www.epa.gov/cwa-methods)
- van der Werf, Hayo M. G. (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 60, 81–96.
- Vega Moreno, D., Sosa Ferrera, Z., y Santana Rodríguez, J. J. (2006). Microwave assisted micellar extraction coupled with solid phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in soil samples. *Analytica Chimica Acta* 571(1), 51–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.04.046>
- Walse, S., Scott, G., y Ferry, J. (2003). Stereoselective degradation of aqueous endosulfan in modular estuarine mesocosms: formation of endosulfan  $\gamma$ -hydroxycarboxylate. *Journal of Environmental Monitoring* 5(3), 373–379.  
<https://doi.org/10.1039/B212165D>
- Weber, J., Halsall, C. J., Muir, D., Teixeira, C., Small, J., Solomon, K., Hermanson M., Hung H. y Bidleman, T. (2010). Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Science of the Total Environment* 408(15), 2966–2984. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.077>
- World Health Organization. (1997). Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues. World Health Organization. Ginebra, Suiza.  
[http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/pesticide\\_en.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/pesticide_en.pdf)
- Wilson, C., y Tisdell, C. (2001). Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological Economics* 39(3) 449-462.  
[https://doi.org/10.1016/S0921-8009\(01\)00238-5](https://doi.org/10.1016/S0921-8009(01)00238-5)
- Zhang, N., Yang, Y., Tao, S., Liu, Y., y Shi, K. L. (2011). Sequestration of organochlorine pesticides in soils of distinct organic carbon content. *Environmental Pollution* 159(3), 700–705. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.12.011>

---

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I.	Glosario .....	73
Anexo II.	Tablas y figuras complementarias. ....	74
Anexo III.	Tablas de resultados .....	81

---

## ANEXO I. GLOSARIO

**Analito:** La especie química que se está investigando mediante el desarrollo y aplicación de un método analítico.

**Estándar interno:** Sustancia que se usa como referencia en un análisis cuantitativo, el estándar interno se mezcla primero con la solución de calibración, después este se adiciona a la muestra problema, la relación de áreas o alturas del estándar interno y el analito se utiliza para llevar a cabo un análisis cuantitativo.

**Headspace:** Esta técnica fue descrita por primera vez por Swinnerton, Linnenbom y Cheek (1962), los compuestos de interés se separan de la muestra, haciendo que pasen a la fase vapor, generalmente se realiza calentando la muestra y aprovechando la volatilidad o semi volatilidad de los compuestos a analizar.

**Límite de detección:** LOD ó *Limit of detection*, cantidad mínima detectable, cantidad de muestra que produce una señal del doble de la línea base.

**Línea base:** La señal constante producida por el ruido de fondo del instrumento, comúnmente representado como una línea en el cromatograma.

**Linealidad:** La proporcionalidad entre la respuesta del detector y la concentración del analito; se debe tener un coeficiente de regresión cercano 0.99.

**Microwave Assisted Extraction (MAE):** Extracción asistida por microondas, descrita por primera vez por Ganzler *et al.* (1986), utiliza disolventes en la extracción de compuestos orgánicos, utiliza radiaciones electromagnéticas para romper compartimentos o enlaces entre moléculas y así provocar la desorción de los compuestos de la matriz ambiental.

**Sesquióxido:** Es un óxido que contiene tres átomos de oxígeno con dos átomos de otro elemento; comúnmente los sesquióxidos contienen un metal en estado de oxidación 3+, como  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  o  $\text{La}_2\text{O}_3$ .

**Solid Phase Micro Extraction (SPME):** Descrita por primera vez por Pawliszyn *et al.* (1989) micro extracción en fase sólida; es una técnica de extracción miniaturizada en la cual los compuestos se adhieren a una fibra seleccionada por procesos de adsorción, esta fibra es capaz de entrar en el puerto de inyección del cromatógrafo para desorber los compuestos en dicho lugar.

**Surrogado:** Compuesto de naturaleza química similar a los analitos de interés, con muy poca o casi nula probabilidad de que se encuentre en el ambiente. Este compuesto se agrega para medir la eficiencia del proceso de extracción, generalmente se trata de compuestos deuterados.

**Tiempo de retención:** TR, tiempo transcurrido entre la introducción de la muestra y el máximo de respuesta.

## ANEXO II. TABLAS Y FIGURAS COMPLEMENTARIAS.

Tabla 19. Normas Oficiales Mexicanas que involucran el uso de plaguicidas, tomado de Ortíz *et al.* (2013).

<b>Tipo de norma</b>	<b>Norma Oficial Mexicana</b>	<b>Objetivo</b>
Toma de muestra Ecológicas (SEMARNAT, INE)	NOM-AA-105-1988.	Determinación de residuos en suelo. Método de toma de muestras
	NOM-090-ECOL-1994	Establece los requisitos para el diseño y construcción de los receptores agroquímicos.
	NOM-052-ECOL-1993	Establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismo y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.
Sanitarias (SSA)	NOM-052-SEMARNAT-2005	Cataloga a los plaguicidas en el “Giro 6, plaguicidas y herbicidas”. Debido a la complejidad estructural de estos compuestos y a sus características intrínsecas, algunos plaguicidas pueden ser catalogados como sustancias peligrosas.
	NOM-044-SSA1-1993	Establece los requisitos para contener plaguicidas, Envase y embalaje.
	NOM-045-SSA1-1993	Establece el etiquetado de plaguicidas, Productos para uso agrícola, forestal, pecuario, de jardinería, urbano e industrial.
	Proyecto de NOM-058-SSA1-1993	Se establecen los requisitos sanitarios para los establecimientos que fabrican y formulan plaguicidas y fertilizantes y que procesan sustancias tóxicas o peligrosas.
	Proyecto de NOM- 043-SSA1-1993	Relativa al almacenamiento de plaguicidas.
Zoosanitarias (SAGARPA)	NOM-232-SSA1-2009	Establece los requisitos, indicaciones y características que deben cumplir el envase, embalaje y etiquetado de plaguicidas, tanto técnicos como formulados y en sus diferentes presentaciones, a fin de minimizar los riesgos a la salud de los trabajadores ocupacionalmente expuestos y de la población en general, durante su almacenamiento, transporte, manejo y aplicación.
	NOM-021-ZOO-1994	Estableces el análisis de residuos de plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados en grasa de bovinos, equinos, porcinos ovinos y aves por cromatografía de gases.
	NOM-028-ZOO-1995	Para los residuos de plaguicidas organofosforados en hígado y músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos, caprinos, cérvidos y aves.
Fitosanitarias (SAGARPA)	NOM-028-ZOO-1994	Estableces el límite máximo de residuos tóxicos en alimentos de origen animal.
	NOM-032-FITO-1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su dictamen técnico.
	NOM-033-FITO-1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas y morales interesadas en comercializar plaguicidas agrícolas.
	NOM-036-FITO-1995	Establece los criterios para fungir como laboratorios de diagnóstico.
	NOM-050-FITO-1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para efectuar ensayos en campo para el establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas en productos agrícolas.
Fitosanitarias (SAGARPA)	NOM-052-FITO-1995	Establece los criterios para realizar una adecuada aplicación de plaguicidas por medios aéreos.
	Proyecto de NOM-051-FITO-1995	Establece 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.
	NOM-057-FITO-1995	Establece los requisitos y especificaciones fitosanitarias para emitir el dictamen de análisis de residuos de plaguicidas.

Higiene y Seguridad Industrial (STPS)	NOM-003-STPS-1999	Regula las condiciones de higiene y seguridad para prevenir riesgosa los trabajadores que desarrollan actividades agrícolas por el manejo y uso de plaguicidas.
	NOM-010-STPS-1993	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, almacenen o manejen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral.
Transporte (SCT)	NOM-002-SCT2-1994	Listados de las sustancias y materiales peligrosos más usualmente transportados.
	NOM-003-SCT2-1994	Características de las etiquetas de envases y embalajes destinadas al transporte de materiales y residuos peligrosos.
	NOM-004-SCT2-1994	Sistema de identificación de unidades destinadas al transporte de materiales y residuos peligrosos.
	NOM-004-SCT2-1994	Sistema de identificación de unidades destinadas al transporte terrestre de materiales y residuos peligrosos.
	NOM-005-SCT2-1994	Información de emergencia para el transporte terrestre de sustancias, materiales y residuos peligrosos.
	NOM-006-SCT2-1994	Aspectos básicos para la revisión ocular diaria de la unidad destinada al autotransporte de materiales y residuos peligrosos.
	NOM-007-SCT2-1994	Marcado de envases y embalajes destinados al transporte de sustancias y residuos peligrosos.
	NOM-010-SCT2-1994	Disposiciones de compatibilidad y segregación para el almacenamiento y transporte de sustancias, materiales y residuos peligrosos.
	NOM-011-SCT2-1994	Condiciones para el transporte de las sustancias materiales y residuos peligrosos en cantidades limitadas.
	NOM-019-SCT2-1994	Disposiciones generales para la limpieza y control de remanentes de sustancias, materiales y residuos peligrosos.
	NOM-043-SCT2-1995	Documento de embarque de sustancias, materiales y residuos peligrosos.

Tabla 20. Intervalos de concentraciones usados para evaluar la recuperación.

Compuesto	Intervalo de concentración 1	Intervalo de concentración 2	Intervalo de concentración 3
	[ng/g]	[ng/g]	[ng/g]
TCMX	1.0	6.4	16
$\alpha$ -HCH-D6	0.8	4.2	6.4
$\alpha$ -HCH	0.8	5.1	25.6
$\beta$ -HCH	0.8	5.1	25.6
$\Delta$ -HCH	0.8	5.1	25.6
$\gamma$ -HCH	0.8	5.1	25.6
Heptacloro	0.8	5.1	25.6
Aldrín	0.8	5.1	25.6
Epóxido de heptacloro	0.8	5.1	25.6
Endosulfán I	0.8	5.1	25.6
p,p'-DDE	0.8	5.1	25.6
Dieldrín	0.8	5.1	25.6
Endosulfán II	0.8	5.1	25.6
Endrina	0.8	5.1	25.6
p,p'-DDD	0.8	5.1	25.6
Aldehído de endrina	0.8	5.1	25.6
p,p'-DDT		5.1	25.6
Sulfato de endosulfán		5.1	25.6
Metoxicloro		5.1	25.6

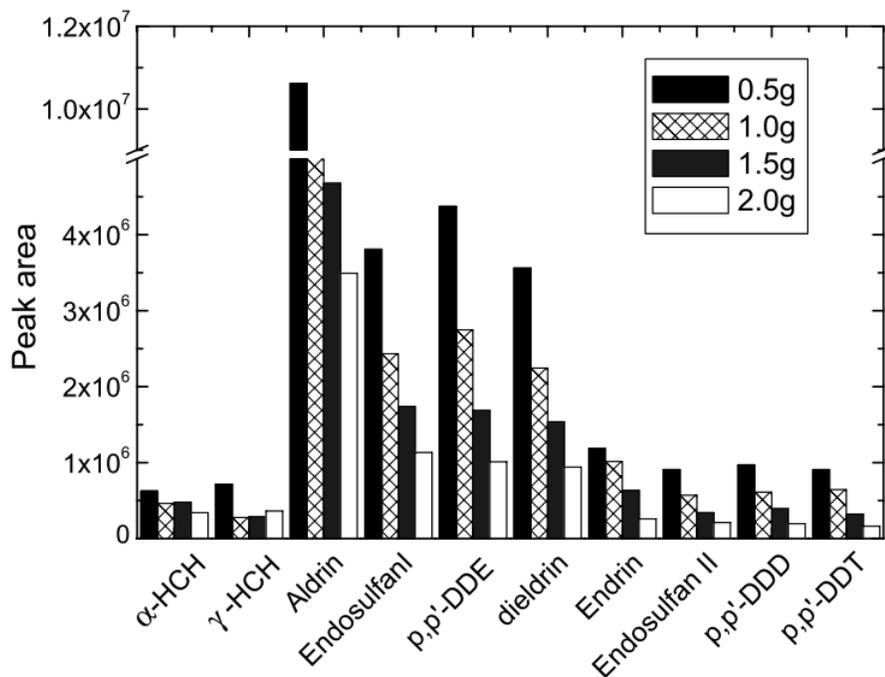


Figura 18. Efecto de la cantidad de sedimento en la extracción de plaguicidas organoclorados por un método de SPME con una temperatura de 70°C y un tiempo de 60 minutos (Chang y Doong, 2006).

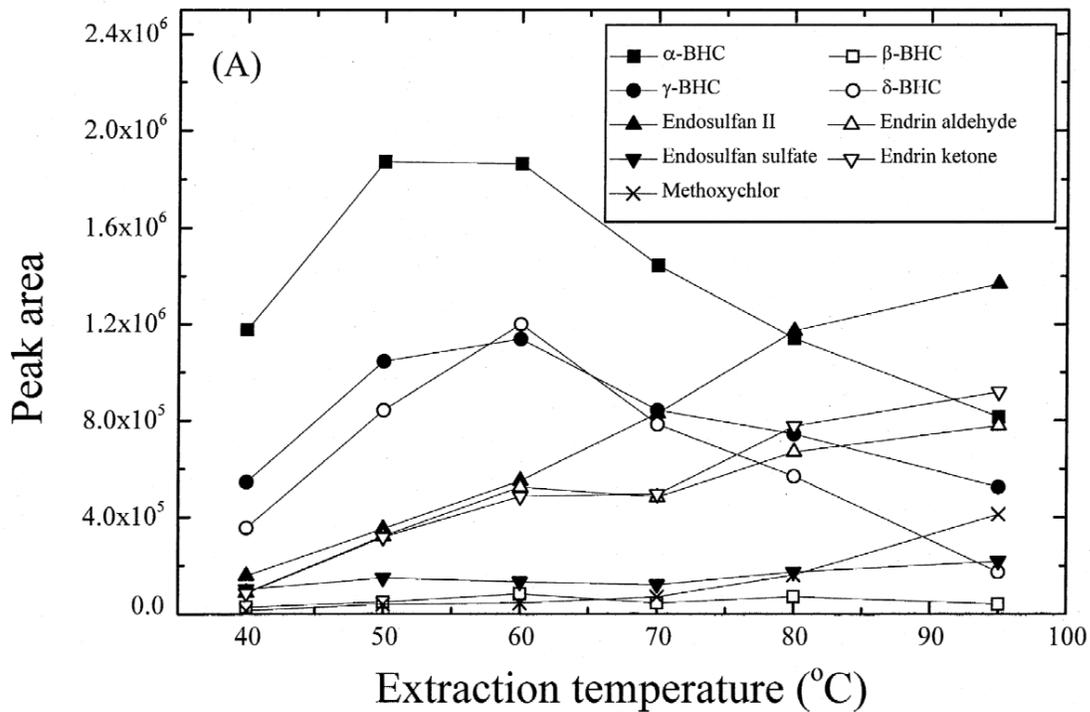


Figura 19. Extracción de compuestos a diferentes temperaturas con presiones de vapor bajas (Chang y Doong, 2006).

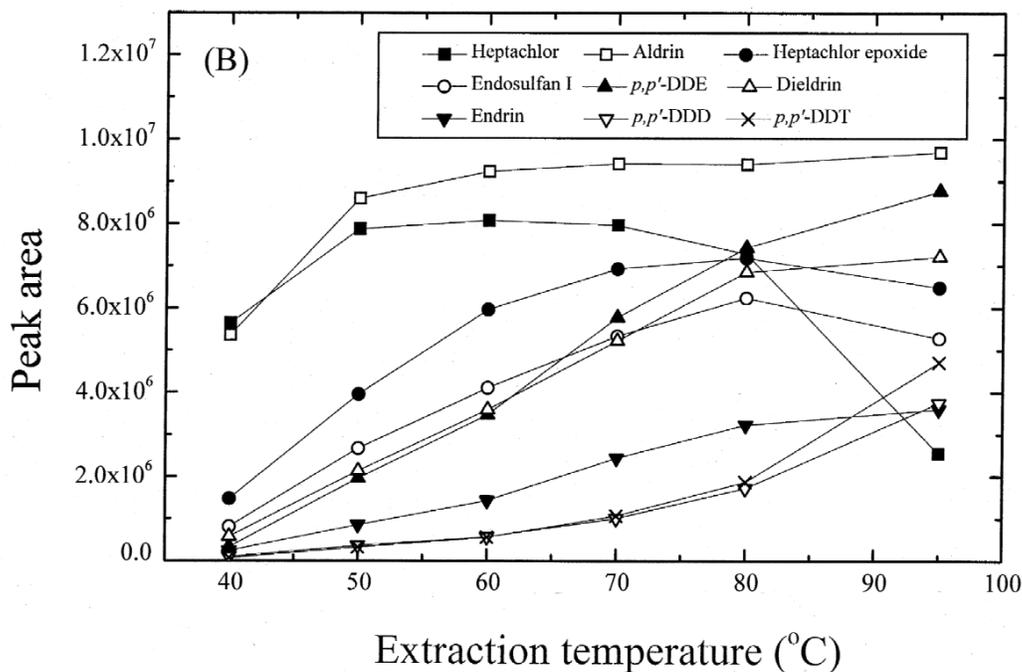


Figura 20. Extracción de compuestos a diferentes temperaturas con presiones de vapor altas (Chang y Doong, 2006).

El *Method Detection Limit based on blanks* o  $MDL_b$  (USEPA, 2016), es una forma de calcular el límite de detección cuando los blancos producen valores numéricos. El método se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula (5):

$$(5) \quad MDL_b = \bar{x} + t_{(n-1, 1-\alpha = 0.99)} S_b$$

Donde:

$MDL_b$  = Límite de detección del método basado en blancos.

$\bar{x}$  = Promedio de los resultados de blancos (usar cero si el promedio es negativo).

$t_{(n-1, 1-\alpha = 0.99)}$  = Valor  $t$  de una prueba de Student para el 99° percentil y una desviación estándar con  $n-1$  grados de libertad.

$S_b$  = Desviación estándar de las réplicas de blanco.

---

El *Method Detection Limit*<sub>(t99, n-1)</sub> o MDL<sub>(t99, n-1)</sub>, (E. Bernal, 2014; USEPA, 2016). El límite de detección se calcula de la por medio de la Fórmula (6).

$$(6) \quad \mathbf{MDL} = t_{99, n-1} \mathbf{S}_{\text{ELOQ/LLMV}}$$

Donde:

MDL = Límite de detección del método.

$t_{99, n-1}$  = Valor  $t$  de una prueba de Student para el 99° percentil y una desviación estándar con  $n-1$  grados de libertad.

$S_{\text{ELOQ/LLMV}}$  = Desviación estándar de las muestras fortificadas.

El límite de detección  $L_d$  (Currie, 1995) se calcula con la siguiente fórmula (7).

$$(7) \quad L_d = 2t_{\alpha}^{n-1} \cdot \sigma_0$$

Donde:

$L_d$  = Límite de detección.

$2t$  = Se calcula cuando  $\alpha = \beta$ , lo que equivale a dos veces el valor del valor  $t$  de una prueba de Student con  $n-1$  grados de libertad

$\sigma_0$  = Desviación estándar de las muestras blanco.

El error cuadrático medio o *Root Square Mean Error*, RMSE (Bernal, 2014), se calcula a partir de una curva de calibración. Se obtienen los valores de respuesta para cada nivel de concentración y se realiza una regresión lineal con la ecuación de la recta  $y = mx + b$ . Con los valores de pendiente ( $m$ ) e intersección ( $b$ ), se calcula la respuesta predicha ( $y_p$ ), para cada nivel de concentración ( $x$ ). Al valor de la respuesta predicha ( $y_p$ ) Con este valor, se calcula el error asociado a cada medición, restando el valor de la respuesta obtenida de forma experimental ( $y$ ) a la respuesta predicha ( $y_p$ ), de la siguiente forma ( $y_p - y$ ), el cálculo del RMSE se realiza con la Fórmula 8.

$$(8) \quad \text{RMSE} = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (y_{ip} - \bar{y})^2}{n-2} \right]^{1/2}$$

---

Dónde:

RMSE = Error cuadrático medio.

$\Sigma(y_p - y)^2$  = Sumatoria del cuadrado de los errores asociados a cada medición.

$n$  = número de muestras.

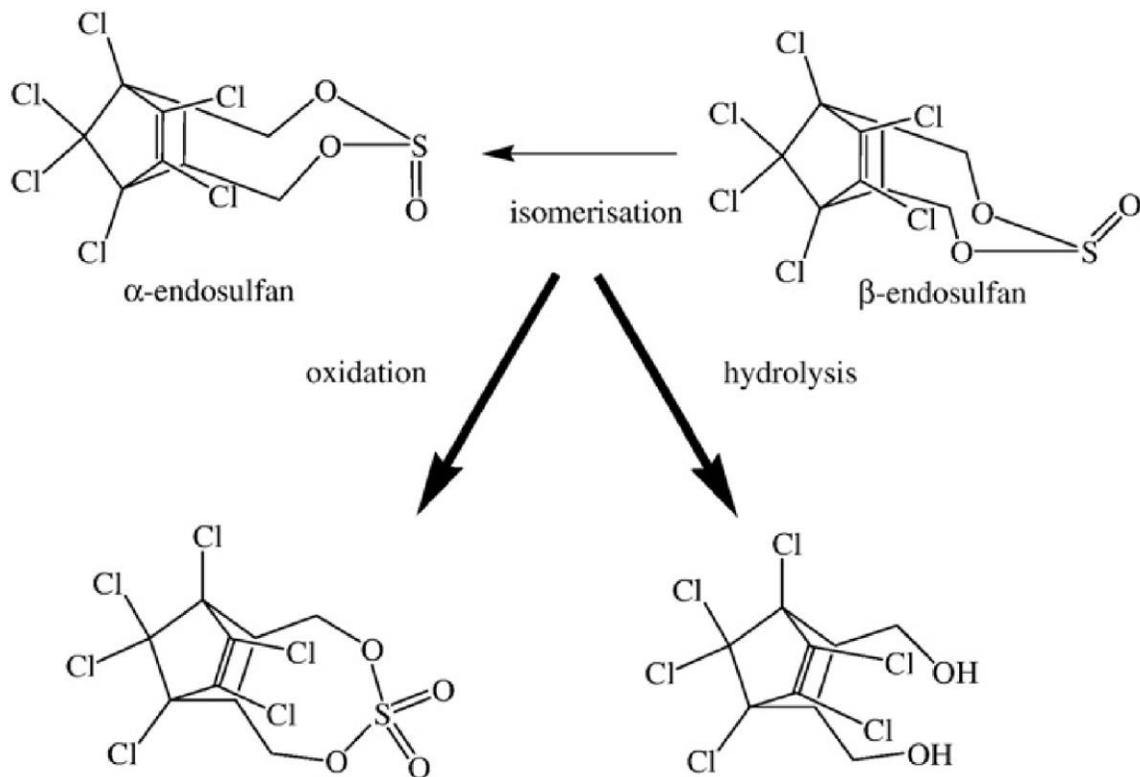


Figura 21. Formación de los metabolitos del endosulfán I y II (Weber, 2010)

Tabla 21. Guías internacionales para evaluar las concentraciones de plaguicidas organoclorados en sedimento superficial y sus efectos sobre la vida acuática.

Plaguicida	CCME <sup>1</sup>	NOAA <sup>2</sup>	
	Nivel de probable de efectos adversos (PEL)	Nivel umbral de efectos (TEL)	Nivel de efectos severos (SEL)
$\alpha$ -HCH	-	-	100
$\beta$ -HCH	-	-	210
$\gamma$ -HCH	-	0.94	10
DDT	6.75	1.19	710
DDD	8.51	3.54	60
DDE	6.75	1.42	190
Dieldrín	6.67	2.85	910
Endrina	62.4	2.67	1300
Epóxido de heptacloro	2.74	0.6	50

Valores expresados en ng/g de sedimento.

<sup>1</sup>Canadian Council of Ministers of the Environment (Canadá) (CCME): Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. <sup>2</sup>National Oceanic and Atmospheric Administration (EUA) (NOAA): Screening Quick Reference Tables.

### ANEXO III. TABLAS DE RESULTADOS

Temporada	Sitio	TCMX [ng/g]	$\alpha$ -HCH-D6 [ng/g]	$\alpha$ -HCH [ng/g]	$\beta$ -HCH [ng/g]	$\Delta$ -HCH [ng/g]	$\gamma$ -HCH [ng/g]	Heptacloro [ng/g]
4MB	RG0	2.84	0.46	0.10	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	RG7	1.62	0.28	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	RG1	0.85	0.26	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	RG2	1.79	0.41	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	RG3	0.75	0.31	0.08	0.12	0.03	0.16	0.00
4MB	RG6	5.36	1.45	0.08	0.13	0.03	0.15	0.00
4MB	RG4	1.03	0.50	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	RG5	1.06	0.48	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
4MB	L1	3.54	1.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5MB	RG0	1.23	0.56	0.09	0.13	0.03	0.16	0.00
5MB	RG7	2.21	0.65	0.09	0.13	0.03	0.16	0.00
5MB	RG1	3.36	0.85	0.10	0.13	0.03	0.16	0.00
5MB	RG2	1.06	0.30	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
5MB	RG3	0.46	0.13	0.08	0.13	0.03	0.15	0.00
5MB	RG6	17.93	6.57	0.16	0.13	0.04	0.16	0.00
5MB	RG4	0.37	0.26	0.08	0.13	0.03	0.16	0.00
5MB	RG5	2.41	0.75	0.09	0.13	0.03	0.15	0.00
5MB	L1	4.45	1.17	0.10	0.12	0.03	0.16	0.00
6MB	RG0	1.35	0.47	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
6MB	RG7	2.42	0.45	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
6MB	RG1	2.29	0.39	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
6MB	RG2	1.11	0.33	0.09	0.13	0.03	0.15	0.00
6MB	RG3	0.81	0.23	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
6MB	RG6	0.88	0.46	0.08	0.13	0.03	0.15	0.00
6MB	RG4	2.71	0.69	0.09	0.13	0.03	0.18	0.00
6MB	RG5	2.51	0.50	0.09	0.12	0.03	0.15	0.00
6MB	L1	0.73	0.24	0.09	0.13	0.03	0.15	0.00

Temporada	Sitio	Endosulfán I [ng/g]	DDE-p,p' [ng/g]	Dieldrín [ng/g]	Endosulfán II [ng/g]	Endrina [ng/g]	DDD-p,p' [ng/g]
4MB	RG0	0.03	0.10	0.10	0.00	0.10	0.01
4MB	RG7	0.04	0.10	0.05	0.00	0.07	0.05
4MB	RG1	0.04	0.10	0.12	0.00	0.14	0.05
4MB	RG2	0.04	0.10	0.03	0.00	0.14	0.02
4MB	RG3	0.20	0.16	0.10	0.00	2.28	0.09
4MB	RG6	3.93	0.10	0.04	0.00	0.02	0.01
4MB	RG4	0.03	0.10	0.03	0.00	0.00	0.01
4MB	RG5	0.05	0.10	0.03	0.00	0.15	0.01
4MB	L1	0.00	0.00	0.00!	0.00	0.00	2.57
5MB	RG0	0.05	0.10	0.11	0.00	0.08	0.11
5MB	RG7	0.10	0.10	0.05	0.00	0.44	0.08
5MB	RG1	0.04	0.12	0.16	0.04	2.27	0.21
5MB	RG2	0.02	0.10	0.03	0.00	0.00	0.01
5MB	RG3	0.05	0.10	0.04	0.00	0.11	1.03
5MB	RG6	0.06	0.11	0.04	0.00	0.25	0.03
5MB	RG4	0.09	0.11	0.05	0.00	0.23	0.02
5MB	RG5	0.04	0.10	0.06	0.00	0.04	0.01
5MB	L1	0.04	0.11	0.04	0.00	0.15	0.02
6MB	RG0	0.04	0.10	0.05	0.00	0.10	0.03
6MB	RG7	0.04	0.12	0.08	0.00	0.12	0.03
6MB	RG1	0.03	0.10	0.05	0.00	0.00	0.02
6MB	RG2	0.06	0.10	0.04	0.00	0.05	0.02
6MB	RG3	0.03	0.10	0.04	0.00	0.08	0.01
6MB	RG6	0.05	0.12	0.05	0.00	0.16	0.03
6MB	RG4	4.6 2	0.14	0.17	0.00	0.89	0.02
6MB	RG5	0.02	0.10	0.04	0.00	0.00	0.01
6MB	L1	0.03	0.10	0.05	0.00	0.00	0.01

Temporada	Sitio	DDD-p,p' [ng/g]	Aldehído de endrina [ng/g]	DDT-p,p [ng/g]'	Sulfato de endosulfán [ng/g]	Metoxicloro [ng/g]
4MB	RG0	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	RG7	0.05	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	RG1	0.05	0.00	0.08	0.00	0.00
4MB	RG2	0.02	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	RG3	0.09	0.18	0.07	0.00	0.04
4MB	RG6	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	RG4	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	RG5	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
4MB	L1	0.01	0.00	0.00	4.01	0.00
5MB	RG0	2.73	0.00	0.08	0.00	0.02
5MB	RG7	0.08	0.00	0.16	0.00	0.02
5MB	RG1	0.80	0.00	0.23	5.27	2.39
5MB	RG2	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
5MB	RG3	1.03	0.00	0.07	0.00	0.05
5MB	RG6	0.03	0.00	0.06	0.00	0.00
5MB	RG4	0.02	0.00	0.06	0.00	0.02
5MB	RG5	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
5MB	L1	0.02	0.00	0.06	6.03	0.00
6MB	RG0	0.03	0.00	0.08	0.00	0.03
6MB	RG7	0.03	0.00	0.07	0.00	0.01
6MB	RG1	0.02	0.00	0.06	0.00	0.00
6MB	RG2	0.02	0.00	0.07	0.00	0.91
6MB	RG3	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
6MB	RG6	0.03	0.00	0.07	0.00	0.00
6MB	RG4	0.02	0.89	0.06	0.00	0.00
6MB	RG5	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
6MB	L1	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00