



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS
EXTRACTIVAS**

**DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS EN ORINA POR HPLC Y
MRMS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO INDUSTRIAL**

P R E S E N T A

MARISOL SALGADO MANCILLA

ASESORES:

ING. LAURA ROSAS ORTIZ

Dr. YAIR CRUZ NARVÁEZ



Ciudad de México

Diciembre, 2023



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Escuela Superior de Ingeniería
Química e Industrias Extractivas
Subdirección académica
Departamento de Evaluación y
Seguimiento Académico

Folio
T-DEySA-092-23

Asunto
Autorización de tema

2023. Año de Francisco Villa
30 Aniversario de la Declaración sobre
la Eliminación de la Violencia contra la Mujer (ONU)
60 Aniversario del CECyT 7 "Cuauhtémoc" y del CENAC
90 Aniversario de la Escuela Superior de Ingeniería Textil
40 Aniversario del CIDIR, Unidad Oaxaca

CDMX, 14 de noviembre de 2023

Pasante
Marisol Salgado Mancilla
PRESENTE

Boleta
2014011049981732

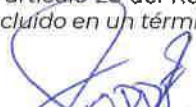
Programa Académico
I.Q.I.

Mediante el presente se hace de su conocimiento que la Subdirección Académica a través de este Departamento autoriza al **Dr. Yair Cruz Narváez** y la **Ing. Laura Rosas Ortiz** sean asesores en el tema que propone usted desarrollar como prueba escrita en la opción **Tesis Individual**, con el título y contenido siguiente:

"Desarrollo de una metodología para la identificación de plaguicidas en orina por HPLC y MRMS"

- Resumen
- Justificación
- Objetivos
- Introducción
- I. Generalidades
- II. Metodología experimental
- III. Resultados y análisis
- Conclusiones
- Anexos
- Referencias

De acuerdo al artículo 28 del Reglamento de Titulación Profesional del Instituto Politécnico Nacional, el trabajo deberá ser concluido en un término no mayor de un año, a partir de esta fecha.


M. en C. Jesús Torres Calderón
Presidente de la academia de
Química Analítica


Dr. Yair Cruz Narváez
Director del trabajo escrito


Ing. Laura Rosas Ortiz
Directora del trabajo escrito


M. en C. Cesar Rodríguez Guerrero
Jefe del Departamento de Evaluación
y Seguimiento Académico.


Dra. Jahel Valdés Saucedo
Subdirectora Académica

c.c.p.- Depto. de Evaluación y Seguimiento Académico.
c.c.p.- Depto. de Gestión Escolar.
CRG/mlcp



2023
Año de
Francisco
Villa



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Escuela Superior de Ingeniería
Química e Industrias Extractivas
Subdirección Académica
Departamento de Evaluación y
Seguimiento Académico

Folio

T-DEySA-092-23

Asunto

Cesión de derechos

2023. Año de Francisco Villa
30 Aniversario de la Declaración sobre
la Eliminación de la Violencia contra la Mujer (ONU)
60 Aniversario del CECyT 7 "Cuauhtémoc" y del CENAC
90 Aniversario de la Escuela Superior de Ingeniería Textil
40 Aniversario del CIIDIR, Unidad Oaxaca

CDMX, a 17 de noviembre de 2023

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

La que suscribe **Marisol Salgado Mancilla** estudiante del Programa de: **Ingeniería Química Industrial** con número de Boleta: **2014011049981732**, manifiestan que es autora intelectual del presente trabajo escrito, por la opción: **Tesis Individual**, bajo la dirección de los profesores **Dr. Yair Cruz Narváez** y la **Ing. Laura Rosas Ortiz**, ceden los derechos del trabajo "**Desarrollo de una metodología para la identificación de plaguicidas en orina por HPLC y MRMS**" al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico msalgadom1301@alumno.ipn.mx ycruzn@ipn.mx y petrolau@yahoo.com.mx. Sí, el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Atentamente


Yair Cruz Narváez
Nombre y Firma
Director del trabajo escrito


Laura Rosas Ortiz
Nombre y Firma
Directora del trabajo escrito


Marisol Salgado Mancilla
Nombre y Firma
Estudiante



2023
Francisco
VILLA



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Escuela Superior de Ingeniería
Química e Industrias Extractivas
Subdirección Académica
Departamento de Evaluación y
Seguimiento Académico

Folio

T-DEySA-092-23

Asunto

Autorización de Impresión

2023. Año de Francisco Vela
30 Aniversario de la Declaración sobre
la Eliminación de la Violencia contra la Mujer (ONU)
60 Aniversario del CECyT 7 "Cuauhtémoc" y del CENAC
90 Aniversario de la Escuela Superior de Ingeniería Textil
40 Aniversario del CIIDIR, Unidad Oaxaca

CDMX, a 17 de noviembre de 2023

Pasante

Marisol Salgado Mancilla
PRESENTE

Boleta

2014011049981732

Programa Académico


I.Q.I.

Los suscritos tenemos el agrado de informar a usted, que habiendo procedido a revisar el borrador de la modalidad de titulación correspondiente denominado:


"Desarrollo de una metodología para la identificación de plaguicidas en orina por HPLC y MRMS"

encontramos que el citado trabajo escrito de **Tesis Individual**, reúne los requisitos para **autorizar el examen profesional y proceder a su impresión** según el caso, debiendo tomar en consideración las indicaciones y correcciones que al respecto se le hicieron.

Atentamente
JURADO


Ing. José Javier Castro Arellano
Presidente


Ing. Laura Rosas Ortiz
Secretaría


Dr. Yair Cruz Narváez
Vocal 1


Ing. Gerardo Cenobio Noriega Altamirano
Vocal 2


Ing. Enrique Rico Arzate
Vocal 3

c.c.p.- Depto. de Evaluación y Seguimiento Académico.
c.c.p.- Depto. de Gestión Escolar.
CRG/mlcp



2023
Francisco
VILA

AGRADECIMIENTOS

Quiero aprovechar esta oportunidad para expresar mi profundo agradecimiento a mis amados padres, quienes han sido mi mayor sostén a lo largo de estos años de estudio. Su incondicional apoyo y constante motivación han sido el motor que impulsa mi crecimiento profesional. Agradezco de corazón el sacrificio y la dedicación que han invertido en mi educación, brindándome las herramientas necesarias para alcanzar mis metas. Su amor y confianza en mí han sido un faro que ilumina mi camino y me impulsa a dar lo mejor de mí mismo.

A mis entrañables amigos, quiero expresar mi más sincero agradecimiento. Durante cada año de la carrera, su apoyo incondicional ha sido un faro en medio de las dificultades académicas y los momentos de desvelo. Gracias a su compañerismo y solidaridad, hemos compartido risas, luchas y logros, creando recuerdos inolvidables. Su amistad ha sido un pilar fundamental en mi camino, y no puedo más que sentirme bendecida por tenerles a mi lado. Gracias por creer en mí y ser una fuente de inspiración y motivación constante.

En la elaboración de esta investigación tengo una profunda deuda con mi director de tesis y asesores: Ing. Laura Rosas Ortiz y el Dr. Yair Cruz Narváez, así como con los revisores y miembros del jurado, Dr. Gerardo Cenobio Noriega Altamirano, Dr. Enrique Rico Arzate y el Dr. José Javier Castro Arellano, quienes tuvieron sabiduría, orientación y entusiasmo por la investigación, que con mano firme y sensata condujeron su conocimiento, ellos han sido un regalo invaluable en mi trayecto académico. Agradezco sinceramente su compromiso y su apoyo durante cada etapa del proceso de investigación, así como su impulso para que mi proyecto tenga un impacto social. Su experiencia y guía han moldeado mi perspectiva y me han llevado a explorar nuevos horizontes en mi campo de estudio.

Además, deseo expresar un agradecimiento especial a mi novio, quien ha sido mi compañero fiel en este viaje académico. Su amor incondicional, apoyo constante y comprensión han sido un ancla que me ha dado la fortaleza para enfrentar los retos y superar los obstáculos. Sus palabras alentadoras y su presencia reconfortante

han sido un bálsamo en los momentos de cansancio y duda. Estimo sinceramente el amor y la inspiración que me brinda cada día.

Cada uno de ustedes ha dejado una huella imborrable en mi vida y ha contribuido a mi crecimiento personal y profesional. Reconozco de todo corazón las enseñanzas, las risas compartidas y el apoyo incondicional que me han brindado. Su influencia positiva ha forjado mi carácter y ha moldeado mi perspectiva, convirtiéndome en la persona que soy hoy. Estoy profundamente agradecida y espero poder corresponderles de alguna manera en el futuro.

Por último, pero no menos importante, deseo extender mi gratitud a todas las personas que, de una forma u otra, han contribuido a mi crecimiento académico y personal. Valoro sinceramente cada palabra amable, cada gesto de aliento y cada momento de aprendizaje compartido. Su presencia en mi vida ha sido un regalo invaluable y me ha enriquecido de formas inimaginables. Prometo llevar conmigo sus consejos y enseñanzas a medida que avanzo hacia un futuro lleno de promesas. A cada uno de ustedes, gracias por formar parte de mi historia y por inspirarme a alcanzar lo mejor de mí misma.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Instituto Politécnico Nacional por su invaluable contribución en la formación de profesionales altamente capacitados y comprometidos en poner "la técnica al servicio de la patria". A lo largo de mi trayectoria académica, he tenido el privilegio de recibir una educación de calidad, impulsada por la excelencia y la constante búsqueda de la innovación. Agradezco profundamente al IPN por brindarme las herramientas necesarias para desenvolverme en el campo de la Ingeniería Química Industrial.

Asimismo, deseo expresar mi gratitud a la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas por su labor en la formación de profesionales en el campo de la ingeniería química. Gracias a su enfoque académico riguroso y a la dedicación de su distinguido cuerpo docente, he adquirido las competencias y habilidades necesarias para enfrentar los retos de la industria. Agradezco a la institución por brindarme un entorno de aprendizaje propicio, donde he podido desarrollar mi potencial y explorar nuevas áreas de conocimiento.

No puedo dejar de mencionar y agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Instituto Politécnico Nacional por su valioso apoyo en el desarrollo de este proyecto. A través de la convocatoria CONACYT:302670 2019 de apoyos para la adquisición y mantenimiento de infraestructura en instituciones y laboratorios de investigación especializada, CF-2019/6669 en la convocatoria ciencia sin fronteras, los proyectos SIP 20220296, 1533-2021 y 20230349, así como el proyecto de innovación y desarrollo de la convocatoria de proyectos de desarrollo tecnológico o innovación en el IPN 2022, ha sido posible llevar a cabo investigaciones de vanguardia y generar conocimiento de relevancia en mi campo de estudio.

El respaldo proporcionado por estas instituciones ha sido fundamental para el éxito de este proyecto, permitiéndome contar con los recursos y la infraestructura necesarios para llevar a cabo investigaciones de alta calidad. Agradezco sinceramente su confianza y su compromiso con la promoción de la ciencia y la tecnología en nuestro país.

ÍNDICE

RESUMEN	8
JUSTIFICACIÓN	9
OBJETIVOS	11
INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO I: GENERALIDADES	16
1.1 Plaguicidas.....	17
1.1.1 Clasificación.....	18
1.1.2 Clasificación por su modo de acción.....	20
1.1.3 Toxicidad	21
1.2 Herbicidas más comunes en México.....	22
1.2.1 Glifosato.....	22
1.2.2 Dicloro fenoxiacetico (2,4-D).....	24
1.2.3 Mesotrione	25
1.2.4 Atrazina.....	27
1.2.5 Paraquat	29
1.3 Efectos adversos de los plaguicidas	30
1.3.1 Salud.....	30
1.3.2 Medio Ambiente	32
1.3.3 Fauna.....	34
1.4 Contaminación con plaguicidas de niños en México.....	36
1.5 Normatividad regulatoria del uso de plaguicidas en México y panorama actual	40
1.5.1 Regulación internacional.....	41
1.5.2 Regulación nacional.....	42
1.6 Metodologías analíticas utilizadas en la detección de plaguicidas.....	46

1.6.1 Cromatografía líquida de alta eficiencia.....	47
1.6.2 Cromatografía de gases:	50
1.6.3 Electroforesis capilar:.....	53
1.6.4 Espectrometría de masas de alta resolución	55
1.7 Matrices en las que se han detectado la presencia de herbicidas	61
1.7.1 Matrices ambientales	61
1.7.2 En alimentos	64
1.7.3 En fluidos	66
1.8 Ventajas de la cromatografía líquida y la espectrometría de masas de ultra alta resolución en la detección de herbicidas.....	69
1.9 Compuestos aductos en la espectrometría de masas	73
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	75
2.1 Materiales y métodos	76
2.2 Metodología general del proceso analítico.....	78
2.3 Desarrollo del método analítico.....	79
2.3.1 Recolección de muestras:.....	80
2.3.2 Recepción y tratamiento de muestras en el laboratorio	80
2.3.3 Curva de calibración	81
2.4 Desarrollo del método en HPLC.....	83
2.5 Optimización del análisis mediante ESI FIA-FTCIR-MRMS	84
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	87
3.1 Cuantificación de herbicidas mediante HPLC	88
3.2 Identificación de herbicidas mediante MRMS	91
3.3 Identificación de metabolitos	96
3.3.1 Metabolitos encontrados en polaridad positiva	97

3.3.1.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)	97
3.3.1.2 Heat map	99
3.3.1.3 Espectros de masas	103
3.3.2 Metabolitos encontrados en polaridad negativa.....	108
3.3.2.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)	108
3.3.2.2 Heat map	110
3.3.2.3 Espectros de masas	113
3.4 Discusión de resultados	118
CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES	121
CAPÍTULO V: REFERENCIAS.....	124
ANEXO 1	137
CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS HERBICIDAS	137
CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES PROMEDIO DE LOS HERBICIDAS	139
CÁLCULO DE LOS PORCENTAJES DE LOS HERBICIDAS.....	140
ANEXO 2.....	141
LISTA DE FIGURAS	141
LISTA DE TABLAS	144
CÓDIGO QR HEAT MAPS	144
GLOSARIO	145
RELACIÓN DE SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	147

RESUMEN

El estudio tiene como objetivo desarrollar y descubrir una metodología para identificar plaguicidas en muestras de orina, apoyándose en cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) y espectrometría de masas de alta resolución (MRMS) en el Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias en la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional (ESIQIE-IPN).

La revisión de la literatura científica ayudó a sistematizar la información de las técnicas de análisis de plaguicidas en muestras de orina de humanos, identificación y cuantificación de plaguicidas. Con este referente se establecieron parámetros de extracción y preparación de las muestras de orina, integrando factores como: matriz de la muestra, estabilidad de los plaguicidas y límites de detección requeridos. Se desarrolló un método de cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) optimizado para separar y detectar los plaguicidas. Se seleccionaron las condiciones adecuadas de columna, fase móvil y detección para lograr una separación eficiente y una adecuada sensibilidad. Se utilizó la espectrometría de masas de alta resolución (MRMS) para confirmar e identificar los plaguicidas detectados por HPLC, técnica que generó información detallada de la estructura y composición de los plaguicidas, incrementando la confianza en los resultados.

El método cuantitativo desarrollado para la identificación de herbicidas mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) demostró eficacia en la identificación de cinco tipos distintos de herbicidas en las muestras analizadas. De las doce muestras estudiadas, fue posible identificar la presencia de cuatro herbicidas en nueve muestras, los herbicidas encontrados fueron atrazina, 2,4-D, glifosato y paraquat.

Del análisis cualitativo de las doce muestras analizadas de orina de niños se observa que se tiene la presencia de glifosato, 2,4-D, atrazina y paraquat, ello revela que estos herbicidas se utilizan en la zona agrícola de Jiquipilco, Estado de México.

JUSTIFICACIÓN

En la sociedad contemporánea es frecuente usar plaguicidas para el manejo de plagas y de vectores transmisores de enfermedades humanas, lo cual ha impactado a los ecosistemas y a la salud humana. En México, los trabajos realizados en Chapingo y en la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, ha permitido evaluar el potencial de la biorremediación de los suelos contaminados por agroquímicos. Sin embargo, reconociendo que la contaminación por plaguicidas puede ocurrir por exposición, consumo de alimentos, inhalación del aire en las zonas urbanas se realizó la presente investigación para documentar la presencia de plaguicidas en humanos.

Debido al uso indiscriminado y sin vigilancia de los plaguicidas en México, se identificó la presencia de dichas sustancias en la orina de los niños que viven en la comunidad de Jiquipilco en el Estado de México. Numerosos trabajos reportan la presencia de glifosato en cuerpos de agua, en fluidos humanos: orina, sangre, leche materna; encontrando que la cadena alimenticia es una vía de exposición al glifosato. De ahí la importancia de identificar este tipo de residuos en la población humana.

Este trabajo está dirigido al cultivo de maíz, en este cultivo para el control de las hierbas indeseables se utilizan herbicidas, como: glifosato, 2,4-D, atrazina, mesotrione y paraquat, plaguicidas dañinos para la salud humana. Además, el maíz es la base de la dieta de la población mexicana, el grano se distribuye a otros estados con gran facilidad.

A manera de comentario, el glifosato desde el año 2015 la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo calificó como probable cancerígeno, se ha reportado que el contacto humano con esta sustancia produce: irritaciones dérmicas y oftalmológicas, mareos, náuseas, problemas respiratorios, incremento de la presión sanguínea. Se han documentado casos en diferentes regiones donde se ha encontrado presencia de dichas sustancias en niños, provocando daño en su salud

ya que su organismo metaboliza de manera diferente y el daño sería más grave al no estar completamente desarrollado, en comparación con los adultos.

Actualmente existe un decreto que limita el uso de este herbicida en la agricultura mexicana. El 31 de diciembre de 2020 se publicó en el Diario Oficial de la Federación un decreto que plantea la prohibición gradual del uso de glifosato en la agricultura (Diario Oficial de la Federación, 2020).

Esta investigación tiene el propósito de atender a una población vulnerable, que son las comunidades indígenas, donde no existen mediciones de este tipo de contaminantes en los infantes pertenecientes a estos grupos. Además, desarrollar una metodología analítica para su detección que sea precisa, rápida y confiable, haciendo uso de herramientas de alta tecnología que brinden elementos para opinar sobre el impacto de estas sustancias en la agricultura y la salud humana del país.

Por lo que es importante empezar a crear conciencia en los productores agrícolas para considerar otras opciones de manejo de los cultivos que no sean dañinos para la población.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Analizar muestras de orina de niños menores de 15 años de una comunidad indígena agrícola para identificar la presencia de plaguicidas en su organismo debido a la exposición que tienen con estas sustancias en los campos de cultivos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Desarrollar una técnica de análisis mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para identificar y cuantificar la presencia de glifosato, 2,4-D, atrazina, mesotrione y paraquat en la orina de niños menores de 15 años.
- Estandarizar y validar una metodología analítica para la identificación de estos plaguicidas mediante espectrometría de masas con infusión directa por resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (ESI FIA FTICIR-MS).

INTRODUCCIÓN

El primer capítulo de esta tesis se adentra en el amplio ámbito de los plaguicidas, los cuales son compuestos químicos de suma relevancia en los sectores agrícola, ganadero y de salud pública. Su función primordial radica en el control y prevención de plagas, enfermedades y malezas que pueden afectar la producción de alimentos y el bienestar humano. Estos compuestos, que abarcan una diversidad de sustancias, se encuentran clasificados en distintos grupos según su origen, modo de acción y nivel de toxicidad inherente. Entre estos grupos, se destacan los insecticidas, herbicidas, fungicidas, entre otros.

En el modelo de la Revolución Verde los plaguicidas desempeñan un papel esencial en la seguridad alimentaria y en la prevención de epidemias, es crucial abordar sus posibles efectos adversos y las preocupantes consecuencias derivadas de su uso indebido o excesivo. La gama de problemas de salud que pueden resultar de la exposición a estos compuestos va desde irritaciones cutáneas y oculares, hasta cefaleas, náuseas y vómitos. No obstante, las implicaciones van más allá, extendiéndose a enfermedades más graves como el cáncer, patologías neurológicas y trastornos respiratorios.

Además de los impactos en la salud humana, la aplicación inapropiada de plaguicidas puede generar una amplia gama de efectos colaterales en el medio ambiente. Dichos productos químicos poseen el potencial de contaminar suelos, fuentes de agua y la atmósfera, contribuyendo a la disminución de la biodiversidad y afectando el equilibrio ecológico en las zonas donde son utilizados. La población residente en las cercanías de áreas donde se emplean estos productos se ve particularmente expuesta a estas amenazas, lo que puede afectar negativamente su calidad de vida y su bienestar.

Dentro de este contexto, el capítulo aborda la problemática de la contaminación de plaguicidas en niños de México, resaltando la vulnerabilidad de este grupo de población. Asimismo, se aborda la normatividad regulatoria tanto a nivel

internacional como nacional que busca supervisar y regular el uso de plaguicidas, con el objetivo de minimizar sus impactos negativos.

El análisis de los plaguicidas requiere de metodologías analíticas avanzadas. En este capítulo, se exploran y se exponen las principales características de metodologías como la cromatografía de gases, la cromatografía líquida, la electroforesis capilar y la espectrometría de masas de alta resolución. A través de una comparación de estas técnicas, se resaltan sus ventajas, limitaciones y aplicaciones específicas en la detección de plaguicidas.

Finalmente, se aborda el tema de las matrices ambientales en las que se ha detectado la presencia de plaguicidas, identificando las áreas más susceptibles de contaminación y resaltando la importancia de monitorear y evaluar estas matrices para mitigar los riesgos asociados con el uso de plaguicidas. En conjunto, este capítulo sienta las bases para comprender la complejidad de los plaguicidas y sus implicaciones, destacando la necesidad de una gestión responsable y sustentable de estos compuestos químicos en aras de proteger la salud humana y el entorno natural.

El segundo capítulo de esta investigación se sumerge en la descripción exhaustiva de la metodología experimental empleada para llevar a cabo la cuantificación precisa de plaguicidas. En particular, se utilizó la técnica de cromatografía de líquidos de alta eficiencia, en la cual cada paso y componente es de crucial importancia para garantizar resultados confiables y representativos. La cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) se revela como una herramienta fundamental, permitiendo la separación eficaz de los componentes presentes en las muestras y, en este caso, la detección y cuantificación precisa de plaguicidas. Se detallan las características esenciales que requiere este método analítico, tales como la selección adecuada de la columna cromatográfica, las condiciones óptimas de elución y el sistema de detección sensible y selectivo.

Por otra parte, se profundiza en la optimización del análisis mediante la espectrometría de masas de alta resolución, una técnica avanzada que proporciona información detallada sobre la composición de las sustancias presentes en las

muestras. En particular, se aplicó la espectrometría de masas con infusión directa por resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (FIA FTICR-MS). Esta técnica de última generación garantiza una elevada resolución y precisión en la identificación de los plaguicidas, permitiendo la detección de múltiples compuestos en una sola corrida. Se exploran meticulosamente las características singulares de esta metodología, que incluyen la generación y manipulación de iones, así como el proceso de transformada de Fourier para traducir señales complejas en información interpretable.

Además de presentar la metodología analítica, el capítulo 2 dedica especial atención a los materiales y equipos utilizados en el proceso de análisis. Cada componente desempeña un papel esencial en la obtención de resultados confiables y reproducibles. Se describen en detalle los instrumentos de cromatografía y espectrometría de masas, así como otros dispositivos y reactivos empleados en la preparación y el procesamiento de muestras.

No menos importante es el cuidado y la precisión con que se manejaron las muestras analizadas. Desde su recolección en la comunidad agrícola indígena de Jiquipilco, Estado de México, hasta su traslado al Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias de la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, se siguieron rigurosos protocolos de manejo y conservación. Cada paso fue meticulosamente documentado para asegurar la trazabilidad de las muestras y evitar cualquier posible contaminación o alteración.

En conjunto, este capítulo establece una base sólida para la comprensión de la metodología analítica empleada en esta investigación, destacando tanto los aspectos teóricos como prácticos que aseguran la validez y la calidad de los resultados obtenidos.

El tercer capítulo de este estudio representa el resultado final de los experimentos realizados, presentando un análisis detallado de los resultados obtenidos. En este capítulo se destapan los logros en la cuantificación precisa de plaguicidas mediante la utilización de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia, así como la

identificación cualitativa de los mismos a través de la espectrometría de masas de alta resolución.

Este apartado va más allá de la simple presentación de cifras y espectros, ya que profundiza en la interpretación de los datos. Uno de los enfoques clave adoptados aquí involucra la identificación de los principales metabolitos presentes en las muestras. Esto se logró mediante el empleo de un análisis de componentes principales (PCA), que permitió detectar patrones en los datos y agrupar metabolitos similares. La visualización de estos resultados se realizó mediante la elaboración de un mapa de calor, una herramienta gráfica que representa la intensidad de los metabolitos en las muestras. Cabe mencionar que, en algunos casos, estos metabolitos pueden causar daños significativos en la salud humana, lo que resalta la importancia de su detección y cuantificación precisa.

La discusión de los resultados en este capítulo no solo se limita a la mera presentación de hallazgos, sino que también se adentra en la comprensión de su significado. Se analiza la correspondencia entre los espectrogramas obtenidos en la identificación de plaguicidas y las curvas de calibración previamente establecidas, lo que proporciona un marco para evaluar la precisión y confiabilidad de los resultados. Además, se examina en detalle la relación entre los metabolitos identificados y sus posibles fuentes, lo que aporta un entendimiento más completo del contexto ambiental y agrícola.

Un pilar fundamental de este capítulo es la comparación de los resultados con los parámetros establecidos para los contaminantes en el agua potable, según la NOM 127-SSA1-1994. Este análisis permite evaluar si los niveles de plaguicidas y sus metabolitos detectados en las muestras cumplen con los estándares de seguridad establecidos. La integración de estas comparaciones con los hallazgos cualitativos y cuantitativos proporciona una perspectiva completa sobre la relevancia y el impacto de la presencia de plaguicidas en las muestras analizadas.

En resumen, el tercer capítulo trasciende la mera presentación de resultados, convirtiéndose en un análisis profundo y crítico que ilumina la relevancia de los hallazgos y su implicación en el contexto de la salud humana y el medio ambiente.

CAPÍTULO I: GENERALIDADES

En México se cultivan unas 200 especies vegetales, de ahí que en su cuidado se utilicen herbicidas, el uso de herbicidas es general en las áreas agrícolas, aunque se intensifica en las zonas tropicales por la abundancia de humedad propia de las lluvias abundantes y altas temperaturas, que bajo esas condiciones climáticas el crecimiento de las hierbas es rápido.

1.1 Plaguicidas

Desde el año 1200 A.C., se sabe que los antiguos egipcios empleaban la cicuta y el acónito (*Aconitum napellus*) para el control de plagas. Los plaguicidas se inventaron para proteger los cultivos de los insectos que los dañaban, reduciendo de esta manera su producción y disminuyendo sus recursos. Los primeros plaguicidas eran productos naturales, como el azufre, con la llegada de la revolución industrial, se comenzaron a utilizar fumigaciones con mezclas de sustancias químicas, como el sulfato de cobre con cal, el ácido carbónico y el disulfuro de carbono. Fue hasta la década de 1920 que en Estados Unidos se comenzaron a implementar productos sintéticos derivados del nitrógeno en la agricultura. Durante la Segunda Guerra Mundial, se empezaron a fabricar plaguicidas basados en cloro y, desde entonces, se han creado muchas sustancias plaguicidas por síntesis química (Bedmar, 2011).

Sin embargo, con el tiempo se ha descubierto que muchos de estos plaguicidas son perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente, ya que no solo matan a los insectos dañinos, sino también a otros organismos benéficos y a los seres humanos. Además, algunos de estos plaguicidas son persistentes, por lo que en el medio ambiente persisten por períodos de tiempo prolongados, causando daños a largo plazo.

Por esta razón, en los últimos años existe la preocupación de encontrar alternativas menos perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana, destaca en el manejo agronómico los sistemas de producción de la agricultura ecológica, que se apoya en enemigos naturales, la diversidad de cultivos y el uso de plantas y microorganismos como enemigos naturales de las plagas. La investigación en este

ámbito sigue siendo una prioridad para garantizar la producción agrícola sostenible, la protección de la salud humana y el medio ambiente (Ondarse, 2021).

1.1.1 Clasificación

La definición de plaguicidas de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) es la siguiente: "Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a destruir o combatir cualquier plaga, ya sea especies de plantas o animales, en los cultivos de alimentos durante su etapa de producción, almacenamiento y transporte"(Navas & García, 2019).

Estas sustancias incluyen funciones como reguladoras de crecimiento vegetal, plantas, defoliantes, desecantes, o inhibidores de la germinación. Los fertilizantes, nutrientes y aditivos no son plaguicidas.

Existen varias maneras de clasificar los plaguicidas, en las Figuras; 1.1, 1.2 y 1.3 se muestran formas de esta clasificación:

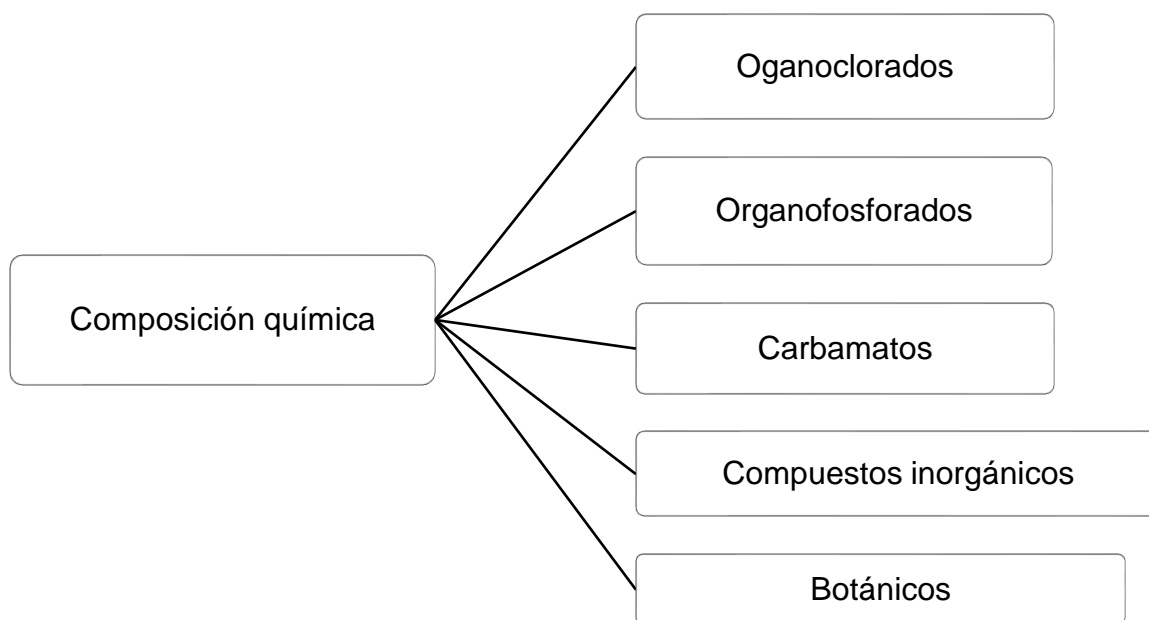


Figura 1.1: Clasificación de los plaguicidas por su composición química [elaboración propia]

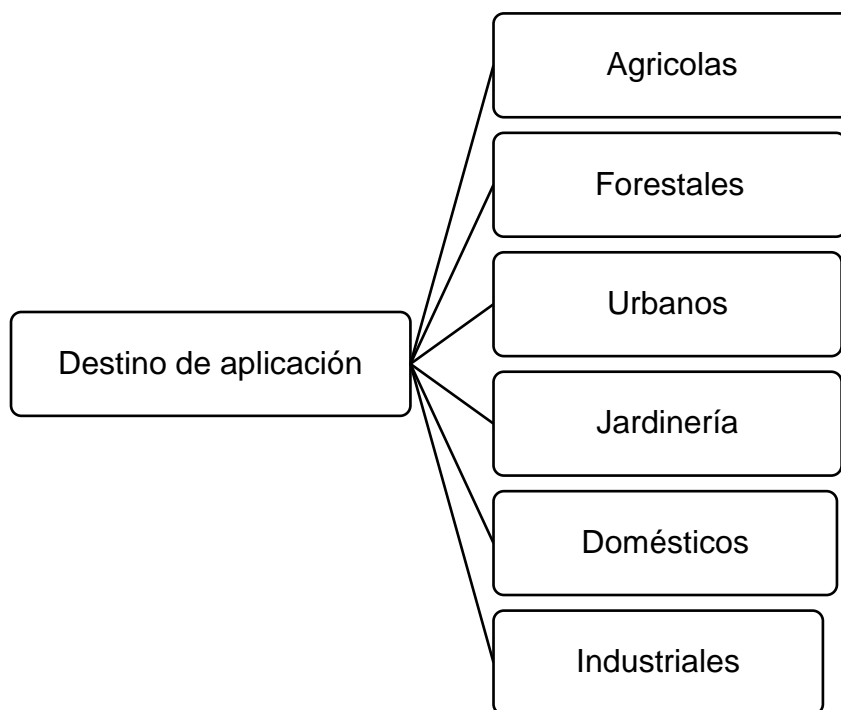


Figura 1.2: Clasificación de los plaguicidas por su destino de aplicación [elaboración propia]

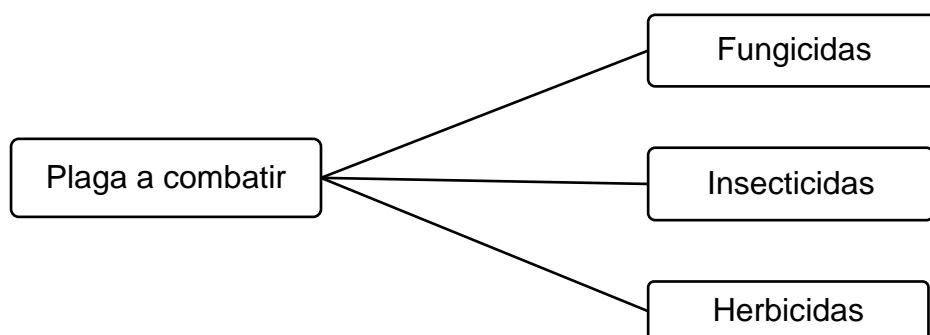


Figura 1.3: Clasificación de los plaguicidas por la plaga a combatir [elaboración propia]

1.1.2 Clasificación por su modo de acción

A su vez los herbicidas se pueden clasificar por su modo de acción (Figura 1.4, 1.5 y 1.6):

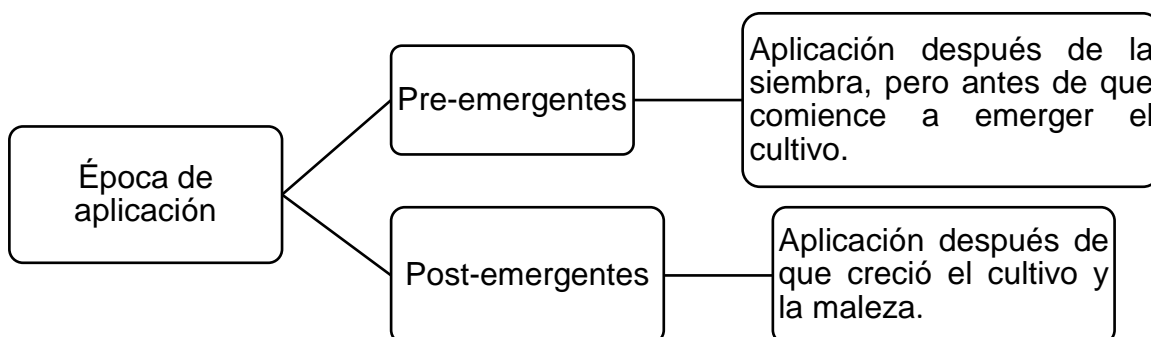


Figura 1.4: Clasificación de los herbicidas por su época de aplicación [elaboración propia]

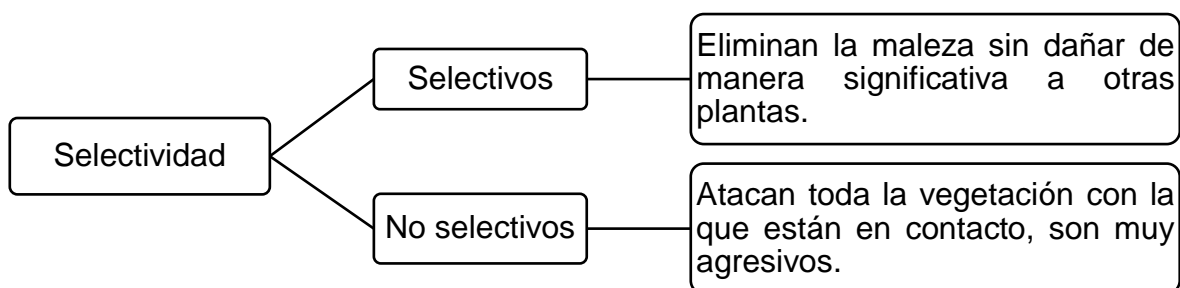


Figura 1.5: Clasificación de los herbicidas por selectividad [elaboración propia]

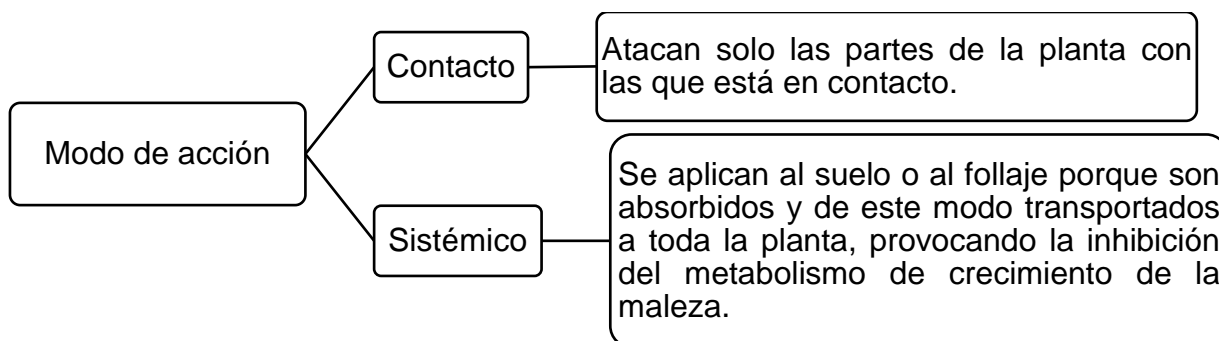


Figura 1.6: Clasificación de los herbicidas por su modo de acción [elaboración propia]

1.1.3 Toxicidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica las sustancias químicas por su toxicidad utilizando un indicador conocido como Dosis Letal 50 (DL₅₀). Este parámetro representa la cantidad mínima de una sustancia que puede causar la muerte del 50% de una población de animales de prueba. La DL₅₀ se expresa en miligramos por kilogramo (mg/kg).

En México, la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Usos de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) es la entidad responsable de regular la importación y exportación de plaguicidas. La organización cuenta con un catálogo de plaguicidas clasificados, tomando como referencia la toxicidad recomendada por la OMS basada en la DL₅₀ obtenida a partir de pruebas realizadas en ratas mediante administración oral aguda de los plaguicidas.

En la Tabla 1.1 se muestra las categorías de toxicidad de las sustancias en base a DL₅₀(Islas, 2013):

Tabla 1.1: Clasificación de los herbicidas de acuerdo con su categoría de toxicidad.

Categoría	DL ₅₀ oral (mg/kg)	DL ₅₀ dérmico (mg/kg)	Herbicida
Extremadamente tóxico	<5	<20	Terbufos,oxamil
Altamente tóxico	5-50	20-200	Paraquat, ometoato
Moderadamente tóxico	50-500	200-2000	Acetoclor,bromoxinil
Ligeramente tóxico	>500	>2000	Glifosato, atrazina

[Tomado de(Enríquez, 2004)]

1.2 Herbicidas más comunes en México

En México, aproximadamente el 13% de su territorio está dedicado a la agricultura, y se estima que en el 75% de dicha superficie se aplican herbicidas, de ahí la importancia de este estudio.

La maleza es una plaga común que afecta a los cultivos en México. Para manejar este problema, los agricultores utilizan herbicidas, que son productos químicos diseñados para matar o controlar el crecimiento de las plantas no deseadas.

Entre los herbicidas más comunes en México se encuentran el glifosato, la atrazina, el paraquat, el 2,4-D y el mesotrione, en los cuales se enfoca este estudio.

1.2.1 Glifosato

En México el herbicida glifosato se aplica en cantidades de 1.5 kilogramos por hectárea (kg/ha) en la agricultura de autoconsumo, hasta unos 4.3 kg/ha en la agricultura intensiva. Comercialmente este herbicida se conoce con los nombres de Faena®, Cacique 480®, Nobel 62%®, Lafam®, Eurosato®, Agroma®, Trinchera, Herbifox, Látigo, Mochilero, Bombazo, Secafín, Torbellino, Potro, Aquamáster, entre otros, que contienen el glifosato como ingrediente activo. Bayer es la empresa propietaria de Monsato, el mayor fabricante de glifosato a nivel mundial (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2018).

El glifosato es un herbicida organofosforado, de amplio espectro, se introdujo al mercado en 1974, actualmente es ampliamente utilizado en todo el mundo. Su nombre químico es sal isopropilamina de N-(fosfono metil) glicina (ver Figura 1.7) y es un producto no selectivo con acción foliar que se ingresa en las plantas a través de las hojas (Slyfe, 2000).

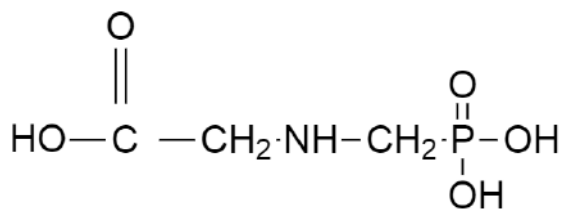


Figura 1.7: Estructura química del glifosato
[tomado de (Leyva et al., 2018)]

El glifosato es un ácido orgánico, soluble en agua, derivado fosfonometilo del aminoácido glicina; en su estructura tiene un grupo funcional amino en la mitad de la molécula, y dos grupos ácidos (un carboxílico y otro fosfónico), la molécula de glifosato posee características anfotéricas, ello explica su potente actividad quelante en los cationes divalentes: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} de ahí que forma con estos nutrientes compuestos complejos estables (Leyva *et al.*, 2018).

Es un polvo cristalino sin color ni olor, soluble en agua e insoluble en disolventes orgánicos, con una pureza de calidad técnica generalmente mayor al 90%. Se utiliza en cultivos como maíz, frijol, trigo, tomate, cítricos, papa, entre otros (Slyfe, 2000). Su uso masivo tiene un impacto negativo en el medio ambiente. El glifosato es tóxico para los peces y las plantas acuáticas y puede remover nutrientes de las plantas, haciéndolas más susceptibles a enfermedades. Además, ha sido catalogado como uno de los plaguicidas más peligrosos por la Red de Acción en Plaguicidas (PAN) (Pesticide Action Network, 2018).

El contacto con el glifosato también puede tener graves consecuencias para la salud humana. Según estudios (Rossi, 2020), la exposición prenatal a este herbicida se ha asociado con desórdenes del espectro autista, y también es considerado como un alterador hormonal que puede provocar pérdidas tempranas del embarazo y malformaciones en recién nacidos. Asimismo, se ha demostrado que puede causar daño a los riñones y al sistema nervioso (Rossi, 2020).

Además, algunos estudios han demostrado que el uso prolongado de herbicidas como el glifosato puede provocar la aparición de malezas resistentes a estos

compuestos, lo que a su vez puede llevar a un aumento en la cantidad de herbicida utilizado y en la complejidad de su manejo (Byker *et al.*, 2022).

1.2.2 Dicloro fenoxiacetico (2,4-D)

En la agricultura el 2,4-D es un herbicida que se utiliza principalmente para suprimir las hierbas de hoja ancha en cultivos de arroz, avena, caña de azúcar, centeno, espárrago, maíz, trigo y sorgo. Al mercado se dio a conocer en 1946.

El ácido 2,4 dicloro fenoxiacetico (2,4-D) (ver Figura 1.8) es un herbicida ampliamente utilizado en todo el mundo para el control de malezas en cultivos agrícolas, forestales y en zonas urbanas. En México, el uso del 2,4-D es común en la agricultura, y se ha encontrado en diferentes estudios su presencia en el agua, suelo, aire y alimentos (Sun *et al.*, 2020).

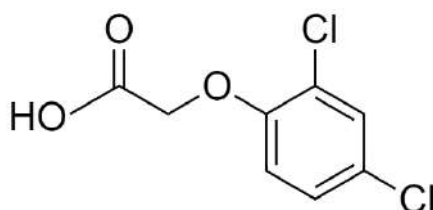


Figura 1.8: Estructura química del 2,4 -D
[tomado de (Baez & Zincker, 1999)]

Es un compuesto orgánico clorado que pertenece a la familia de los ácidos fenoxi, es un polvo cristalino blanco, sin olor en estado puro, es ligeramente soluble en agua (900 mg/L) (Universidad Nacional Heredia, 2022). Actúa como regulador de crecimiento vegetal, afecta el crecimiento de las malezas al inducir la división celular descontrolada y la muerte celular. Además de controlar malezas en cultivos anuales, el 2,4-D se utiliza en áreas forestales, en la jardinería y el paisajismo para controlar malezas.

En México se utiliza en los cultivos de caña de azúcar, arroz, maíz, café y vegetación acuática, también se utiliza en combinación con otros herbicidas para el control selectivo de malezas de hoja ancha. La dosis por aplicar y la combinación con otros

herbicidas depende del tipo de maleza que se debe controlar, el clima y otros factores ecológicos.

Se comercializa como concentrado soluble en agua para ser aplicado mediante aspersión a los cultivos. Pese a su amplio uso en agricultura, es un compuesto tóxico que puede causar daños en el sistema respiratorio y nervioso cuando se inhala o ingiere en grandes cantidades (Baez & Zincker, 1999).

Es importante destacar que el 2,4-D está clasificado como herbicida de baja toxicidad cuando se expone oralmente, pero como altamente tóxico cuando se expone a los ojos. La principal forma de contacto con los humanos es a través de la piel, aunque también puede ser inhalado a través de las pequeñas partículas que se dispersan en los cultivos durante su aplicación.

1.2.3 Mesotrione

La planta conocida como cepillo (*Callistemon citrinus*) permitió que los desarrolladores de herbicidas de Zeneca, hoy Syngenta, identificaran la leptospermona como herbicida natural, de ahí sintetizaron el herbicida mesotriona, que se comercializa en el mundo desde el año 2001. Este producto con actividad de herbicida preemergente y postemergente sobre malezas de hoja ancha, se ocupa en cultivos como el maíz. Es un producto de Syngenta. En el mercado comercialmente se le encuentra como Calisto, Calaris. Mesotron 480 SC, Comander, Mesotrione, entre otros nombres, es un herbicida sistémico residual selectivo (Hopkins, 2011).

El herbicida 2-(4-metil-2-nitrobenzoil) ciclohexano-1,3-diona (ver Figura 1.9), pertenece a la familia de las tricetonas, comúnmente conocido como mesotrione, es un herbicida sistémico ampliamente utilizado para el control de malezas en cultivos de maíz, sorgo y otros cultivos de cereales.

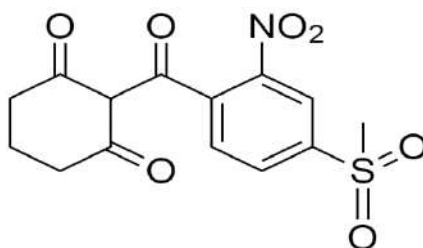


Figura 1.9: Estructura química del mesotrione [tomado de (Hopkins, 2011)]

El Mesotrione actúa inhibiendo la síntesis de la clorofila y otros pigmentos fotosintéticos en las plantas. Esto conduce a una decoloración de las hojas y finalmente a la muerte de la planta. Se sabe que el mesotrione es efectivo contra una amplia variedad de malezas, incluyendo especies resistentes a otros herbicidas como el glifosato.

En cuanto a sus características físicas y químicas, el mesotrione es un sólido cristalino amarillo claro. Tiene una solubilidad moderada en agua y es estable bajo condiciones ambientales normales. Se descompone a altas temperaturas y bajo condiciones de luz intensa. Puede ser vendido en combinación con otros herbicidas como la atrazina y la terbutilazina, también está disponible como un concentrado soluble (Universidad Nacional de Costa Rica, 2020).

A pesar de su efectividad en el control de malezas, el Mesotrione también ha sido objeto de preocupación en cuanto a su impacto ambiental y su seguridad para la salud humana. Estudios han demostrado que el Mesotrione puede persistir en el suelo y en el agua durante largos períodos de tiempo, lo que puede tener consecuencias negativas para el medio ambiente y la biodiversidad. También se ha encontrado que el Mesotrione puede ser tóxico para algunos organismos acuáticos y puede tener un impacto negativo en la calidad del agua (Kaundun *et al.*, 2017).

En cuanto a la seguridad humana, se han realizado estudios para evaluar el potencial carcinogénico del Mesotrione, pero los resultados han sido mixtos y no concluyentes. Sin embargo, se ha demostrado que el Mesotrione puede ser tóxico

para las células humanas en cultivo y puede afectar la función celular (United States Environmental Protection Agency, 2001).

1.2.4 Atrazina

La atrazina apareció en el mercado en 1958, en México se utiliza desde 1975, es muy conocido con el nombre comercial de Gesaprim. Es un herbicida selectivo, se aplica al suelo como herbicida preemergente, se absorbe por las raíces o las hojas de las hierbas. Es de uso frecuente en los cultivos de maíz, sorgo, caña de azúcar, trigo, campos de golf, césped de jardines, malezas acuáticas en lagos y estanques, en los márgenes de carreteras, vías férreas, líneas eléctricas, entre otros.

Su nombre químico es 1-cloro-3-etilamino-5-isopropilamino-2,4,6-triazina (ver Figura 1.10), es un polvo blanco, sin olor e inflamable, es soluble en agua.

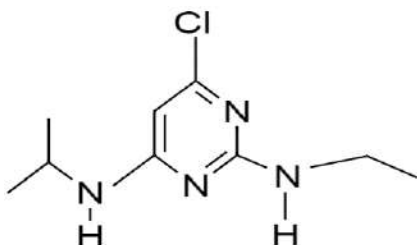


Figura 1.10: Estructura química de atrazina
[tomado de (Rayner et al., 2005)]

Es un herbicida artificial de uso restringido, ya que en otros países como Estados Unidos y en la Unión Europea solo lo pueden utilizar personas que cuenten con la certificación de la oficina estatal; es utilizado para controlar el crecimiento de maleza en cultivos como maíz, caña de azúcar, piña y una variedad de pastos. También se utiliza para prevenir el crecimiento de hierbas a lo largo de las carreteras.

La atrazina se disuelve en agua y entra a las plantas por medio de sus raíces, de esta manera actúa sobre los brotes y las hojas de la hierba deteniendo la fotosíntesis y de este modo deteniendo su crecimiento.

Se comercializa en forma de polvo, líquido o gránulos para ser aplicados sobre el suelo de los cultivos antes de que empiecen a crecer y después de que han

emergido del suelo. Su eficacia aumenta si se aplica en los meses de primavera y verano.

Puede estar en contacto con el ser humano al ser absorbido por la piel, ser inhalado o ingerido, de esta manera llega al torrente sanguíneo distribuyéndose a todo el cuerpo; acumulándose principalmente en los glóbulos rojos, el hígado, riñones y bazo. El exceso de herbicida en el cuerpo se expulsa por medio de la orina (Resumen de Salud Pública, 2021).

Causa daños en el sistema reproductivo aumentando el riesgo de un parto prematuro, además de que se ha comprobado que produce daños en los recién nacidos como defectos en el corazón, vías urinarias y extremidades; también causa daño en el hígado y los riñones una vez que ingresa al organismo (Procuraduría Federal del Consumidor, 2021).

Además, según un estudio publicado en la revista *Toxicological Sciences* (Rayner *et al.*, 2005), la exposición a la atrazina se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama y próstata en humanos. Otro estudio publicado en la revista *Reproductive Toxicology* (Foster, 1997) encontró que la exposición a la atrazina puede disminuir la calidad del esperma en los hombres y causar trastornos hormonales en ambos sexos.

Es importante destacar que la atrazina es un contaminante ambiental persistente y está presente en el suelo, agua y aire de muchos lugares alrededor del mundo. Según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), la atrazina es uno de los herbicidas más ampliamente utilizados en el mundo y es detectada con frecuencia en muestras de agua subterránea y corrientes de agua (Mason, 2021).

1.2.5 Paraquat

El paraquat es un herbicida que se comercializa desde 1961, conocido también como dicloruro de paraquat o gramoxone y se aplica en los campos agrícolas de unos cien cultivos, entre ellos algodón, maíz, soya, entre otros. Gramoxone es un herbicida agrícola desecante de contacto, no selectivo por ello se ocupa para el control de hierbas de hoja ancha y zacates. En el mercado se le encuentra con los nombres de Gramoxone, Dragueson, Diabloquar, Antorcha, Cerillo, Dextrone, Gramoxone Super 20 SL, Herbipol Paraquat, Poloquat, Lucaquat 25% S.A, Mataquat 25% S.A, Solaquat 25 % S.A, Quemoxone, Paraxone, Helmquat, Sagaquat/ Desequat/ Foliquat Sanaquat 25% y Veloxone, entre otros nombres. Este herbicida fue desarrollado por Syngenta (Madeley, 2002).

Su nombre químico es dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo (ver Figura 1.11), es un sólido cristalino de color ligeramente amarillo, es insoluble en hidrocarburos, pero muy soluble en agua.

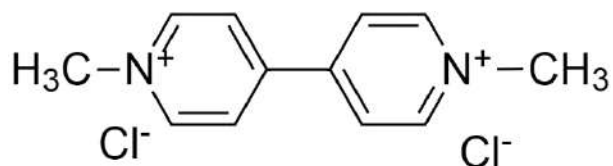


Figura 1.11: Estructura química del paraquat [tomado de (Madeley, 2002)]

El paraquat es un herbicida de amplio espectro y de acción total que actúa por contacto. Está clasificado para uso agrícola e industrial y se utiliza para el control no selectivo de malezas, especialmente las de hoja ancha, en cultivos como el algodón, papa, piña, caña de azúcar, soya y girasol. Este compuesto se comercializa como un concentrado soluble o en suspensión para ser aplicado en los cultivos, y para uso industrial está destinado solo para plantas formuladoras de plaguicidas como líquido técnico en equivalentes en gramos de ingrediente activo (Galo, 2018).

El paraquat daña los tejidos con los que entra en contacto al ser ingerido y causa más daños en los pulmones, donde se puede absorber con una mayor concentración, así como en los riñones y el hígado (Hernández & Martínez, 2000).

Es importante tener en cuenta que los terrenos tratados con estas sustancias a menudo están en contacto con áreas residenciales y que se puede estar expuesto a pequeñas cantidades de paraquat. Por lo tanto, es importante conocer los efectos que producen en el organismo y en el ambiente en general.

Es importante destacar que, aunque estos productos son efectivos en la lucha contra la maleza, también pueden tener impactos negativos en el medio ambiente y la salud humana si no se utilizan de manera responsable. Por lo tanto, es fundamental seguir investigando sobre los efectos a largo plazo de los herbicidas y buscar alternativas sustentables para controlar la maleza en los cultivos.

1.3 Efectos adversos de los plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para controlar las plagas que afectan a los cultivos y la salud de las personas. A pesar de su efectividad, estos productos pueden tener efectos adversos tanto en la salud como en el medio ambiente. A continuación, se presentan algunos de los efectos adversos de los plaguicidas documentados en la literatura científica.

1.3.1 Salud

La exposición a plaguicidas puede tener efectos negativos en la salud humana a través de varias vías de ingreso. Según un estudio realizado por Grandjean y Landrigan (Grandjean & Landrigan, 2014), la exposición a plaguicidas puede causar efectos neurotóxicos en los niños, incluyendo problemas de aprendizaje, trastornos del espectro autista y trastornos del desarrollo neurológico. Además, algunos estudios han relacionado los plaguicidas con el cáncer (Ascherio *et al.*, 2006).

Los plaguicidas son tóxicos para las plantas y los seres humanos a partir de ciertas dosis. La exposición puede ocurrir de manera directa o indirecta, a menudo a través de residuos presentes en los alimentos, el suelo y el agua. Afectando a una gran

cantidad de personas que no son conscientes de la presencia de plaguicidas en su entorno (Wolansky, 2011).

Las principales vías de ingreso de los plaguicidas al cuerpo humano son:

- **Dérmica:** Se origina por el mal manejo de los plaguicidas al momento de su preparación, limpieza de equipos y derrames accidentales.
- **Oral:** Se produce debido a que se transfirió el plaguicida a un recipiente que estaba destinado para almacenar comida o agua, además de no lavar las manos después de haber manejado estas sustancias.
- **Respiratoria:** Es provocada por la presencia de componentes volátiles que pueden causar daños en la nariz, garganta y pulmones.
- **Ocular:** Se origina cuando al momento de aplicar el plaguicida rebote con la vegetación o alguna otra superficie de tal modo que llegue al ojo; por lo general es causado por los plaguicidas granulados.

La distribución del plaguicida en el cuerpo es por medio del torrente sanguíneo y son excretados por medio de la orina.

Los efectos de los plaguicidas en la salud dependen del tiempo de exposición y de la dosis ingerida por el cuerpo, siendo mayor el daño en función de la cantidad ingerida.

Los efectos en la salud se pueden clasificar como:

- **Agudos:** Son efectos leves y pasajeros, abarcan desde la irritación de los ojos, piel y vías respiratorias. También se pueden presentar efectos moderados como una crisis asmática o llegar hasta una convulsión.

Se presentan durante las primeras 24 horas después de la exposición.

- **Crónicos:** Son provocados debido a una exposición prolongada del plaguicida en concentraciones muy bajas, lo cual puede provocar

alteraciones respiratorias, cáncer, daños en el sistema nervioso y reproductivo.

Los principales efectos en la salud son (Herrera *et al.*, 2019):

- **Neurotóxicos:** Se presentan dificultades en funciones como velocidad psicomotora, verbal, atención, memoria, velocidad de pensamiento y coordinación.
- **Salud reproductiva:** Provocan la disminución de la concentración de los espermatozoides, también se asocian con la infertilidad y la alteración de la calidad del semen.
- **Sistema inmune:** Los plaguicidas pueden estimular o inhibir el sistema inmune, depende de la dosis ingerida.
- **Genotóxicos:** El daño causado por estas sustancias en el ADN provoca cambios en el ADN genómico que se reconocen como cancerígenos.
- **Teratogénicos:** Producen alteraciones en el desarrollo normal del embrión, las cuales son malformaciones como la espina bífida, labio leporino, síndrome de Down y alteraciones en el metabolismo.

La exposición a plaguicidas puede tener efectos negativos en la salud humana a través de varias vías de ingreso. Es importante tomar medidas para minimizar la exposición a estas sustancias, incluyendo el uso de prácticas agrícolas sostenibles y medidas de seguridad adecuadas para los trabajadores agrícolas.

1.3.2 Medio Ambiente

La contaminación por plaguicidas en el medio ambiente se origina por la aplicación directa en los cultivos, residuos descargados en el suelo de manera accidental y el uso inadecuado que les da la población a los recipientes que lo contienen. Todos estos factores hacen que los plaguicidas se distribuyan en el ambiente en el suelo, agua y aire, provocando que se conviertan en una fuente de contaminantes,

amenazando su estabilidad y presentando un peligro para la salud pública (Suárez & Palacio, 2014).

Sus efectos en el ambiente se pueden dividir en:

- Contaminación del aire:

Se originan por la aplicación de los plaguicidas por medios aéreos para combatir a los insectos voladores y debido al pequeño tamaño de las partículas se genera un arrastre hacia las zonas pobladas vecinas.

- Contaminación del agua:

Se origina debido a la descarga de agua residuales de las industrias que producen plaguicidas, por la descarga del lavado de los recipientes utilizados en la aplicación de estos o por la aplicación directa del plaguicida en el agua para el control de plagas en las plantas acuáticas.

Los plaguicidas producen olores y sabores desagradables en el agua, aun cuando esté presente en bajas concentraciones, por tal motivo es rechazada para consumo humano.

Algunos plaguicidas son resistentes a la degradación y por tal motivo se mantienen durante periodos largos de tiempo en aguas subterráneas y superficiales.

Por ejemplo, un estudio realizado por Rodríguez Aguilar (2019) encontró que la exposición a plaguicidas en los cuerpos de agua puede tener efectos negativos en los organismos acuáticos. El estudio examinó la presencia de plaguicidas en el río Ayuquila-Armería, México y encontró que los organismos acuáticos expuestos a estos productos químicos experimentaron cambios en su comportamiento, fisiología y bioquímica. Los autores concluyen que los plaguicidas pueden tener efectos negativos en los ecosistemas acuáticos y en la biodiversidad (Rodríguez *et al.*, 2019).

- Contaminación del suelo:

Se origina por el tratamiento directo de los cultivos con los plaguicidas, por derrames accidentales de los residuos o al ser arrastrados por la lluvia las partículas excedentes de las plantas tratadas.

Algunos plaguicidas como el DDT (dicloro difenil tricloroetano) pueden permanecer en el suelo por periodos de 5 a 30 años.

La distribución de los plaguicidas en las plantas y microorganismos depende de la capacidad de absorción que tenga y de la naturaleza del suelo, ya que en un suelo con gran capacidad de absorción puede inactivar al plaguicida ya que evitará que este sea absorbido por la plaga a la que está destinada (Suárez & Palacio, 2014).

Debido al constante uso de los plaguicidas en los cultivos los niños de las comunidades agrícolas han estado expuestos a dichas sustancias de manera inconsciente, por los residuos que quedan en el suelo y en el agua, por tal motivo es importante conocer uno de los casos de contaminación que se han presentado en el país, dicho tema será abordado en el siguiente apartado.

1.3.3 Fauna

Los plaguicidas son sustancias químicas diseñadas para controlar y erradicar plagas de insectos, hongos, malezas y otros organismos que pueden afectar la producción agrícola y, por ende, la seguridad alimentaria. Sin embargo, estos compuestos también pueden tener efectos negativos en la fauna, incluyendo la biodiversidad, la ecología y la salud de los animales.

Uno de los efectos más evidentes de los plaguicidas en la fauna es la mortalidad de los organismos expuestos. Un estudio publicado en la revista ecosistemas encontró que los plaguicidas pueden afectar a las poblaciones de insectos polinizadores, como las abejas, y otros invertebrados en los sistemas agrícolas. Estos insectos son vitales para la polinización de los cultivos y el mantenimiento de la biodiversidad en los ecosistemas naturales. La exposición a plaguicidas puede afectar su

capacidad de reproducirse, alimentarse y navegar, lo que puede llevar a una disminución en su número y diversidad (Botías & Sánchez, 2018).

Además de la mortalidad directa, la exposición a plaguicidas también puede tener efectos sub-letales en la fauna, lo que puede afectar su capacidad para sobrevivir y reproducirse. Un estudio publicado en la revista "Integrated Environmental Assessment and Management" examinó los efectos de la exposición crónica al insecticida organofosforado (OP) clorpirifos en el desarrollo y la reproducción de la rana toro. Los resultados mostraron que la exposición a bajas dosis de clorpirifos durante los primeros estudios de desarrollo de la rana toro redujo significativamente la tasa de supervivencia de los renacuajos, disminuyó el crecimiento de los juveniles y afectó la función reproductiva de los adultos. Los autores concluyeron que los plaguicidas OP, como el clorpirifos, pueden tener efectos negativos en la fauna acuática, especialmente en los anfibios, que son considerados bioindicadores de la salud del ecosistema (Disner *et al.*, 2021).

En un estudio similar, publicado por Camacho María (2013) en la revista "Science Direct", se examinaron los efectos de la exposición a plaguicidas en la tortuga verde en el Pacífico Sur. Los resultados mostraron que las tortugas verdes estaban expuestas a múltiples plaguicidas a través de su dieta y del medio ambiente, y que algunos compuestos, como los organoclorados y los neonicotinoides, tenían efectos negativos en su salud y supervivencia. Los autores concluyeron que la exposición crónica a plaguicidas puede ser una amenaza para la conservación de las tortugas y otros organismos marinos (Camacho *et al.*, 2013).

Además de los efectos mencionados anteriormente, los plaguicidas también pueden tener un impacto indirecto en la cadena alimentaria, al afectar a las especies que se alimentan de los insectos expuestos. Un estudio publicado en la revista "Science Direct" encontró que la exposición a plaguicidas puede afectar la supervivencia y el crecimiento de los depredadores naturales, como las aves y los mamíferos, que se alimentan de los insectos. Esto puede alterar el equilibrio natural del ecosistema y llevar a una disminución en la biodiversidad (Brühl & Zaller, 2021).

Es importante destacar que los efectos de los plaguicidas en la fauna pueden ser especialmente graves en especies en peligro de extinción o especies que ya están en declive, por lo que es importante tomar medidas para reducir la exposición de la fauna a los plaguicidas, incluyendo el uso responsable de estos compuestos en la producción agrícola, la promoción de prácticas agrícolas más sostenibles y la regulación efectiva de los plaguicidas. También es necesario promover investigaciones adicionales para comprender mejor los efectos de los plaguicidas en la fauna y desarrollar alternativas más seguras y efectivas para el control de plagas.

1.4 Contaminación con plaguicidas de niños en México

El uso generalizado de plaguicidas ha sido objeto de estudio en diversos artículos científicos que resaltan sus efectos negativos en la salud humana, la fauna y el medio ambiente.

En cuanto a la distribución de uso de plaguicidas en México, un estudio realizado por Omar Arellano & Osten Jaime (2016) menciona que los estados con mayor uso de plaguicidas son Sinaloa, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México y Puebla (ver Figura 1.12) (Arellano & Osten, 2016).

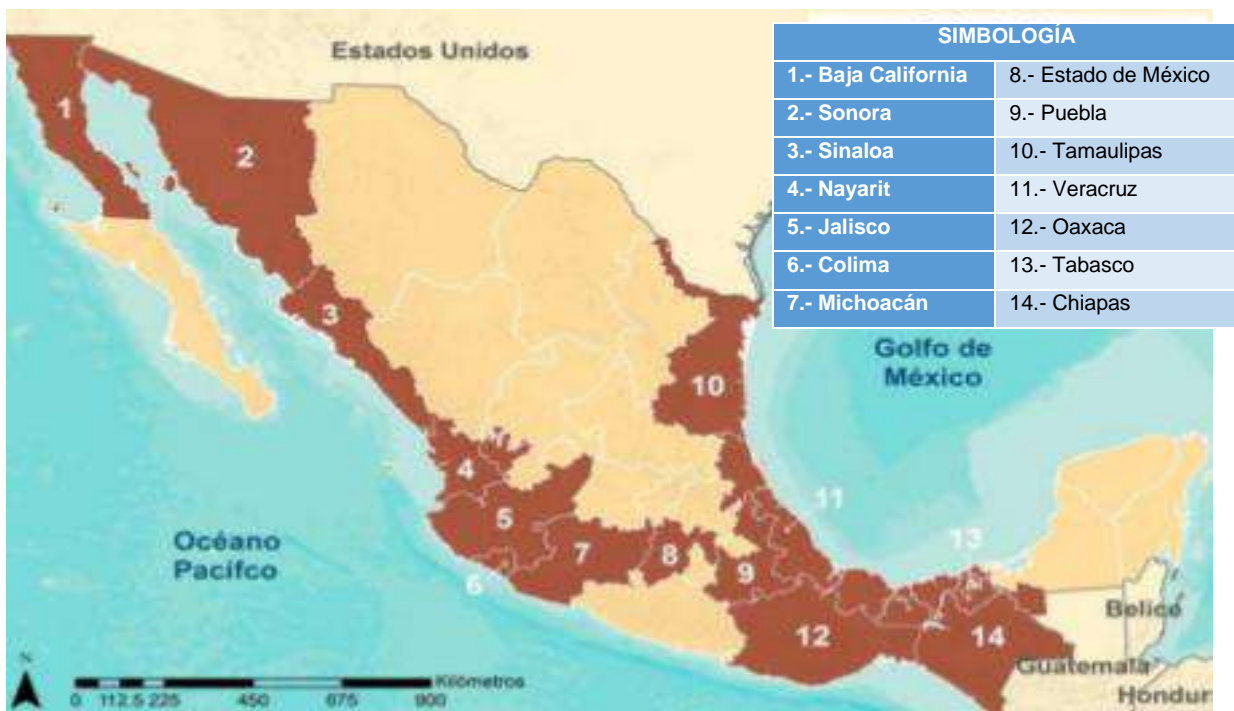


Figura 1.12: Estados de la república Mexicana con mayor uso de plaguicidas [tomado de (Flores et al., 2019)]

Respecto a los cultivos a los que se aplican mayores cantidades de plaguicidas en México, un artículo publicado por Ávila Agustín (2019) indica que el maíz, el algodón, el chile, la papa, el jitomate, el frijol, los cítricos y el sorgo son los más afectados, con una cantidad de plaguicidas que va de 395 hasta 13,163 toneladas al año (ver Figura 1.13) (Ávila *et al.*, 2019).

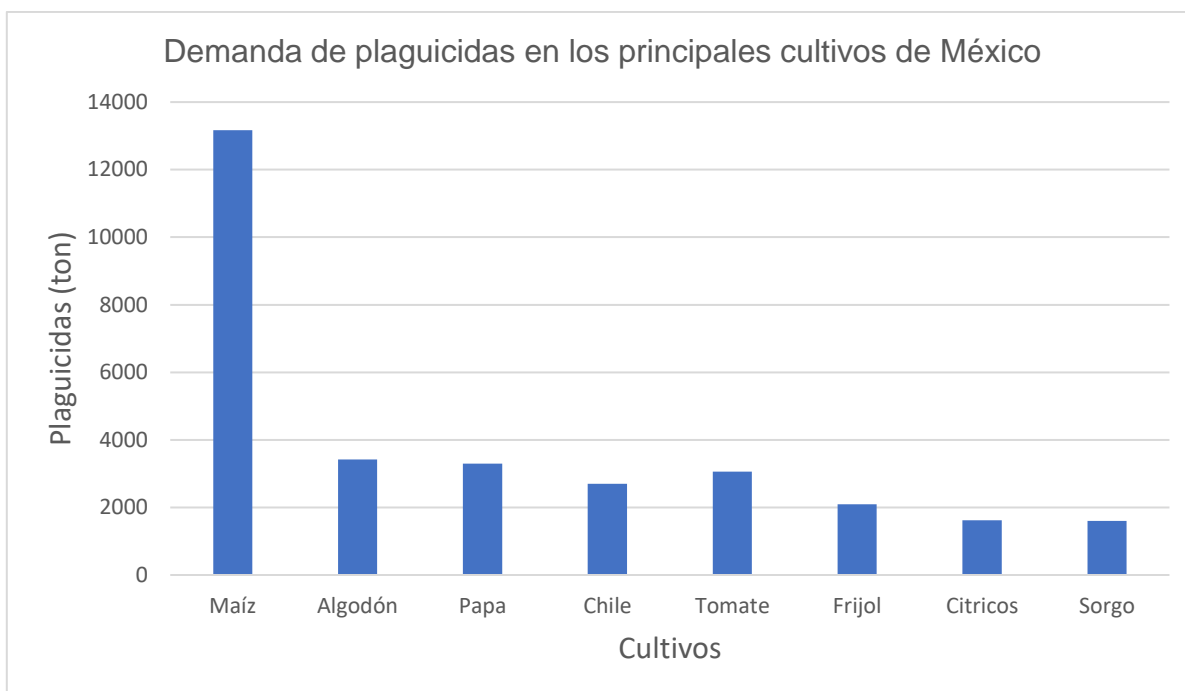


Figura 1.13: Demanda de plaguicidas en los principales cultivos de México
[tomado de (Ávila et al., 2019)]

La intoxicación con plaguicidas es un problema de salud pública en México, especialmente en las comunidades rurales donde la exposición a estas sustancias es más frecuente. En algunas de estas comunidades, la orina de los niños y adolescentes presenta residuos de varios plaguicidas altamente tóxicos, lo que puede provocar diversos problemas de salud que van desde leves como un dolor de cabeza o vómitos, hasta graves como la insuficiencia renal y cáncer (Ribeiro, 2020).

Estudios científicos confirman la presencia de plaguicidas altamente tóxicos en niños y adolescentes de zonas rurales de Jalisco, México, lo cual ha generado preocupación por los problemas de salud que pueden provocar. Según un estudio de 2019 en las comunidades de Agua Caliente, Jalisco, se encontró que en 281 muestras de orina de niños y adolescentes la presencia de residuos de dos o más plaguicidas. Las principales sustancias encontradas fueron malatión, metoxuron, glifosato y dimetoato, lo que se relaciona con la exposición de los pobladores a las

siembras industriales, así como la contaminación del agua de riego y de consumo humano (Díaz *et al.*, 2019).

Asimismo, otro estudio llevado a cabo en la zona de El Mentidero, Jalisco, encontró la presencia de residuos de seis plaguicidas, entre ellos glifosato y 2-4 D, ambas sustancias declaradas como cancerígenos por la Organización Mundial de la Salud. Estos hallazgos subrayan la importancia de regular el uso de plaguicidas en la agricultura. Es importante destacar que Jalisco es una entidad agroalimentaria con casi 12 millones de hectáreas dedicadas a la agricultura, lo que ha provocado la contaminación de suelos, agua y aire por sustancias agrotóxicas, generando la intoxicación de las poblaciones rurales de los alrededores (Ribeiro, 2020).

En México, la normatividad que regula el uso de plaguicidas es compleja y varía según el tipo de plaguicida y su uso. Sin embargo, existen regulaciones y restricciones en el uso de algunos plaguicidas. Por ejemplo, en 2018 se prohibió el uso de 300 sustancias químicas en México, incluyendo el pesticida endosulfán (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2018).

Los estudios científicos muestran la presencia de residuos de plaguicidas altamente tóxicos en la orina de niños y adolescentes en comunidades rurales de Jalisco, lo cual puede tener consecuencias graves para la salud. Es importante que se refuercen y apliquen las normas y restricciones existentes para el uso de plaguicidas en la agricultura para proteger la salud de la población y el medio ambiente.

1.5 Normatividad regulatoria del uso de plaguicidas en México y panorama actual

Es necesario que en México se refuercen y se apliquen normas para prohibir el uso de los herbicidas más peligrosos en la agricultura, ya que los trabajadores agrícolas sufren intoxicaciones por dichas sustancias. Existen herbicidas como: Glifosato, Alaclor (2-cloro-2, 6-dietil-N-metoximetilacetanilida), Atrazina y Paraquat, que se han identificado por su potencial daño a la salud humana de tipo crónico, como el cáncer y las afectaciones endócrinas. También se identifica a los insecticidas Fipronil e Imidacloprid que además de impactar a la salud humana, ponen en riesgo a la vida de las abejas. En la agricultura mexicana la mayor aplicación de herbicidas corresponde a los cultivos de maíz, sorgo, hortalizas como chile y los cultivos florícolas. Se estima que la agricultura mexicana utiliza 1.77 kg de plaguicidas por hectárea (kg/ha); sus socios comerciales como Canadá ocupan 2.37 kg/ ha, mientras que los Estados Unidos 2.54 kg/ha. La comercialización de los herbicidas calificados como altamente peligrosos, son principalmente de las marcas: Bayer-Monsanto, Syngenta, Basf, Corteva FMC (FAO, 2011).

Preocupantemente, el 60% de los 22 plaguicidas clasificados como perjudiciales para la salud y el medio ambiente son empleados en México, así como 30 de los 90 plaguicidas prohibidos en los Estados Unidos (INEGI, 1999).

La FAO recomienda que el control de los plaguicidas esté en manos de una sola autoridad responsable y que las legislaciones aborden los siguientes aspectos para el control de dichas sustancias:

- Registro y control de plaguicidas
- Criterios ecológicos para el registro
- Datos de eficiencia para el registro
- Registro de agentes biológicos para el control de plagas
- Envasada y almacenamiento
- Correcto etiquetado
- Distribución de plaguicidas a menudeo

- Almacenamiento en punto de venta
- Eliminación de envases y sobrantes
- Vigilancia después del registro
- Buenas prácticas en la aplicación de plaguicidas en la tierra y por aire.

1.5.1 Regulación internacional.

La regulación internacional de los plaguicidas es un tema de gran importancia para la protección de la salud humana y el medio ambiente. A nivel global, existe una serie de acuerdos y convenciones que buscan establecer estándares y criterios para el uso seguro y sostenible de los plaguicidas.

México forma parte de diversos convenios internacionales, encargados de la importación, exportación, registro, clasificación en base a su toxicidad, manejo, uso, desecho, autorizaciones y prohibiciones de las sustancias químicas peligrosas, entre las cuales se incluyen los plaguicidas.

Algunos de estos convenios son (Romano *et al.*, 2019):

- **Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs):** Promovido en 2001 por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con el objetivo de proteger la salud y el medio ambiente de los COPs en los que se incluyen a los plaguicidas por ser sustancias químicas que se pueden trasladar lejos de su punto de aplicación en el ambiente.
- **Convenio de Rotterdam:** Establece un procedimiento de consentimiento fundamentado previo (CFP) para el comercio internacional de plaguicidas peligrosos y otros productos químicos. Este convenio tiene como objetivo garantizar que los países importadores tengan información suficiente sobre los peligros de los plaguicidas y puedan tomar decisiones informadas sobre si permiten o no su importación. En 2018, se incorporaron 12 nuevos plaguicidas a la lista del Convenio de Rotterdam, lo que elevó el número total

de plaguicidas regulados a 52 (The Secretariat of the Rotterdam Convention Geneva, 2006).

- **Convenio de Basilea:** Tiene el objetivo de proteger la salud y el medio ambiente de los efectos que causa el transportar residuos peligrosos, así como prevenir y castigar el tráfico ilegal de desechos peligrosos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) trabajan en conjunto para establecer las especificaciones de calidad y seguridad de los plaguicidas. La OMS se enfoca en la evaluación de los riesgos para la salud humana, mientras que la FAO se encarga de la evaluación de los riesgos para el medio ambiente y la seguridad alimentaria. Estas evaluaciones se basan en estudios científicos y se utilizan para establecer límites máximos de residuos (LMR) en los alimentos, que son la cantidad máxima de residuos de plaguicidas permitidos en los alimentos.

1.5.2 Regulación nacional

La normatividad regulatoria del uso de plaguicidas en México es un tema importante debido a los riesgos que su uso puede representar para la salud humana y el medio ambiente. En México, la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) es la encargada de regular y supervisar el uso de plaguicidas, mientras que la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) regula los aspectos relacionados con el medio ambiente.

La normatividad regulatoria de los plaguicidas en México se basa en la Ley de Productos Fitosanitarios, publicada en 1996, que establece la regulación de la fabricación, importación, exportación, almacenamiento, distribución, venta y uso de plaguicidas. Esta ley establece que todos los plaguicidas deben estar registrados en el Registro Federal de Productos Fitosanitarios (RENAF), que es administrado por la SADER. Para su registro, se deben presentar estudios sobre la seguridad del producto y su efectividad en el control de plagas (Velasco, 2009).

Clasificación de las regulaciones sobre plaguicidas en México por campo de aplicación:

Registro y control de plaguicidas

Las secretarías encargadas de este sector son la Secretaría de Salud y SEMARNAT a través de las siguientes leyes:

- Ley Federal de Sanidad Vegetal: Revisión de los plaguicidas que presentan vigencia indeterminada.
- Ley General de Salud y la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA): Manejo de plaguicidas y los riesgos que representa su uso a la población de los ecosistemas.

Comercialización

Se encarga la Secretaría de Salud a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), vigilando que los productos que se vendan cuenten con los registros necesarios.

Envasado, etiquetado y almacenamiento

Se encarga SEMARNAT a través de LGEEPA, para establecer las condiciones de embaizado que ayuden a minimizar las fuentes de exposición accidental, así como las tapas de seguridad a prueba de niños.

Vigilancia después del registro

Se encarga SADER y la Secretaría de Salud a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) y COFREPRIS, para respetar los límites máximos de residuos en los productos agrícolas.

También se establece un registro obligatorio del uso de plaguicidas que contenga el nombre del plaguicida utilizado, las cantidades utilizadas y el cultivo al que se le aplicó (Rosas *et al.*, 2019).

En cuanto a la disposición de residuos de envases vacíos de plaguicidas, aunque se ha implementado el programa "Conservemos un Campo Limpio" en algunos estados del país, es necesario ampliar su alcance y mejorar su eficacia. Los residuos de envases vacíos de plaguicidas pueden ser fuente de contaminación

ambiental y de riesgos para la salud humana, por lo que se requiere de una gestión adecuada para su eliminación (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, 2019).

Es importante destacar que existen secretarías encargadas de crear leyes para el correcto registro y manejo de estas sustancias y para su vigilancia antes de ser utilizadas. Las principales secretarías y leyes federales son:

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT): Se encarga de otorgar los permisos para la fabricación, importación y para todo el tipo de actividades relacionadas con los plaguicidas.

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER): Secretaría encargada de llevar a cabo un Programa Nacional de Monitoreo de Residuos de Plaguicidas al establecer los límites máximos de residuos.

Ley Federal del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA): Regulación del uso y manejo de los plaguicidas, agrupándolos junto con los fertilizantes y las sustancias tóxicas. Sujetándose a las Normas Oficiales Mexicanas, como lo son:

- NOM-232-SSA1-2009: Establece los requisitos para el envase, embalaje y etiquetado de los productos de uso agrícola y forestal.
- NOM-003-STPS-1999: Uso de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes.
- NOM-082-SAG_FITO/SS1-2017: Establece los lineamientos técnicos y procedimientos para la autorización y revisión de límites máximos de residuos de plaguicidas químicos de uso agrícola con fines de registro y uso.
- NOM-127-SSA1-1994: Establece los límites permisibles de calidad que debe tener el agua potable, indicando los límites permisibles de ciertos metales y plaguicidas que pueden estar presentes.
- NOM-256-SSA1-2012: Establece las condiciones sanitarias que deben cumplir los establecimientos y personal dedicados a los servicios urbanos de control de plagas mediante plaguicidas.

Ley Federal de Sanidad Vegetal (LFSV): Se encarga de vigilar la aplicación, verificación y certificación de los sistemas de reducción de riesgos de los contaminantes físicos, químicos y microbiológicos en la producción de vegetales.

Ley General para la Gestión Integral de Residuos (LGPGIR): Regula el manejo de los residuos, considera como residuos a los envases que han contenido plaguicidas

Ley General de Salud (LGS): Regulan el derecho a la protección de la salud que tiene todas las personas, por tal motivo esta ley clasifica a los plaguicidas con los mismos criterios que las sustancias peligrosas.

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA): Administra y fomenta las actividades de sanidad e inocuidad agroalimentaria, estableciendo programas de prevención, control y erradicación de plagas y enfermedades para mejorar y conservar las condiciones sanitarias de las regiones agrícolas, previniendo así la contaminación de los alimentos.

En el panorama actual, la regulación del uso de plaguicidas en México ha sido objeto de críticas por parte de diversos grupos, que argumentan que la normatividad actual no es suficiente para proteger la salud de las personas y el medio ambiente. Un estudio publicado en 2021 por Díaz Vallejo y colaboradores evaluó la efectividad de la regulación de los plaguicidas en México, encontrando que la mayoría de los productos registrados en el RENAFA no contaban con la información necesaria para evaluar su seguridad y efectividad (Díaz *et al.*, 2021).

Aunque existe una normatividad regulatoria del uso de plaguicidas en México, los estudios indican que esta no es suficiente para garantizar la seguridad de los productos y proteger la salud humana y el medio ambiente. Se requiere de una mayor regulación y supervisión en la fabricación, importación, distribución y uso de los plaguicidas, así como una mayor inversión en la investigación sobre la seguridad y efectividad de los productos.

En México no existe una regulación específica para los límites máximos permisibles de residuos en los cultivos, la regulación solo abarca su comercialización, pero es

importante conocer la cantidad de residuos presentes ya que se están ingiriendo de manera inconsciente por las personas. La mejor manera de identificar la presencia de plaguicidas en los alimentos es mediante técnicas de análisis analíticas ya que nos permiten identificar y cuantificar dichas sustancias.

1.6 Metodologías analíticas utilizadas en la detección de plaguicidas

Reconociendo que son bajos los niveles que se permiten en las concentraciones máximas permitidas reportadas para los plaguicidas, entonces se debe disponer de laboratorios y metodologías de análisis químico para detectar y cuantificar dichos materiales.

La detección de plaguicidas en muestras ambientales, alimentos y otros productos agrícolas es de suma importancia debido a su impacto en la salud humana y en el medio ambiente. Las metodologías analíticas utilizadas para la detección de herbicidas han evolucionado a lo largo del tiempo, con el fin de mejorar la sensibilidad y especificidad de los métodos. En este sentido, el desarrollo de técnicas analíticas altamente sensibles y específicas es importante para detectar los residuos de plaguicidas en bajas concentraciones.

Para poder elegir la técnica analítica adecuada para la determinación de plaguicidas se deben considerar los siguientes factores:

- a) Las propiedades físicas y químicas de los analitos
- b) Efectividad, rapidez, fiabilidad, selectividad y sensibilidad de la técnica
- c) Costo, disponibilidad y compatibilidad con el medio ambiente.

Entre las técnicas analíticas más utilizadas para la detección de plaguicidas se encuentran:

- 1) Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)
- 2) Cromatografía de gases (GC)
- 3) Electroforesis capilar (CE)
- 4) Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS)

A continuación se describe cada técnica (Skoog, 2015):

1.6.1 Cromatografía líquida de alta eficiencia

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés, High Performance Liquid Chromatography) es una técnica analítica que se utiliza para separar, identificar y cuantificar componentes en una muestra líquida. Este método, basado en la afinidad de las moléculas por una fase estacionaria y una fase móvil, permite analizar una amplia gama de compuestos, desde fármacos hasta contaminantes ambientales. La HPLC se destaca por su alta sensibilidad y precisión en la detección de sustancias, permitiendo su aplicación en diversos campos como la investigación farmacéutica, el control de calidad industrial y el análisis ambiental. Este método se ha convertido en una herramienta fundamental en laboratorios científicos debido a su capacidad para analizar muestras complejas con gran exactitud y reproducibilidad.

De las técnicas cromatográficas cuya fase móvil es un líquido, la cromatografía de alta eficiencia es conocida por su capacidad de análisis de compuestos termosensibles, así como de aquellos cuyas masas moleculares son muy grandes e incluso polares. Esta técnica es útil para estudiar sustancias, por ejemplo: aminoácidos, carbohidratos, terpenoides, plaguicidas, esteroides, hidrocarburos, drogas, proteínas, antibióticos, órgano metálicos, especies inorgánicas, entre otros.

Es una técnica analítica utilizada para la separación de componentes de una muestra mediante la utilización de una fase estacionaria y una fase móvil. La HPLC es una técnica de separación química en la que la muestra se disuelve en una fase móvil y se bombea a través de una columna que contiene una fase estacionaria. La fase estacionaria retiene selectivamente ciertos componentes de la muestra, lo que permite su separación de los demás.

La HPLC se utiliza en una variedad de aplicaciones, incluyendo la detección de residuos de plaguicidas en alimentos, el análisis de productos farmacéuticos y la purificación de productos químicos. La técnica se basa en la capacidad de la fase estacionaria para retener selectivamente los componentes de la muestra y en la capacidad de la fase móvil para transportar los componentes a través de la columna.

Es una técnica utilizada para separar y determinar especies en diversas matrices que pueden ser orgánicas, inorgánicas o biológicas.

El equipo utilizado en la HPLC consta de varias partes, entre ellas: una bomba de alta presión, una columna, un detector y un sistema de inyección de muestra. (ver Figura 1.14).

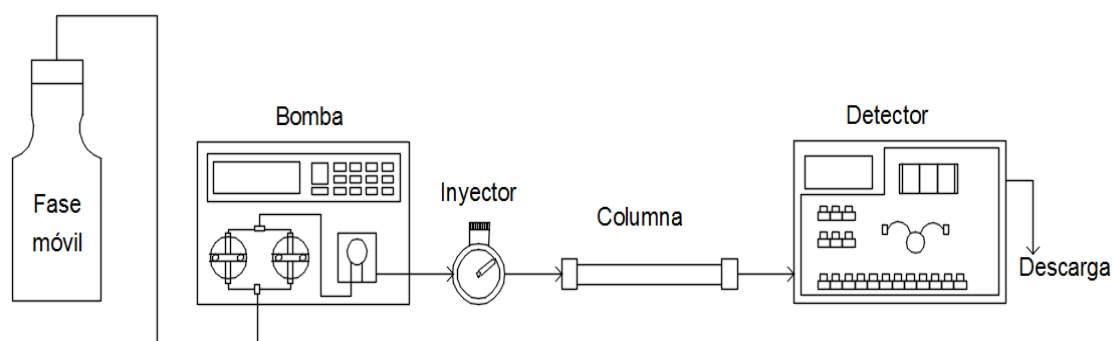


Figura 1.14: Diagrama de los componentes de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia [tomado de (Jaime Valls, 2004)].

- Reservorios: Son de vidrio y en ellos se colocan los disolventes que se ocuparán durante el proceso para realizar eluciones, ya que los disolventes son la fase móvil; las eluciones pueden ser de manera isocrática o en gradiente para mejorar la eficiencia de la separación.
- Sistema de bombeo: La bomba de alta presión se utiliza para bombear la fase móvil a través de la columna a una velocidad constante. Debe generar presiones de más de 6000 psi, velocidades de flujo de 0.1 a 10 mL/min y ser resistente a la corrosión de una variedad de disolventes.
- Sistema de inyección de muestra: Se utiliza para introducir la muestra en la fase móvil que se bombea a través de la columna. Debe tener una capacidad de inyección de 1 a 100 μL , puede ser mediante un asa de muestreo o mediante un inyector automatizado.
- Columna: Es una pieza clave del equipo y está diseñada para separar los componentes de la muestra según sus propiedades físicas y químicas. Es la fase estacionaria no polar, pueden estar fabricadas de acero inoxidable,

vidrio o polímeros, tienen una longitud de 5-25 cm con diámetros que van de 3-5 μm . Siempre se utilizan columnas rectas.

- Detectores: Se utiliza para medir la cantidad de componente que sale de la columna, debe ser pequeño para minimizar el ensanchamiento de la banda adicional de columna y compatible con el flujo del líquido. Los tipos más comunes son: de absorbancia, fluorescencia, electroquímico, índice de refracción, conductividad, espectrometría de masas, dispersión de luz y fotoionización (Skoog, 2015).

Las primicias del HPLC data de mediados de los años 60's, cuando investigadores de la Universidad de Yale (New Haven, EEUU) informaron de un estudio donde se utilizó una bomba para acelerar el flujo de la fase móvil a través de la columna C-18. A inicios de los 70's, la empresa Waters Associates, comenzó la comercialización de los equipos para HPLC. Desde entonces la HPLC se ha desarrollado y mejorado a lo largo del tiempo, permitiendo la separación de una amplia variedad de compuestos. Esta técnica es mejor que la cromatografía de gases debido a la gran variedad de detectores que tiene como lo son: ultravioleta (UV), diodos integrados (DAD), fluorescencia (FD); así como la posibilidad de llevar a cabo gradientes de elución más complejos (Iriarte, 2022).

Otra de las ventajas de esta técnica es que no es destructiva con las muestras, por lo que se puede utilizar como una técnica de preparación o purificación de muestras, además de que no está limitada por la volatilidad térmica de la muestra (Ospina & Hernández, 2018).

La HPLC se ha utilizado para detectar la presencia de plaguicidas en diferentes matrices, como frutas, verduras y suelos. Por ejemplo, un estudio realizado por García & Velázquez (2018) utilizó una metodología de HPLC-MS/MS para detectar residuos de plaguicidas en diferentes frutas y verduras (García & Velazquéz, 2018).

1.6.2 Cromatografía de gases:

La cromatografía de gases para realizar el análisis de residuos ha sido una técnica que desde 1951 ha sido útil en el análisis cualitativo y cuantitativo de mezclas de compuestos orgánicos de volatilidad media y alta. La cromatografía es una técnica de separación, cromatografía surge de la raíz croma: color, y graphos palabra de origen griego, significa imagen o dibujo. El cromatógrafo es un equipo de separación, mientras que el cromatograma es el gráfico de salida, producto del análisis (Barron, 2007).

La cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica utilizada para separar y analizar mezclas complejas de sustancias químicas en fase gaseosa. Esta técnica se basa en la separación de los componentes de una mezcla con una columna cromatográfica y una fase móvil que fluye a través de ella. Los componentes de la mezcla se separan según su afinidad con la fase estacionaria y la velocidad a la que se mueven a través de la columna.

En esta técnica los componentes de una muestra vaporizada se separan al hacerse pasar por medio de una columna cromatográfica que actúa como la fase estacionaria, puede ser líquida o sólida; el analito es transportado hacia la columna mediante una fase móvil inerte gaseosa.

La cromatografía de gases se utiliza ampliamente en diferentes campos, como la química analítica, la toxicología, la farmacología y la ingeniería ambiental, debido a su alta sensibilidad y selectividad en la detección de sustancias químicas. La GC se ha utilizado para analizar una amplia gama de muestras, como muestras ambientales, alimentos, productos farmacéuticos y productos petroquímicos.

El equipo de cromatografía de gases consta de tres componentes principales: el inyector, la columna cromatográfica y el detector (ver Figura 1.15). El inyector es el componente responsable de introducir la muestra en el sistema de GC. La muestra se introduce en el inyector, donde se vaporiza y se mezcla con un gas portador, como el nitrógeno o el helio, antes de ser introducido en la columna cromatográfica.

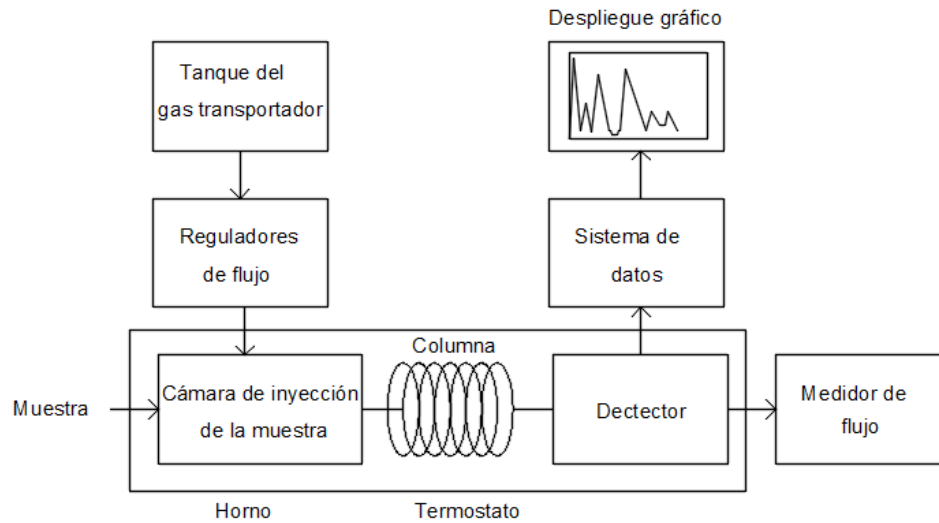


Figura 1.15: Diagrama de bloques de los componentes de un cromatógrafo de gases [tomado de (Douglas A Skoog, 2015)].

- Gas transportador: Es la fase móvil y debe ser químicamente inerte, el más común es el helio, pero también se puede utilizar argón, nitrógeno e hidrógeno.
- Sistema de inyección: Se utilizan micro jeringas calibradas para inyectar las muestras líquidas por medio de un diafragma de goma en un puerto que se encuentra localizado en la parte superior de la columna. El puerto de inyección debe permanecer caliente al menos 50°C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra para que se pueda vaporizar.
- Columna cromatográfica: Es el componente central del sistema de GC y consta de una columna empacada o capilar, de acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón; con un diámetro interno de 0.1-0.5 mm y una longitud de 10-100 m. La columna está llena con una fase estacionaria, que puede ser líquida o sólida. La elección de la fase estacionaria depende de la naturaleza de la muestra y de los componentes que se van a analizar.
Debe estar a una temperatura igual o por debajo del punto de ebullición de la muestra para obtener un buen grado de separación de los componentes.

- Detector: Es el componente final del sistema de GC y es responsable de medir la cantidad y la concentración de los componentes separados por la columna cromatográfica. Los detectores más comunes utilizados en la GC incluyen el detector de ionización de flama (FID), el detector de espectrometría de masas (MS) y el detector de captura de electrones (ECD). No debe destruir la muestra, debe tener un intervalo de temperatura desde la temperatura ambiente hasta las 400 °C, y su tiempo de respuesta debe ser corto e independiente a la velocidad del flujo.

La cromatografía de gases es una técnica analítica valiosa en la separación y detección de sustancias químicas en fase gaseosa. Los avances en la tecnología de la GC han mejorado la sensibilidad y la especificidad de la técnica, lo que ha permitido su amplia aplicación en diferentes campos científicos.

Es la técnica más utilizada para el análisis de residuos de plaguicidas en diversas matrices debido a su elevada sensibilidad y selectividad en la detección de estas sustancias. En un estudio realizado por Ruíz Gil y colaboradores (2008), se utilizó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para detectar más de 80 plaguicidas en agua mediante un método multiresiduo, utilizando extracción en fase sólida (Ruiz *et al.*, 2008).

Con esta técnica es posible separar simultáneamente varios plaguicidas, utilizando detectores de captura de electrones (ECD) para la detección de plaguicidas organoclorados y un detector de nitrógeno-fósforo (NPD) para plaguicidas nitrogenados y fosforados. Debido a que estos detectores son muy sensibles y selectivos es necesario realizar una etapa de limpieza a los extractos a analizar.

Esta técnica no es compatible con algunos plaguicidas como el glifosato, por su inestabilidad térmica, elevado peso molecular, por su baja volatilidad o alta polaridad; por lo que para determinar estos compuestos es necesario agregar una etapa de derivatización previa antes de la inyección al cromatógrafo (L. M. R. Pérez, 2009).

1.6.3 Electroforesis capilar:

La electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) es una técnica de separación, se funda en la migración diferencial de especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico o gradiente de potencial que se establece con este fin. Es útil en el análisis de biomoléculas, fármacos, flavonoides, plaguicidas y pesticidas, microorganismos, ADN y proteínas para diferentes tipos de muestras como aguas, fluidos biológicos, alimentos, entre otros (Castagnino, 2000).

La separación se produce en función de la carga y el tamaño de las moléculas. Las moléculas con carga positiva migran hacia el polo negativo, mientras que las moléculas con carga negativa migran hacia el polo positivo. Además, las moléculas más pequeñas se mueven más rápido que las moléculas más grandes y, por lo tanto, se separan en el capilar antes que las moléculas más grandes.

La CE se puede utilizar para analizar una amplia variedad de muestras biológicas, incluyendo sangre, orina, saliva y líquido cefalorraquídeo, entre otras. Además, se puede utilizar para identificar compuestos en muestras ambientales, como agua, suelo y aire.

La CE se realiza utilizando un equipo compuesto por una fuente de alimentación, un capilar, un detector y un sistema de inyección (ver Figura 1.16).

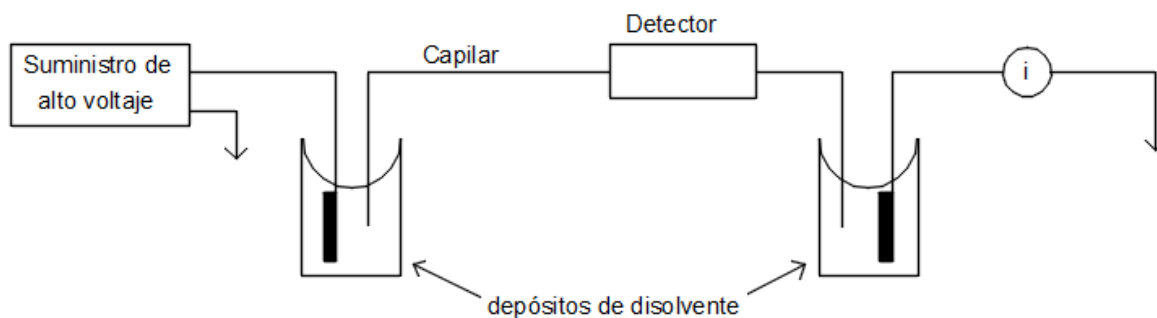


Figura 1.16: Diagrama de un sistema de electroforesis [tomado de (Skoog, 2015)].

- Fuente de alimentación: Suministra energía eléctrica al sistema, generando un campo eléctrico que permite la separación de las moléculas.

Se aplica un potencial de corriente directa entre 5-30 kV y se le puede invertir la polaridad para que se puedan separar los aniones.

- Capilar: Es un tubo de vidrio o de cuarzo que contiene el electrolito y las muestras a analizar, se encuentra entre los dos depósitos de disolución amortiguadora, debe tener un diámetro interno de 10-100 μm , longitud de 40-100 cm y estar lleno con la disolución amortiguadora.
- Depósitos de disolvente: Contienen dos electrodos de platino.
- Detector: Es un dispositivo que detecta y registra los componentes separados a medida que pasan por el capilar. Se puede ocupar un detector de espectrometría, espectrometría de masas o electroquímico (Skoog, 2015).

La CE ha evolucionado en las últimas décadas, lo que ha permitido mejorar la eficiencia de la técnica y la sensibilidad de detección. Entre las diferentes técnicas de CE, se incluyen la electroforesis capilar de zona (CZE), electroforesis capilar micelar (MEKC), electroforesis capilar isótropa (ITP) y electroforesis capilar isotérmica (ITC).

La CZE se utiliza principalmente para separar moléculas de tamaño similar, mientras que la MEKC se utiliza para separar moléculas de diferentes tamaños y carga. La ITP se utiliza para separar especies iónicas y la ITC se utiliza para separar moléculas de diferentes tamaños y formas.

En general, la CE es una técnica analítica importante en la investigación biomédica y ambiental debido a su alta resolución, eficiencia y sensibilidad de detección. Su capacidad para separar una amplia variedad de moléculas y su facilidad de uso lo convierten en una herramienta valiosa en la investigación científica.

Es una técnica poco utilizada, pero ofrece varias ventajas en los análisis, como lo es la alta eficiencia, facilidad de automatización, bajo costo y bajos requerimientos de muestra y reactivos (L. M. R. Pérez, 2009).

Esta técnica se ha utilizado ampliamente en la detección de residuos de plaguicidas debido a su alta eficiencia de separación, bajo consumo de muestra, corto tiempo de análisis y su capacidad para separar compuestos iónicos y neutros.

Otra aplicación de la CE en la detección de residuos de plaguicidas es la separación de metabolitos de plaguicidas en muestras biológicas. Los metabolitos de plaguicidas son compuestos que se forman después de la exposición a plaguicidas y pueden ser más tóxicos que los plaguicidas originales. En un estudio realizado por Chang y colaboradores (2016), se utilizó CE para separar los metabolitos de plaguicidas en muestras ambientales, resumiendo el uso de varias técnicas de pretratamiento de muestras para extraer pesticidas de varias matrices, combinadas con estrategias de preconcentración en línea para mejorar la sensibilidad y el posterior análisis de electroforesis capilar (Chang *et al.*, 2016).

La alta resolución y sensibilidad, la facilidad de acoplamiento con espectrometría de masas y la posibilidad de estudiar el metabolismo de los plaguicidas son algunas de las ventajas de la electroforesis capilar en este campo.

1.6.4 Espectrometría de masas de alta resolución

La espectrometría de masas de alta resolución es una técnica de alta sensibilidad que determina la masa exacta de los compuestos analizados. Las muestras son ionizadas inicialmente para ser aceleradas e introducidas al interior del analizador, donde son separadas en función de su relación masa/carga (m/z), posteriormente se genera una señal eléctrica que es procesada para generar el espectro de masas (Skoog, 2015).

La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica utilizada en una amplia variedad de campos, incluyendo química, bioquímica, proteómica y metabolómica, para determinar la composición y estructura de una amplia variedad de moléculas. La HRMS se caracteriza por su alta resolución y precisión, lo que permite la identificación de compuestos con una masa muy similar y una gran cantidad de información estructural.

La HRMS se diferencia de otras técnicas de espectrometría de masas por su capacidad para separar moléculas de masa muy similar con una alta resolución y precisión. Esto se logra mediante la utilización de un analizador de masas de alta resolución, que puede separar las señales de iones en el espectro de masas en

fragmentos individuales con una precisión mucho mayor que los analizadores de masas convencionales.

El principio de esta técnica es convertir al analito en iones al aplicarles energía; una vez que se tienen los iones estos se separan en base a su relación masa-carga y se dirigen a un transductor, por medio de un barrido, convirtiendo al número de iones en una señal eléctrica. Al número de iones también se le conoce como abundancia; al graficar esta abundancia contra la relación masa-carga se obtiene un espectro de masas (ver Figura 1.17).

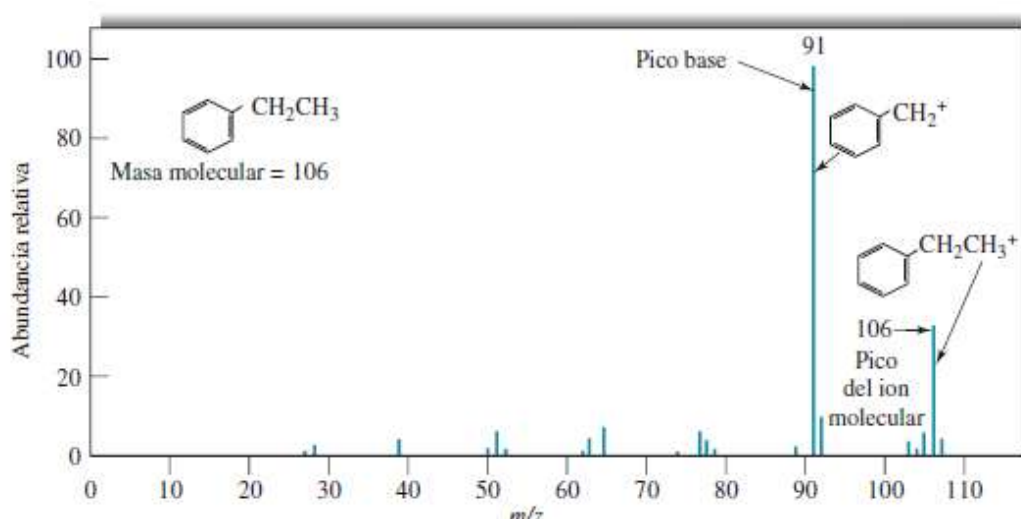


Figura 1.17: Espectro de masas del etil benceno [tomado de (Douglas A Skoog, 2015)].

El equipo necesario para llevar a cabo la HRMS incluye un espectrómetro de masas de alta resolución, un sistema de ionización, un sistema de separación de cromatografía y un sistema de detección (ver Figura 1.18 y 1.19):

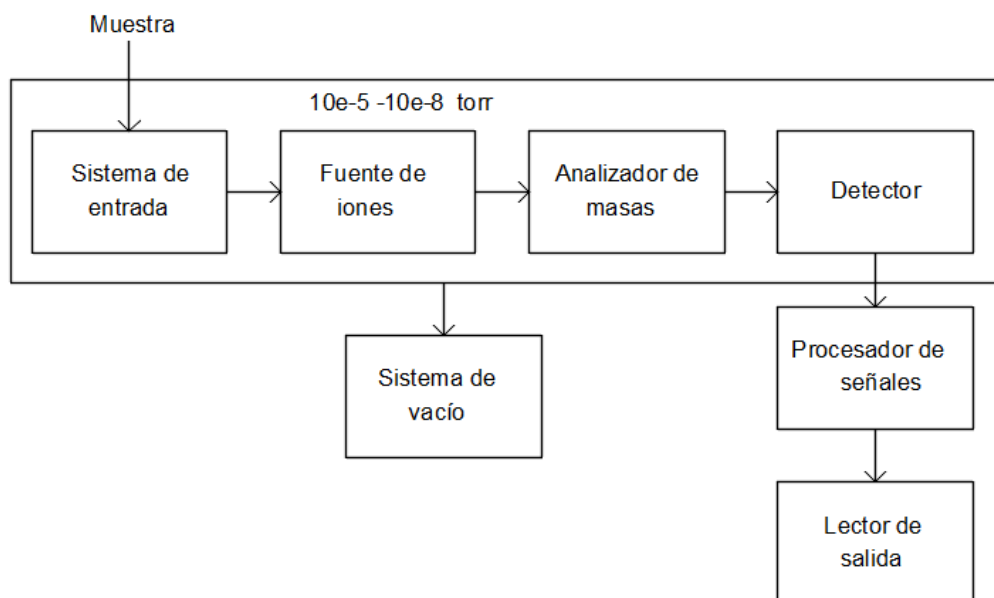


Figura 1.18: Diagrama de bloques de los componentes de un espectrómetro de masas [tomado de (Skoog, 2015)].

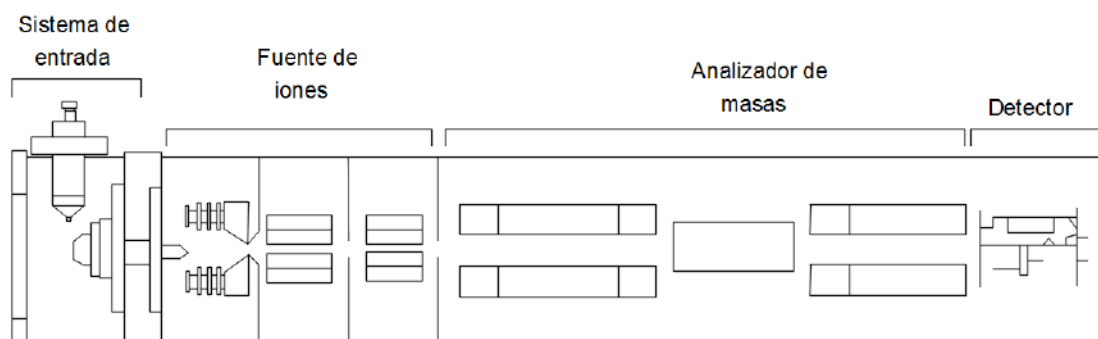


Figura 1.19: Diagrama del equipo espectrómetro de masas [tomado de (PAF, 2015)].

Sistema de entrada: La muestra puede ser líquida, sólida o gaseosa, depende del tipo de fuente de ionización que tenga el equipo. La muestra ingresa en una cantidad microscópica a una región de vacío del equipo para ser transportada a la fuente de iones con la mínima pérdida de vacío.

El sistema de separación se puede lograr mediante técnicas de cromatografía de líquidos o de gases, que separan los componentes de una muestra antes de su análisis mediante espectrometría de masas.

Sistema de vacío: En el recorrido libre de las moléculas hasta el detector debe existir un ambiente de alto vacío para no se presenten colisiones en el camino. Para poder lograr este ambiente se utilizan bombas difusoras o turbo moleculares.

Fuente de iones: Aquí los componentes de la muestra se transforman en iones gaseosos por medio de un bombardeo de electrones que son emitidos por un filamento caliente de tungsteno y son acelerados por un potencial aplicado entre el filamento y el ánodo de 70 V. Como resultado se obtiene una corriente de iones positiva o negativa que son acelerados hacia el analizador de masas.

La ionización puede ser lograda por diferentes técnicas, tales como la electrospray (ESI) o la ionización por desorción láser (MALDI), dependiendo de la muestra y los objetivos del análisis.

- Ionización por electrospray (ESI, por sus siglas en inglés): Permite la formación de iones gaseosos a partir de moléculas que no son fácilmente volatilizables. El principio básico de la técnica es la formación de una corriente de gotas cargadas eléctricamente que se produce cuando una solución que contiene la muestra se introduce en un campo eléctrico a través de una aguja capilar. La solución se descompone en pequeñas gotas debido a la alta tensión aplicada en la aguja y la superficie de las gotas se carga negativamente debido a la eliminación de los protones de los grupos ácidos. Posteriormente, se produce la evaporación de las gotas, lo que da como resultado la formación de iones gaseosos.

El uso de la ionización por electrospray ha permitido una mayor resolución y sensibilidad en la detección de compuestos en muestras complejas, como alimentos, suelos y matrices biológicas. La alta resolución permite la identificación precisa de los compuestos presentes en una muestra y la capacidad de distinguir entre compuestos similares, lo que hace que esta

técnica sea muy útil en la detección de residuos de plaguicidas y otros contaminantes.

- Ionización por desorción láser (MALDI, por sus siglas en inglés): Es una técnica de espectrometría de masas que se utiliza para analizar muestras sólidas, como tejidos biológicos, polímeros, superficies de semiconductores y otras matrices sólidas. La técnica se basa en la ionización de los analitos a través de la irradiación láser, lo que produce iones en fase gaseosa que se pueden analizar mediante espectrometría de masas.

El proceso de MALDI implica la absorción de fotones de alta energía del láser por la muestra sólida, lo que produce la vaporización y desorción de los componentes de la muestra. A medida que los analitos son desionizados, se forman especies iónicas en fase gaseosa, lo que permite su análisis por espectrometría de masas.

Para realizar el análisis de MALDI, se requiere un láser de alta energía, que se enfoca en la muestra sólida para producir la vaporización y desorción de los analitos. Además, se necesita un espectrómetro de masas que permita la detección de los iones producidos por la ionización láser. En general, los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en inglés) se utilizan comúnmente en combinación con la ionización por desorción láser.

Analizador de masas: Separa a la corriente de iones en base a su relación masa-carga y se convierten a una señal eléctrica mediante un transductor de iones.

Los analizadores más comunes son: Cuadrupolo, doble enfoque, sector magnético, trampa de iones, tiempo de vuelo y resonancia ion-ciclotrón.

Detectores: Se encargan de traducir los impactos de los iones en una señal eléctrica que se pueda medir mediante un ordenador. Los principales tipos de detectores son: multiplicador de electrones, copa de Faraday y de conversión fotónica (Skoog, 2015).

La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) es una técnica analítica avanzada y muy versátil que se utiliza en una amplia variedad de aplicaciones. Su

principal función es la detección y cuantificación de compuestos de bajo peso molecular, como residuos de plaguicidas, en diferentes matrices. La HRMS es capaz de identificar y cuantificar contaminantes ambientales y productos químicos en muestras biológicas, identificar compuestos en mezclas complejas y determinar estructuras moleculares desconocidas. Además, esta técnica se ha utilizado con éxito en el análisis de alimentos y medicamentos para la detección de adulterantes y la identificación de productos falsificados.

En la detección de residuos de plaguicidas, la HRMS se ha convertido en una herramienta valiosa gracias a su alta sensibilidad y selectividad. La ionización por electrospray (ESI) es la técnica de ionización más utilizada en combinación con HRMS debido a su suavidad y capacidad para producir múltiples cargas en los analitos. Este proceso resulta en una mayor sensibilidad y selectividad para la detección de compuestos de bajo peso molecular. La HRMS-ESI se ha utilizado para la detección de múltiples residuos de plaguicidas en diferentes matrices, incluyendo frutas, verduras, suelos y vinos (Wang *et al.*, 2013).

Un estudio reciente realizado por Crocoli y colaboradores (2022) utilizó la técnica de HRMS-ESI para la detección de residuos de plaguicidas en uvas y vinos. Los autores informaron que la técnica permitió la identificación de múltiples residuos de plaguicidas en muestras con una alta sensibilidad y selectividad (Crocoli *et al.*, 2022).

Los residuos de plaguicidas pueden estar presentes en diferentes matrices, como el medio ambiente, los alimentos y los fluidos biológicos, y para cada una de estas matrices, es necesario aplicar un método diferente de preparación de muestra para poder analizarlos con las técnicas descritas anteriormente. La elección de la técnica analítica adecuada dependerá del tipo de muestra y de la naturaleza del plaguicida que se desea detectar.

1.7 Matrices en las que se han detectado la presencia de herbicidas

Una forma de clasificar a los plaguicidas se relaciona con la plaga a la que atacan, a los que suprimen el desarrollo de los hongos se les llama funguicidas, a quienes controlan insectos se les llama insecticidas; a las sustancias que controlan ácaros, acaricidas; molusquicida a los moluscos; ovicida para huevecillos; herbicida para las hierbas; rodenticida para roedores; nematocida para nemátodos. Los herbicidas son productos químicos utilizados en la agricultura para prevenir, controlar o eliminar plagas y enfermedades que pueden dañar los cultivos y reducir su producción. Sin embargo, su uso indiscriminado puede tener consecuencias negativas en la salud humana y en el medio ambiente. Por lo tanto, es importante monitorear la presencia de residuos de herbicidas en diferentes matrices para asegurar la seguridad alimentaria y proteger la salud pública. A continuación, se describen algunas de las matrices en las que se han detectado la presencia de herbicidas (Navas & García, 2019).

1.7.1 Matrices ambientales

La contaminación de herbicidas en matrices ambientales es un problema global que afecta a la calidad del agua y del suelo, así como a la salud humana y de la fauna silvestre. El uso de herbicidas en la agricultura ha aumentado en las últimas décadas, lo que ha llevado a la aparición de residuos en el medio ambiente debido a su manera de aplicación, ya que pueden ser aplicados directamente en el suelo o por aspersión aérea, lo cual genera que los plaguicidas caigan en el agua y suelos que no son de uso agrícola.

Además, se ha demostrado que los herbicidas pueden persistir en el medio ambiente durante años y pueden viajar largas distancias a través del aire, el agua y los suelos, lo que hace que su contaminación sea un problema global de gran preocupación. Estos contaminantes pueden afectar no solo a los ecosistemas naturales, sino también a la salud humana y animal (Pathak *et al.*, 2022).

En este sentido, se han realizado numerosos estudios para evaluar la presencia de residuos de herbicidas en matrices ambientales, como el agua, los suelos y los sedimentos. Por ejemplo, un estudio llevado a cabo en España encontró residuos de herbicidas en agua y sedimentos de ríos cercanos a zonas agrícolas, lo que sugiere que la agricultura es una fuente importante de contaminación de herbicidas en estas matrices (Ccanccapa *et al.*, 2016).

Para analizar la presencia de herbicidas en matrices ambientales, se han desarrollado diversas técnicas de análisis, como la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (Planas *et al.*, 2006). Estas técnicas permiten la identificación y cuantificación de residuos de herbicidas en matrices ambientales con alta sensibilidad y precisión.

Algunas de las metodologías que se han desarrollado para estas matrices son las siguientes:

- Suelo agrícola

Los herbicidas aplicados a los cultivos pueden migrar al suelo y permanecer allí durante años. Esto puede tener consecuencias negativas para la salud del suelo y la calidad del agua subterránea.

Las muestras de suelo agrícola se toman a una profundidad de 20 cm a 40 cm de la superficie, con un peso aproximado de 2 kg, después se almacenan en bolsas herméticas para poder transportarlas al laboratorio.

Primero se les debe quitar la humedad por lo que se colocan las muestras en papel filtro común por un tiempo de dos noches a temperatura ambiente. Posteriormente se muelen y tamizan en una malla de 2 mm para homogenizar el tamaño de partícula de la muestra y se colocan de nuevo en una bolsa hermética en un lugar seco a temperatura ambiente para su extracción en fase sólida (SPE).

Antes de la extracción se debe realizar una lixiviación, sometiendo una muestra de 4 g de suelo con 10 mL de metanol y 10 mL de agua mili Q, a ultrasónico por 30 minutos. La disolución obtenida se filtra por medio de membranas con un tamaño

de poro de 0.45 μm y se recupera en viales de 20 mL. Para la SPE se utilizan cartuchos C18, los cartuchos se acondicionan agregándoles 3 mL de metanol y después 6 mL de agua mili Q. El extracto se hace pasar con un flujo de 3 mL/min. Una vez que pasa la muestra se seca a vacío por 5 minutos y los herbicidas retenidos por el material absorbente se eluyen con 3 mL de metanol para que ese extracto ya pueda ser inyectado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Muñiz *et al.*, 2019).

- Agua

Los herbicidas pueden entrar en los cuerpos de agua a través del escurrimiento superficial y la infiltración en el suelo.

El método más utilizado para la extracción de herbicidas en muestras de agua es la extracción líquido-líquido (LLE) ya que provee un alto grado de limpieza en la muestra.

Para la LLE se deben tener dos fases líquidas inmiscibles entre sí, por lo general es una fase acuosa y un solvente orgánico que puede ser diclorometano, n-hexano y acetato de etilo.

Para analizar una muestra de agua de 1 L se tiene que filtrar primero haciéndolo pasar por una membrana de 0.45 μm y se coloca en una en una botella ámbar para adicionarle 10 g de cloruro de sodio y 60 mL de n-hexano (agente extractor). La botella se coloca en agitación magnética durante 30 minutos, posteriormente se recolecta la fase orgánica por medio de un embudo de decantación. La fase orgánica se filtra a través de 15 g de sulfato de sodio anhidro para concentrarse a una temperatura de 35 °C hasta obtener aproximadamente 0.5 mL. El solvente se elimina en su totalidad por medio de una corriente de nitrógeno y el extracto obtenido ya puede ser inyectado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Guerrero & Velandia, 2014).

La contaminación de herbicidas en matrices ambientales es un problema global que requiere atención urgente y medidas efectivas para reducir su impacto en la salud humana y el medio ambiente. Es importante que los agricultores adopten prácticas

agrícolas sostenibles y se implementen políticas y regulaciones adecuadas para reducir la cantidad de herbicidas utilizados y mejorar la gestión de residuos de plaguicidas. Además, es esencial seguir desarrollando técnicas de análisis más avanzadas y precisas para detectar la presencia de residuos de herbicidas en matrices ambientales y monitorear su impacto en el medio ambiente.

1.7.2 En alimentos

Los residuos de herbicidas en alimentos son una preocupación de salud pública en todo el mundo, ya que la exposición a estos químicos puede tener efectos tóxicos a largo plazo en la salud humana. En un estudios realizados se han encontrado residuos en cereales, vegetales y frutas; algunos de ellos en niveles superiores a los límites máximos permitidos, debido a la aplicación irracional de estos compuestos en los cultivos en crecimiento (Grewal *et al.*, 2017).

Debido a las malas prácticas agrícolas se pueden encontrar residuos de los herbicidas en los alimentos, lo cual presente un gran riesgo para la salud de las personas ya que al ignorar la presencia de estos químicos muchas veces consumen los vegetales sin lavarlos previamente, por tal motivo se han desarrollado algunas técnicas de análisis en los alimentos para poder tener un monitoreo adecuado de estos residuos.

Para monitorear adecuadamente los residuos de herbicidas en los alimentos, se han desarrollado diversas técnicas de análisis, como la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), la espectroscopia de absorción atómica (AAS) y la espectroscopia infrarroja (FTIR) (Botitsi *et al.*, 2011). Estas técnicas permiten la detección y cuantificación de residuos de herbicidas en los alimentos en concentraciones muy bajas, lo que permite un monitoreo más preciso y la implementación de medidas preventivas adecuadas.

Algunas de las metodologías que se han desarrollado son las siguientes, en base a los cultivos más abundantes en la comunidad de Jiquipilco:

- Granos de maíz

Las muestras de maíz se toman directamente de los campos de cultivos y se almacenan en bolsas trilaminadas (polietileno, polipropileno y aluminio) para mantenerlas en congelación a -20°C, antes de su análisis.

Se descongelan los granos de maíz a temperatura ambiente y se muelen en un molino. La extracción de los plaguicidas se realiza hidratando 5 g de muestra con ácido acético- acetonitrilo, acetato de sodio y sulfato de magnesio. Después la muestra se pone a agitar, sónica y centrifugar para realizar la purificación a una parte del sobrenadante con MgSO₄; se vuelve a agitar, sónica y centrifugar para después colocar 500 µL de sobrenadante en cada vial para poder inyectarse al cromatógrafo de gases (Strada *et al.*, 2012).

- Avena

Las muestras de avena se deben de moler en un molino analítico para obtener una mejor homogenización.

Se prepara una suspensión en tubos de polipropileno de 50 mL, agregando 5 g de la muestra y 5 mL de agua homogenizando por medio de ultra-turrax por 3 minutos a alta velocidad. Para la extracción se agregan 5 mL de acetonitrilo y se pone en agitación en vórtex durante 1 minuto. Se adicionan 2 g de MgSO₄ y 0.5 g de NaCl, agitando en vórtex durante 1 minuto para lograr el efecto de salado. Después las muestras se centrifugan a 4350 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se coloca en un tubo Eppendorf que con 60 mg de quitosano y 150 mg de MgSO₄, se coloca en agitación en vórtex durante 1 minuto; posteriormente se centrifuga a 10,190 rpm durante 10 minutos para obtener un extracto limpio. Finalmente, el extracto se filtra con un filtro de nailon de 0.22 µm y se diluye 1:1 con la fase móvil (formiato de amonio 5 mM y metanol en método gradiente 90/10 v/v) para ser inyectado en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Matos *et al.*, 2019).

- Papa

Se recolectan muestras de 600 g aproximadamente, de una cosecha seleccionada para poder analizarla cáscara y la parte interna de la papa.

Para extraer los herbicidas se deben homogenizar por separado la cáscara y la parte interna de la papa en acetonitrilo. Posteriormente se añade cloruro de sodio y se vuelve a homogenizar la mezcla; se deja decantar y se transfiere el sobrenadante a un tubo de centrifuga y se le agrega sulfato de sodio, se agita en vórtex y se centrifuga a 3000 rpm durante 5 minutos. Finalmente se toma una alícuota del sobrenadante y se coloca en un tubo de ensaye de 15 mL para evaporar el solvente con una centrifuga de vacío hasta llegar a un volumen de 1 mL. Una vez que se tiene el extracto es filtrado por medio de una membrana de 0.45 μm y refrigerado a -20°C antes de ser inyectado al cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Benítez *et al.*, 2015).

Es importante destacar que la implementación de prácticas agrícolas sostenibles, como el uso de técnicas de control biológico y la rotación de cultivos, puede reducir la necesidad de utilizar herbicidas en los cultivos y, por lo tanto, reducir la exposición de los consumidores a residuos de estas sustancias en los alimentos.

1.7.3 En fluidos

Los herbicidas son sustancias tóxicas que pueden tener efectos negativos en la salud humana al entrar en contacto con el cuerpo a través de diversas vías, incluyendo la inhalación, la ingestión y la absorción dérmica (Stoytcheva, 2011).

Los herbicidas entran en contacto con los seres humanos mediante el contacto directo de los trabajadores agrícolas al manipular estas sustancias, o mediante los residuos existentes en el agua o alimentos que posteriormente ingieren las personas sin tener conocimiento de este contaminante, provocando así una intoxicación.

Para detectar la presencia de residuos de herbicidas en muestras biológicas, se han desarrollado diversas técnicas de análisis, como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la espectroscopia de absorción

atómica (AAS) (Nshimiyimana *et al.*, 2014). Estas técnicas permiten la identificación y cuantificación de residuos de herbicidas en las muestras biológicas, lo que permite un monitoreo preciso de la exposición a estas sustancias y la implementación de medidas preventivas adecuadas.

Por tales motivos se han desarrollado metodologías para detectar la presencia de los herbicidas en las siguientes muestras biológicas:

- Suero sanguíneo

En el caso de la sangre, se han desarrollado técnicas de análisis como la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) y la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) que permiten la identificación y cuantificación de una amplia gama de herbicidas en sangre humana (Bedoya *et al.*, 2014).

Las muestras de sangre se toman después de 12 horas de ayuno por punción venosa en un tubo seco, el suero se obtiene por medio de una centrifugación a 2500 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separa en microtubos y es almacenado a -20°C hasta su extracción y posterior análisis cromatográfico.

Para la extracción de los analitos se implementa una micro extracción dispersiva de fase líquida (DLLME), asistida por sonicación.

Primero se descongelan las muestras a temperatura ambiente, como el suero es una matriz que contiene muchas proteínas se utiliza metanol grado HPLC como agente dispersante, al mismo volumen que el de la muestra, posteriormente se agregan 3 mL de n-hexano grado cromatográfico, que es el agente extractor. Se coloca en un vórtex por 2 minutos y el extracto se deja en sonicación durante 10 minutos con el objetivo de disolver los posibles herbicidas presentes. Después la muestra se centrifuga a 3500 rpm durante 3 minutos para favorecer la extracción y romper las emulsiones, luego se decanta la muestra para separar la fase líquida de la sólida. A la fase sólida se le agregan 3 mL del agente extractor y repite el proceso para obtener un extracto limpio hasta unir las dos fases líquidas finales. Finalmente se toma 1 mL del extracto limpio y se le adicionan 0.2 g de sulfato de sodio anhidro

para eliminar la fase acuosa y posibles interferencias, con todo este tratamiento de muestra se obtiene un extracto ideal para la inyección en el cromatógrafo de gases (Bedoya *et al.*, 2014).

- Orina

En el caso de la orina, se han utilizado técnicas de análisis como la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para detectar residuos de herbicidas en muestras de orina de trabajadores agrícolas expuestos a estas sustancias (Negatu *et al.*, 2020).

Las muestras de orina se recolectan de voluntarios anónimos, se diluyen 1:1 con agua desionizada y se filtran a través de una membrana de 0.45 μm . De estas muestras se toma una alícuota de 1 mL para hidrolizarla con la enzima β -glucuronidasa a 37°C, incubándolas durante una noche. Cada muestra se limpia mediante una extracción en fase sólida (SPE) en un colector a vacío; los cartuchos se acondicionan agregando 3 mL de acetona y 3 mL de ácido acético al 1 % en agua. Después de agregar la muestra de orina en los cartuchos, estos se lavan con 1.5 mL de solución de ácido acético:metanol:agua (1:5:94 v/v). El extracto obtenido se eluye con 1.5 mL de acetona y 1.5 mL de hexano. Posteriormente el extracto se evapora a 40 °C hasta sequedad mediante una corriente de nitrógeno seco (10-12 psi) con un evaporador durante 30 minutos. Al residuo obtenido se le agrega 200 μL de solución H_2O :ACN (95:5 v/v) y se colocan en los viales para su posterior inyección en el cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Behniwal & She, 2017).

Es importante destacar que la exposición a los herbicidas puede tener efectos negativos en la salud humana, como el desarrollo de enfermedades crónicas, la disrupción endocrina y el impacto en la salud reproductiva (Herrera *et al.*, 2019). Por lo tanto, es esencial implementar prácticas agrícolas sostenibles que reduzcan la necesidad de utilizar herbicidas en los cultivos, así como promover medidas de protección y conciencia en la población para reducir la exposición a estas sustancias tóxicas.

La detección y cuantificación de residuos de herbicidas en estas matrices puede ser realizada utilizando diferentes técnicas analíticas, como cromatografía líquida, espectrometría de masas y electroforesis capilar. La elección de la técnica adecuada dependerá del tipo de muestra y de la naturaleza del herbicida que se desea detectar. Es importante seguir investigando y monitoreando la presencia de residuos de herbicidas en estas matrices para garantizar la seguridad alimentaria y proteger la salud pública.

1.8 Ventajas de la cromatografía líquida y la espectrometría de masas de ultra alta resolución en la detección de herbicidas

En el ámbito del análisis químico, dos técnicas ampliamente utilizadas y reconocidas son la cromatografía de líquidos de alta eficiencia y la espectrometría de masas de ultra alta resolución. Estas técnicas se emplean para la separación, identificación y cuantificación de compuestos químicos en una variedad de muestras. La cromatografía de líquidos de alta eficiencia se basa en la separación de componentes mediante su interacción con una fase estacionaria y una fase móvil, lo que permite obtener una resolución adecuada y una alta eficiencia de separación. Por otro lado, la espectrometría de masas de ultra alta resolución se encarga de la identificación y cuantificación de compuestos a través de la medición precisa de las masas de iones generados en una muestra. Ambas técnicas presentan ventajas y desafíos particulares, por lo que su comparación resulta relevante para determinar cuál es la más adecuada en diferentes contextos analíticos.

En este apartado, se realiza una comparación exhaustiva de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia y la espectrometría de masas de ultra alta resolución, evaluando aspectos como la sensibilidad, la selectividad, la resolución, la velocidad de análisis y la aplicabilidad en diferentes campos científicos, con el objetivo de proporcionar una visión integral sobre estas poderosas herramientas analíticas y su potencial en diversas áreas de investigación.

Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

La cromatografía líquida es una técnica analítica que se utiliza ampliamente en la detección y cuantificación de herbicidas en matrices ambientales, debido a sus numerosas ventajas en comparación con otras técnicas de análisis. Entre las ventajas de la HPLC se encuentran la alta sensibilidad y precisión, la capacidad de analizar una amplia variedad de herbicidas y la rapidez de los análisis.

La eficiencia de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia depende del tipo de detector que se utilice y este a su vez depende de las características del analito, los detectores más comunes son (Thermo Fisher, 2022):

- Detector de aerosol cargado (CAD): Utilizado con analitos no volátiles, da una respuesta casi uniforme independientemente de la estructura química del analito.
- Detector de matriz de diodo (DAD): Genera espectros UV-Vis en dos y tres dimensiones; el analito debe tener un cromóforo.
- Detector de longitud de onda múltiple (MWD) Genera espectros UV-Vis en dos y tres dimensiones en el analito debe tener un cromóforo.
- Detector de longitud de onda variable (VWD): Genera espectros UV-Vis en dos y tres dimensiones con buena linealidad y disminuyendo el ruido; el analito debe tener un cromóforo.
- Detector de fluorescencia (FLD): Tiene una mayor selectividad y sensibilidad que un detector UV-Vis; el analito debe tener un fluoróforo o se le deben colocar etiquetas fluorescentes.
- Espectrómetro de masas (MS): Identifica a los compuestos basándose en la relación masa-carga, por tal motivo el analito debe ser ionizable.
- Detector de índice de refracción (RID): Se utiliza en el análisis de azúcares, polímeros, tensoactivos y compuestos que no tienen cromóforos. Funciona midiendo el cambio del índice de refracción del diluyente provocado por el analito.

Una de las principales ventajas de la HPLC es su alta sensibilidad, lo que permite detectar residuos de herbicidas en matrices ambientales a niveles muy bajos. Esto es particularmente importante debido a que algunos de estos compuestos pueden ser tóxicos a concentraciones muy bajas y, por lo tanto, es esencial detectarlos y cuantificarlos con precisión. La HPLC puede utilizarse para analizar una amplia variedad de plaguicidas, incluyendo insecticidas, fungicidas y herbicidas, y se puede aplicar a diferentes matrices ambientales, como suelos, agua y alimentos.

La HPLC también es una técnica de análisis rápida, lo que permite obtener resultados en un corto período de tiempo. Esto es particularmente importante en la detección de residuos de herbicidas en alimentos y productos agrícolas, donde se necesita un análisis rápido para asegurar la seguridad de los productos.

Además, la cromatografía líquida también tiene la ventaja de ser una técnica no destructiva, lo que significa que las muestras analizadas pueden ser recuperadas y utilizadas para análisis posteriores. Esto es particularmente importante en la industria alimentaria, donde las muestras son a menudo limitadas y preciosas (Ospina & Hernández, 2018).

La cromatografía líquida es una técnica muy valiosa en la detección de herbicidas debido a su alta eficiencia, sensibilidad y especificidad. La técnica es ampliamente utilizada en la industria alimentaria y en la investigación ambiental para detectar residuos de herbicidas en matrices ambientales y en productos alimenticios.

Espectrometría de masas de ultra alta resolución

La espectrometría de masas de ultra alta resolución está basada en el movimiento ciclotrónico de partículas cargadas en una celda de confinamiento iónico, es de muy alta resolución ($R=10^6$) y sensibilidad. La separación e identificación de los materiales detectados se realizan mediante su espectrómetro de ultra alta precisión.

La espectrometría de masas de ultra alta resolución (UHRMS, por sus siglas en inglés) se ha convertido en una técnica analítica poderosa y ampliamente utilizada en la detección y cuantificación de herbicidas en matrices ambientales, gracias a su alta resolución, precisión y selectividad. La UHRMS es capaz de identificar y

cuantificar compuestos a nivel molecular, proporcionando una información muy detallada sobre la composición química de una muestra.

Entre las ventajas de la UHRMS se encuentra su capacidad para detectar y cuantificar múltiples herbicidas en una sola corrida, lo que reduce el tiempo y los costos de análisis. Además, la UHRMS puede detectar herbicidas en niveles extremadamente bajos, incluso en muestras ambientales muy complejas, como suelos y sedimentos. Otra ventaja es su alta resolución, que permite la separación y cuantificación de isómeros y homólogos de herbicidas, lo que no es posible con otras técnicas de análisis como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) (May, 2017).

La UHRMS también es capaz de proporcionar información adicional sobre la estructura química de los herbicidas y sus metabolitos, lo que es crucial en estudios de metabolismo y de degradación ambiental de herbicidas (Pérez de Souza *et al.*, 2021).

Además de la alta resolución, la UHRMS también ofrece alta sensibilidad y especificidad en la detección de herbicidas. Los avances en la tecnología de ionización y el desarrollo de métodos de extracción de muestras mejorados han permitido una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de herbicidas. Por ejemplo, el uso de técnicas como la espectrometría de movilidad iónica acoplada a la UHRMS ha mejorado la capacidad de detección de herbicidas en muestras ambientales, al permitir la separación de compuestos que son difíciles de separar por técnicas convencionales de cromatografía (Zarrouk *et al.*, 2022).

Esa técnica permite:

- Determinar pesos moleculares exactos de sustancias orgánicas
- Determinar estructuras moleculares
- Determinar estructuras de iones
- Analizar mezclas de compuestos orgánicos
- Análisis de trazas en matrices complejas; estudiar sustancias fisiológicamente activas y biomoléculas

La espectrometría de masas de ultra alta resolución es una técnica analítica altamente efectiva en la detección y cuantificación de herbicidas. Su alta resolución, sensibilidad y especificidad, la capacidad de identificar y cuantificar múltiples herbicidas en una sola corrida, y la capacidad de proporcionar información detallada sobre la estructura química de los herbicidas, la hacen una técnica de análisis indispensable en la evaluación y control de herbicidas en el medio ambiente.

Por todo lo anterior estas dos técnicas fueron elegidas para el desarrollo de este proyecto, la espectrometría de masas de ultra alta resolución para la identificación de los herbicidas en muestras de orina y la cromatografía de líquidos de alta resolución para la cuantificación de los residuos que pudieran estar presentes.

1.9 Compuestos aductos en la espectrometría de masas

En la espectrometría de masas de ultra alta resolución, un aducto es un ion formado por la unión de un analito y un reactivo durante el proceso de ionización. Los aductos son importantes en la espectrometría de masas, ya que pueden afectar la identificación y cuantificación de los analitos.

Los aductos se forman durante el proceso de ionización, que es el paso clave en la espectrometría de masas. La formación de aductos puede ser influenciada por varios factores, como la polaridad de la molécula, la fuerza de enlace entre el analito y el reactivo, y la cantidad de reactivo presente en la muestra. Existen diferentes tipos de aductos que pueden ser formados en la espectrometría de masas de ultra alta resolución, tales como aductos de protones, aductos de sodio, aductos de potasio, aductos de amonio y aductos de cloruro, entre otros. La formación de un aducto puede cambiar la masa y la estructura del analito, lo que a su vez puede afectar la identificación y cuantificación del analito en la muestra (Srokosz, 2022).

En la espectrometría de masas de ultra alta resolución, la identificación y cuantificación de analitos es generalmente realizada por comparación de los espectros de masa obtenidos de la muestra con los espectros de masa de referencia. Sin embargo, debido a la formación de aductos, los espectros de masa pueden contener señales adicionales que dificultan la identificación y cuantificación precisa del analito, especialmente en matrices ambientales complejas como el agua de río y sedimentos (Erngren et al., 2019).

Los diferentes factores que influyen en la formación de aductos, así como la comprensión de los diferentes tipos de aductos que pueden ser formados, son importantes para la interpretación precisa de los espectros de masa en la espectrometría de masas de ultra alta resolución.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En el capítulo anterior se abarcó la problemática que existe del mal uso de los herbicidas que se tiene en los cultivos de las comunidades agrícolas, por tal motivo se implementó una técnica de análisis mediante HPLC para detectar y cuantificar los residuos de herbicidas como 2,4-D, atrazina, mesotrione y paraquat; también se llevó a cabo un análisis mediante espectrometría de masas de ultra alta resolución (MRMS) para detectar la presencia de estos herbicidas añadiendo también al glifosato en la orina de niños menores de 15 años de una comunidad agrícola.

En la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional (ESIQIE-IPN) se tiene la Academia de Química analítica, la cual cuenta con el Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias, quien posee equipamiento de alto nivel tecnológico, ya que cuentan con un equipo de espectrometría de masas por infusión directa por resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (ESI FIA FTICR-MS), modelo SOLARIX, marca Bruker. En este laboratorio se cuenta con una línea de trabajo sobre biorremediación, en ese contexto este trabajo es para generar evidencia de la presencia de herbicidas en humanos. En este capítulo se explicará de manera detallada cada una de las técnicas analíticas utilizadas.

2.1 Materiales y métodos

En esta sección, se describe minuciosamente cada herramienta, instrumento y equipo utilizado en el desarrollo experimental. Desde los dispositivos de análisis hasta los reactivos utilizados, cada elemento se selecciona cuidadosamente para asegurar la precisión y reproducibilidad de los procedimientos. La elección de los materiales y equipos adecuados no solo garantiza la validez de los datos obtenidos, sino que también respalda la integridad científica del estudio al ofrecer la capacidad de replicar los experimentos de manera consistente.

En la tabla 2.1 están enlistados todos los reactivos utilizados durante la experimentación; indicando la pureza, marca y país de fabricación.

Tabla 2.1: Reactivos utilizados

Nombre	Pureza	Marca	País	CAS
Acetonitrilo (ACN) grado HPLC	99.98%	J.T Baker	Estados Unidos	75-05-8
Agua desionizada	100%	Meyer	México	7732-18-5
Ácido clorhídrico (HCl)	20-40%	Meyer	México	7647-01-0
2,4-D	49.4 %	Syngenta	México	94-75-7
Atrazina	90 %	Syngenta	Estados Unidos	1912-24-9
Paraquat	25 %	Syngenta	Estados Unidos	4685-14-7
Mesotrione	40 %	Syngenta	Estados Unidos	104206-82-8
Glifosato	41 %	Machete	México	1071-83-6

En la tabla 2.2 están enlistados todos los equipos de laboratorio que se utilizaron, indicando su marca, modelo y país de fabricación.

Tabla 2.2: Equipos de laboratorio utilizados

Instrumento	Marca	Modelo	País
Centrifuga clínica	Thermo Scientific	Legend Micro 21	México
Vórtex	Scientific Industries	Genie Touch Mixer	Estados Unidos
Sistema de purificación de agua miliQ	Merck	Simplicity UV	Estados Unidos
Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia	Perkin Elmer	Flexar	Estados Unidos
Columna cromatográfica C18 5µm 100 x 4.0 mm	Perkin Elmer	NA	Estados Unidos
Espectrómetro de masas	Bruker	SOLARIX	Alemania

2.2 Metodología general del proceso analítico

En esta sección, se presenta la hoja de ruta analítica que guiará el proceso experimental. Desde la recolección de muestras hasta la interpretación de los resultados, se detalla el enfoque analítico adoptado, resaltando las técnicas específicas utilizadas para cada etapa del proceso. Cada paso está cuidadosamente delineado, describiendo la secuencia de acciones para asegurar la coherencia, fiabilidad y reproducibilidad de los análisis. La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) se utiliza para separar los componentes individuales de la mezcla, mientras que la espectrometría de masas (MRMS) se encarga de identificar y cuantificar los plaguicidas con una alta sensibilidad y selectividad. Esta técnica instrumental avanzada permite no solo la detección precisa de plaguicidas específicos, sino también la identificación de sus metabolitos o productos de degradación.

En la figura 2.1 se muestra el diagrama de flujo general de la experimentación realizada.

De las muestras recolectadas se tomó una alícuota de 4 mL y se colocó en tubos Eppendorf para centrifugarla a 10,000 rpm durante 10 min, el sobrenadante se va a filtrar con una membrana PTFE (politetrafluoroetileno) de 0.45 μ m y se colocan en los viales de 2 mL para HPLC, se le adicionan 50 μ L de HCl concentrado y se mezcló mediante vórtex durante 10 segundos antes de ser inyectados en el HPLC.

De los 2 mL de muestra colocada en los viales para HPLC, se toma un alícuota de 50 μ L para ser inyectado al espectrómetro de masas por infusión directa por resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (ESI FIA FTICR-MS).

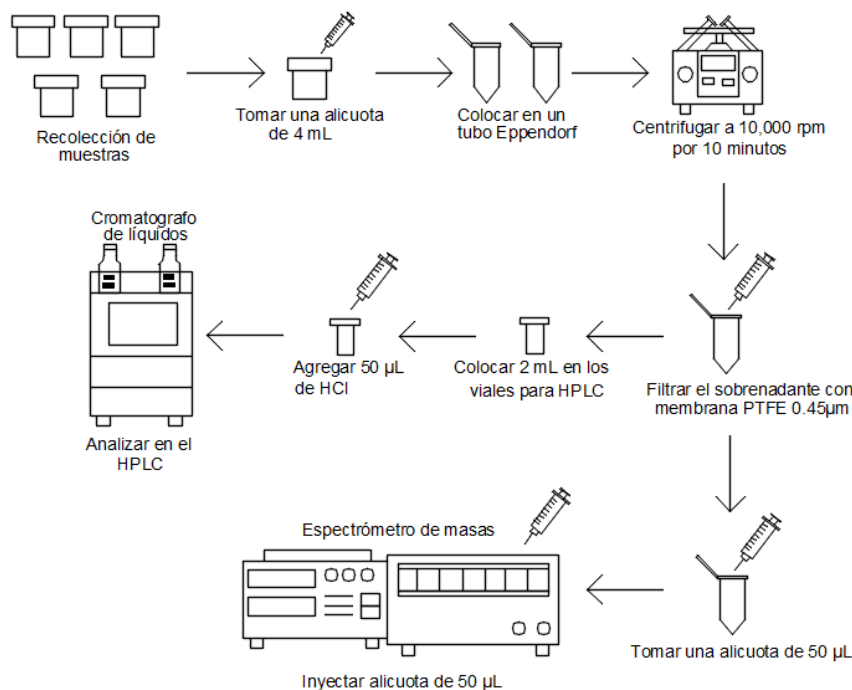


Figura 2.1: Diagrama general del desarrollo experimental [elaboración propia]

2.3 Desarrollo del método analítico

El desarrollo de un método analítico exhaustivo y confiable para la detección de herbicidas en orina, requiere de una serie de etapas interrelacionadas. Comprende desde la recolección inicial de las muestras hasta la implementación de técnicas analíticas de vanguardia, para identificar y cuantificar los herbicidas presentes.

En este proceso, la recolección cuidadosa de muestras es el punto de partida, seguido por su recepción y tratamiento en el laboratorio. La preparación de estas implica la extracción de los compuestos de interés, es seguida por el análisis mediante técnicas como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y la espectrometría de masas. La culminación de estas etapas resulta en un proceso analítico integral capaz de identificar y cuantificar los herbicidas y sus metabolitos con precisión y fiabilidad en las muestras.

A continuación, se describe a detalle cada una de las etapas del método analítico.

2.3.1 Recolección de muestras:

Se visitó una comunidad agrícola indígena de Jiquipilco en el Estado de México, para obtener las muestras de orina de niños en un rango de edad de 3 a 14 años, residentes de la zona.

Las muestras se tomaron después de cuatro meses de la aplicación de los herbicidas y el pueblo de Jiquipilco está rodeado de campos de maíz, por lo que las casas se encuentran a una distancia aproximadamente a 20 metros de los cultivos.

Se recolectaron 12 muestras de orina en vasos de plástico estériles de 100 mL.

Las muestras se colocaron en una hielera a temperatura de 4 °C para poder ser trasladadas al Laboratorio de Posgrado e Investigación de Operaciones Unitarias de la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, siguiendo los requerimientos que establece la NOM-007-SSA3-2011 para garantizar la integridad de la muestra durante su traslado.

2.3.2 Recepción y tratamiento de muestras en el laboratorio

Una vez que las muestras llegaron al laboratorio se sacaron de la hielera y se colocaron dentro de un refrigerador a temperatura de 4°C para su posterior análisis.

Se tomó una alícuota de 2 mL de cada muestra y se colocó en un tubo Eppendorf para centrifugarlas a 10,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se filtró mediante una membrana PTFE de 0.45 µm, posteriormente la muestra se llevó a viales para inyección en HPLC.

A cada vial se le agregaron 50 µL de HCl concentrado, se mezcla por 10 segundos en un equipo conocido como vórtex para posteriormente ser inyectado en HPLC (ver Figura 2.2).

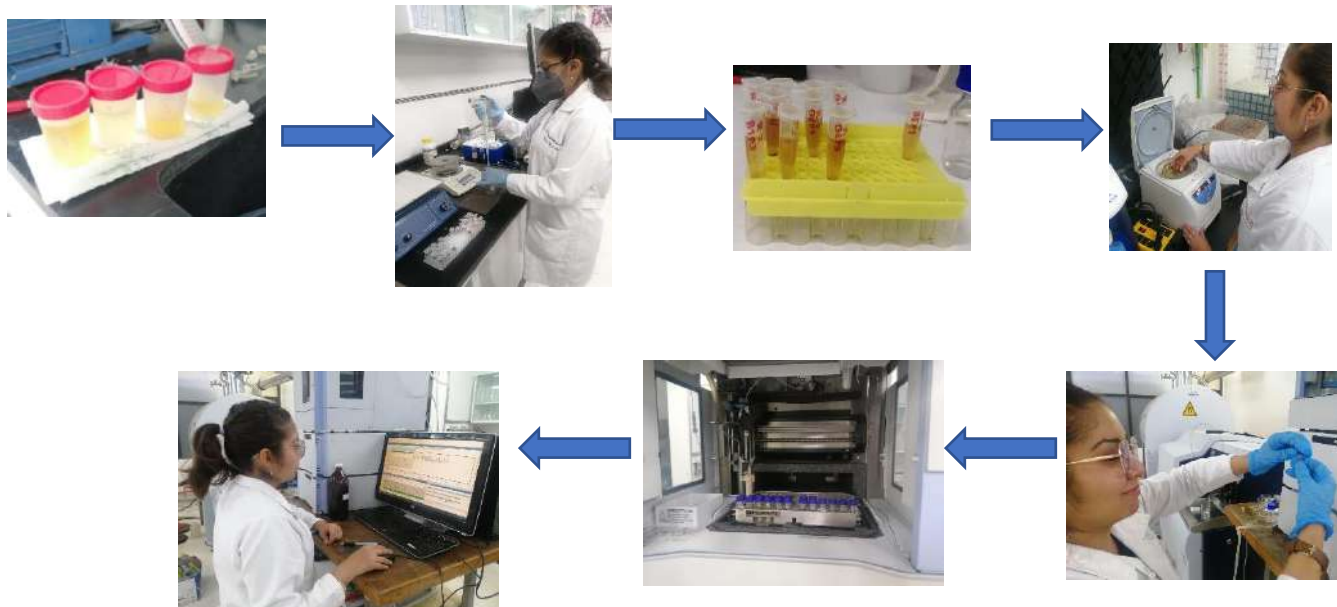


Figura 2.2: Diagrama del desarrollo experimental por HPLC

2.3.3 Curva de calibración

Los herbicidas que se esperan encontrar en las muestras son: atrazina, paraquat, 2,4-D y mesotrione; por ser los más utilizados en los cultivos de esa región.

Se prepararon soluciones estándar de cada herbicida a una concentración de 500 ppm, de cada solución se tomaron 2 mL para preparar una solución que funcione como patrón de referencia en el HPLC.

De esa solución patrón se tomaron alícuotas para diluirlas y así poder construir la curva de calibración teniendo de referencia los siguientes puntos en partes por millón (ppm= $\mu\text{g/mL}$): 10 ppm, 7.5 ppm, 5 ppm, 2.5 ppm y 1 ppm (ver figura 2.3).

A cada solución de la curva de calibración fueron agregados 50 μL HCl concentrado y se mezcló mediante vórtex durante 10 segundos antes de ser inyectados en el HPLC.

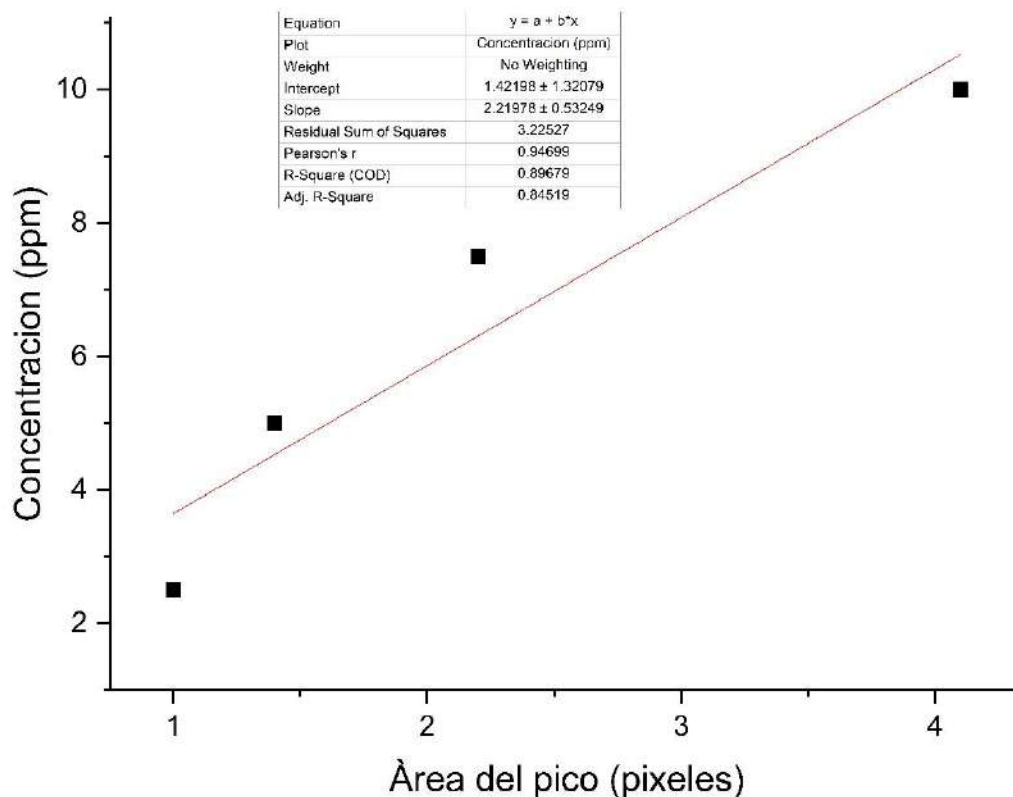


Figura 2.3: Curva de calibración para cuantificar la concentración de los herbicidas [elaboración propia]

Para conocer la concentración de herbicidas que contenía cada muestra de orina se obtuvo el área de cada pico del cromatograma obtenido con el software Chromera del equipo HPLC, el dato del área se sustituye en la ecuación de la recta obtenida al linealizar los datos de la curva de calibración, cada pico del cromatograma representa a un herbicida diferente y cada uno tiene su ecuación de línea recta (ver Anexo 1). A continuación, se presenta un ejemplo del cálculo con la muestra 1 en la que se detectó la presencia de atrazina.

Área del pico 1 de la muestra: 7.2 píxeles

Ecuación de la recta: $y = 0.9789x - 2.0948$

Sustitución: $y = (0.9789 \cdot 7.2) - 2.0948 = 4.9532 \frac{mg}{L} = 4.9532 ppm$

2.4 Desarrollo del método en HPLC

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés, High-Performance Liquid Chromatography) es una técnica analítica utilizada para separar, identificar y cuantificar componentes individuales en una muestra líquida. Este método se basa en la interacción de los componentes de la muestra con una fase estacionaria y una fase móvil, lo que permite la separación de los constituyentes en función de sus propiedades físico-químicas.

Se probaron distintos métodos isocráticos tomados de bibliografía para la determinación de cada herbicida por separado (Baez & Zincker, 1999; Gallay & Mendoza, 2007; García & Velazquéz, 2018; Gómez, 2015), sin embargo ninguno permitió detectar todos los herbicidas que contenía la solución patrón simultáneamente, por tal motivo se decidió diseñar un nuevo método cromatográfico para la detección de todos los herbicidas.

El método cromatográfico que se utilizó fue un método gradiente con duración de 11 minutos, utilizando como fase móvil acetonitrilo (ACN) - agua desionizada en diferentes proporciones con respecto al tiempo como se muestra en la tabla 2.4; como fase estacionaria se utilizó una columna C18 de 250 mm y un diámetro interno de 4 mm, se implementó un tiempo de equilibrio de 15 minutos para la bomba, un flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 10 μ L; se utilizó una longitud de onda de 220-254 nm y un detector de arreglo de fotodiodos (PDA por sus siglas en inglés). En la tabla 2.3 se muestra un resumen de las condiciones generales del método.

Tabla 2.3: Condiciones generales del método

Fase móvil: A=ACN B=Agua	Tiempo de equilibrio: 15 min
Flujo: 1 mL/min	Volumen de inyección: 10 μ L
Tiempo total: 11 min	λ =220-254 nm
Fase estacionaria: C 18	Diámetro interno: 4 mm
Longitud de la columna: 250 mm	Diámetro de partícula: 5 μ m

Tabla 2.4: Condiciones específicas del método gradiente

Tiempo (min)	%A (ACN)	%B (Agua)
0.5	0	100
1	20	80
2.5	10	90
3.0	20	80
2.0	40	60
2.0	0	100

2.5 Optimización del análisis mediante ESI FIA-FTCIR-MRMS

La optimización del método de análisis mediante espectrometría de masas con infusión directa por resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (ESI FIA FTCIR-MRMS) (ver Figura 2.4) es fundamental en este estudio, ya que esta técnica tiene la capacidad de confirmar y caracterizar los herbicidas identificados en las muestras de una manera precisa y detallada. Al utilizar la espectrometría de masas, se puede obtener información sobre la masa molecular y la estructura de los herbicidas, lo que proporciona una confirmación inequívoca de su presencia. Además, la técnica permite obtener datos sobre la composición y la distribución de los iones presentes en las muestras, lo que contribuye a una mejor comprensión de las características químicas de los herbicidas identificados. Esta información detallada es crucial para evaluar el grado de exposición a los herbicidas y para comprender su potencial impacto en la salud humana y el medio ambiente. La optimización del método garantizará una mejor resolución, sensibilidad y especificidad en la identificación de herbicidas en las muestras de orina, fortaleciendo así la base científica de este estudio y proporcionando resultados confiables y precisos para una evaluación más completa de la exposición a los herbicidas.



Figura 2.4: Espectrómetro de masas SOLARIX marca Bruker (ESI FIA FTCIR-MS)

Mediante esta técnica también se busca encontrar la presencia de glifosato en las muestras, así como los demás herbicidas antes mencionados.

Se inyectó el punto más alto y el punto más bajo de la curva de calibración como una referencia de los herbicidas en las muestras de orina (ver figura 2.5).

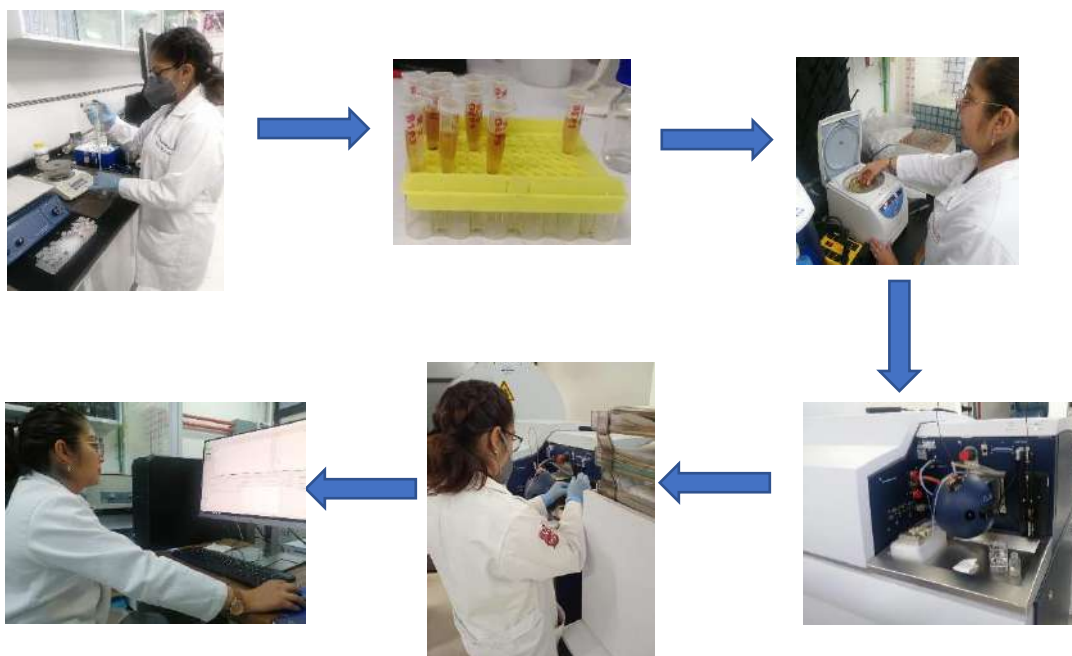


Figura 2.5: Diagrama del desarrollo experimental por MRMS

Se tomó una alícuota de 2 mL de las muestras y se colocaron en un tubo Eppendorf, después se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 minutos, posteriormente el sobrenadante se filtró con una membrana PTFE de 0.45 μm y se inyectaron mediante una infusión directa de 50 μL a ESI FIA-FTCIR-MRMS.

Se analizaron las muestras en un espectrómetro de masas de resonancia de iones en el ciclotrón con transformada de Fourier (FTICR) modelo solarix de Bruker (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Alemania) equipado con un imán superconductor de 7 Tesla (Magnex Scientific Inc., Yarton, Reino Unido) y una fuente de ionización APOLO II ESI (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Alemania) operada en modo de ionización negativa/positiva. Se midieron iones en la celda correspondiente (ICR) en un rango de masas (m/z) de 50 a 3500 utilizando una resolución de 2 M de puntos de datos.

Las condiciones de análisis se muestran en la Figura 2.6.

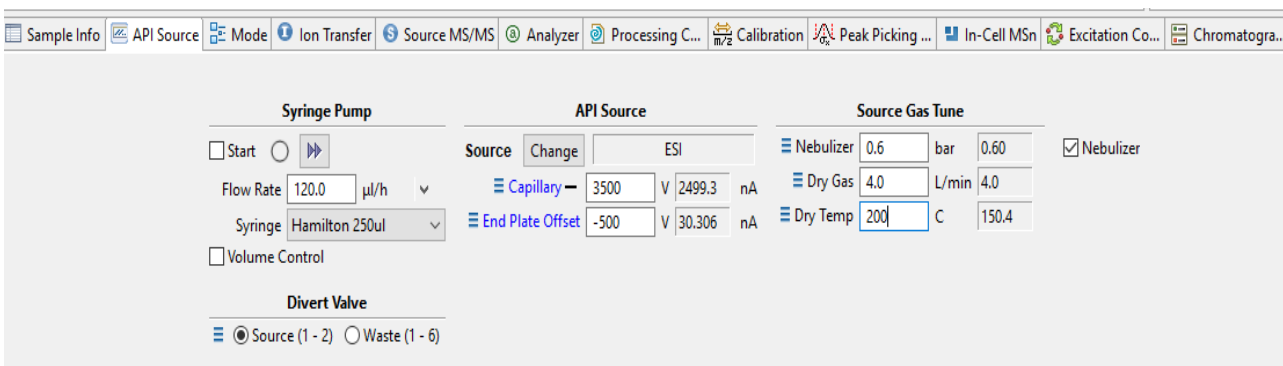


Figura 2.6: Condiciones API del equipo [Software FTMS]

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y ANÁLISIS

En este capítulo se presentan los hallazgos obtenidos a través de técnicas analíticas avanzadas. Se realiza la cuantificación precisa de herbicidas en las muestras de orina mediante la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), que se revela como una herramienta esencial para determinar la concentración exacta de estos compuestos. Además, se aborda la identificación cualitativa de herbicidas mediante la espectrometría de masas de alta resolución (MRMS), lo que proporciona una visión detallada de los compuestos presentes en las muestras. Pero no se detiene aquí la indagación, ya que se profundiza en la identificación de los principales metabolitos, utilizando técnicas estadísticas avanzadas y la elaboración de mapas de calor. Estos resultados no solo arrojarán luz sobre la presencia de herbicidas en la orina de niños menores de 15 años, se podrá comprender cómo estos compuestos y sus metabolitos pueden impactar la salud.

3.1 Cuantificación de herbicidas mediante HPLC

Se acudió a la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), técnica que se utiliza para separar y aislar analitos biológicos, inorgánicos y orgánicos, esta técnica permite separar moléculas de una mezcla.

Mediante la gráfica de la Figura 2.3 se estableció el rango lineal de cuantificación de las muestras que se analizaron por HPLC para cuantificar la concentración de los herbicidas y los resultados se dan en la tabla 3.1 y la Figura 3.1:

Tabla 3.1: Concentraciones encontradas de los herbicidas ($\mu\text{g/mL}$).

Muestra	Herbicida				
	Atrazina	2,4-D	Glifosato	Paraquat	Mesotrione
1	4.95328	ND	4.82908	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND
3	3.28915	7.88448	6.160964	ND	ND
4	2.50603	ND	18.0870	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	51.7304	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND
8	8.47732	29.80744	ND	0.34808	ND
9	ND	23.46132	ND	ND	ND
10	ND	38.46124	ND	ND	ND
11	ND	32.69204	ND	ND	ND
12	ND	19.9998	ND	ND	ND

Nota 1: ND (No detectado)

Nota 2: Los cálculos para la concentración de cada herbicida se encuentran en el anexo 1.

La aplicación de HPLC permitió detectar atrazina, 2,4-D, glifosato y paraquat, en las muestras de orina, sin haberse detectado el herbicida mesotrione en las muestras analizadas. Las muestras de orina se obtuvieron de niños sanos que viven en Jiquipilco, Estado de México.

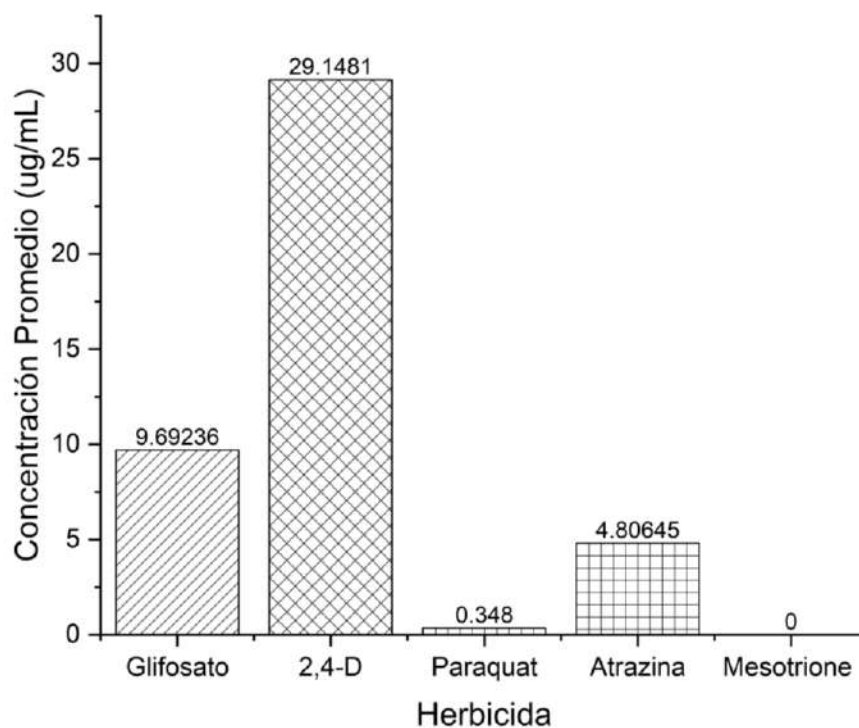


Figura 3.1: Representación gráfica de concentraciones promedio encontradas en las muestras analizadas [elaboración propia]

Este biomonitoreo, corresponde a un primer informe sobre exposición de herbicidas en la orina de niños mexicanos, se detectó glifosato en el 25% de las muestras, con una concentración de 9.6 $\mu\text{g/mL}$; el herbicida 2,4-D se encontró en una concentración de 29.1 $\mu\text{g/mL}$ en 58% de las muestras; la atrazina se encontró en el 33% de las muestras en una concentración de 4.8 $\mu\text{g/mL}$; mientras que el paraquat se encontró en el 8.3% de las muestras en una concentración de 0.348 $\mu\text{g/mL}$. Estos resultados concuerdan con los resultados de Ferreira y colaboradores (2021) en niños portugueses, que en la orina les fue identificado el herbicida glifosato (Ferreira *et al.*, 2021).

3.2 Identificación de herbicidas mediante MRMS

El trabajo se apoyó en la espectrometría de masas que auxilia a identificar compuestos desconocidos, cuantifica compuestos conocidos, descifra la estructura y propiedades químicas de las moléculas encontradas, explicable porque cada compuesto es único, por ellos son ionizados los compuestos, principio de la espectrometría de masas en la identificación de cada analito.

Se adquirieron espectros de masas de alta resolución, los cuales se exportaron a listas de picos con un umbral de relación señal-ruido (S/N) de 6 utilizando el software Data Analysis 6.0. para identificar la presencia de los herbicidas en las muestras de orina.

La MRMS (Espectrometría de Masas por Resonancia Magnética) reveló que de las muestras analizadas se encontró la presencia de cuatro herbicidas: glifosato, 2,4-D, atrazina y paraquat. Los resultados son indiscutibles, atribuible a que la espectrometría de masas identifica las moléculas con fundamento en el comportamiento específico de los iones que se forman por las diferentes técnicas de ionización al atravesar campos eléctricos y magnéticos de la muestra. Estos resultados se presentan en porcentajes de cada uno de los herbicidas encontrados, los cuales se ilustran en la Figura 3.2 y los cálculos de los porcentajes se encuentran en el anexo 1.

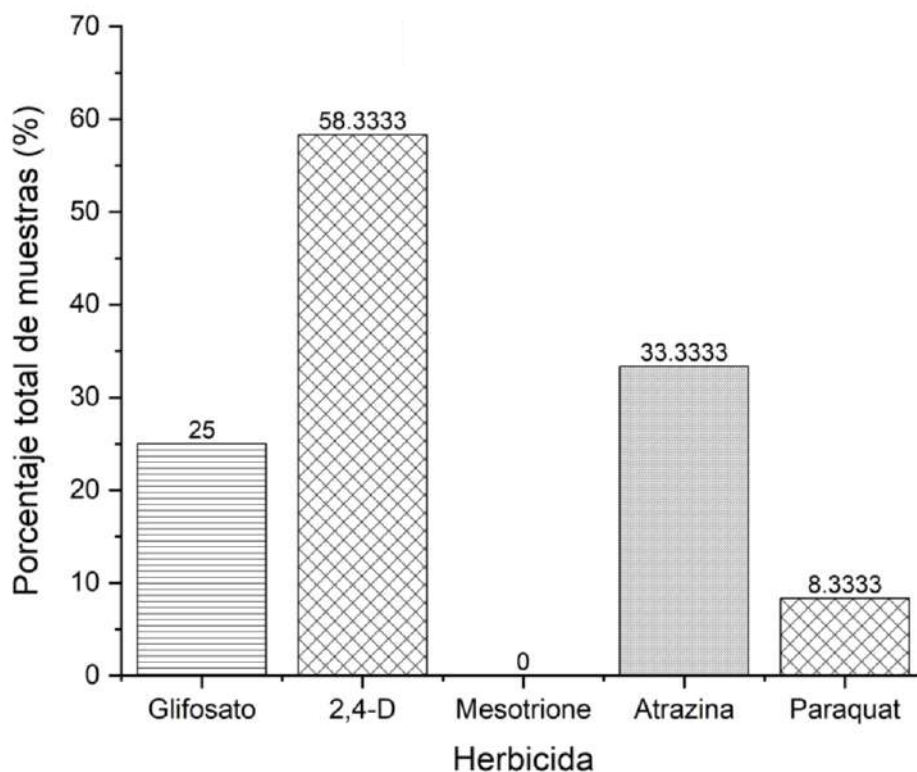


Figura 3.2: Representación gráfica de los porcentajes de los herbicidas encontrados en las muestras [elaboración propia]

Con el uso de un instrumento de la serie SOLARIX de la marca Bruker, se realizó la Espectrometría de Masas por Resonancia Magnética, se obtuvieron los espectrogramas correspondientes al análisis, cuya identificación y cuantificación de moléculas, es por relación masa/carga (m/z), en diferentes matrices (líquidas, sólidas), después de que son ionizadas, para ello se identificó la presencia de los siguientes aductos de los herbicidas, con sus respectivos valores de masa área.

Aductos de los herbicidas: Es un concepto químico que describe la unión de dos moléculas mediante un enlace covalente. Los aductos más estables se detectaron por medio de la ionización del electro-spray.

Aducto-glifosato: Fue el que se encontró en mayor proporción $M+H$ (170.021286) en la muestra 3 (ver Figura 3.3), este aducto es el correspondiente a la solución patrón de 10 ppm de la curva de calibración.

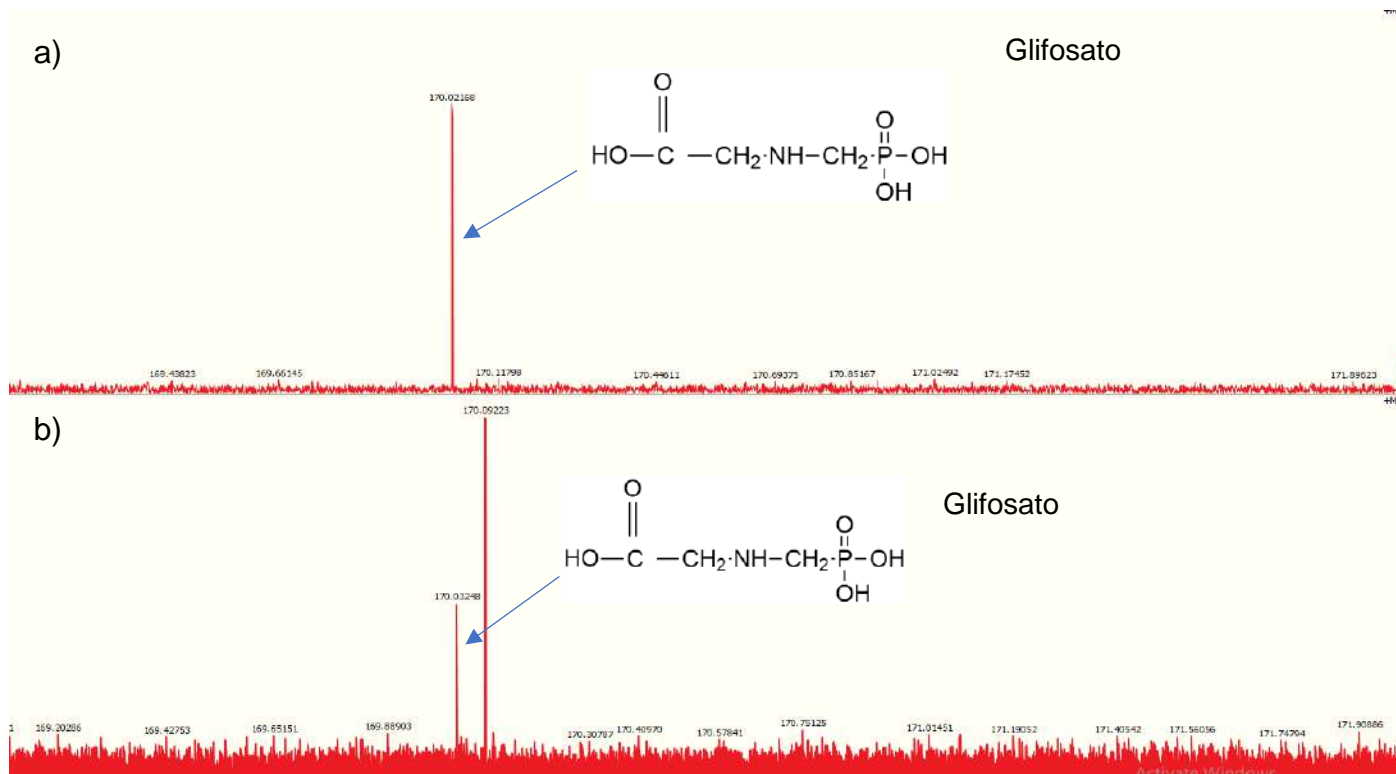


Figura 3.3: a) Espectro de masas del glifosato en la solución patrón de 10 ppm

b) Espectro de masas del glifosato encontrado en la muestra 3

Aducto-2,4-D: Fue el que se encontró en mayor proporción M-H (218.961026) en la muestra 2 (ver Figura 3.4), este aducto es el correspondiente a la solución patrón de 10 ppm de la curva de calibración.

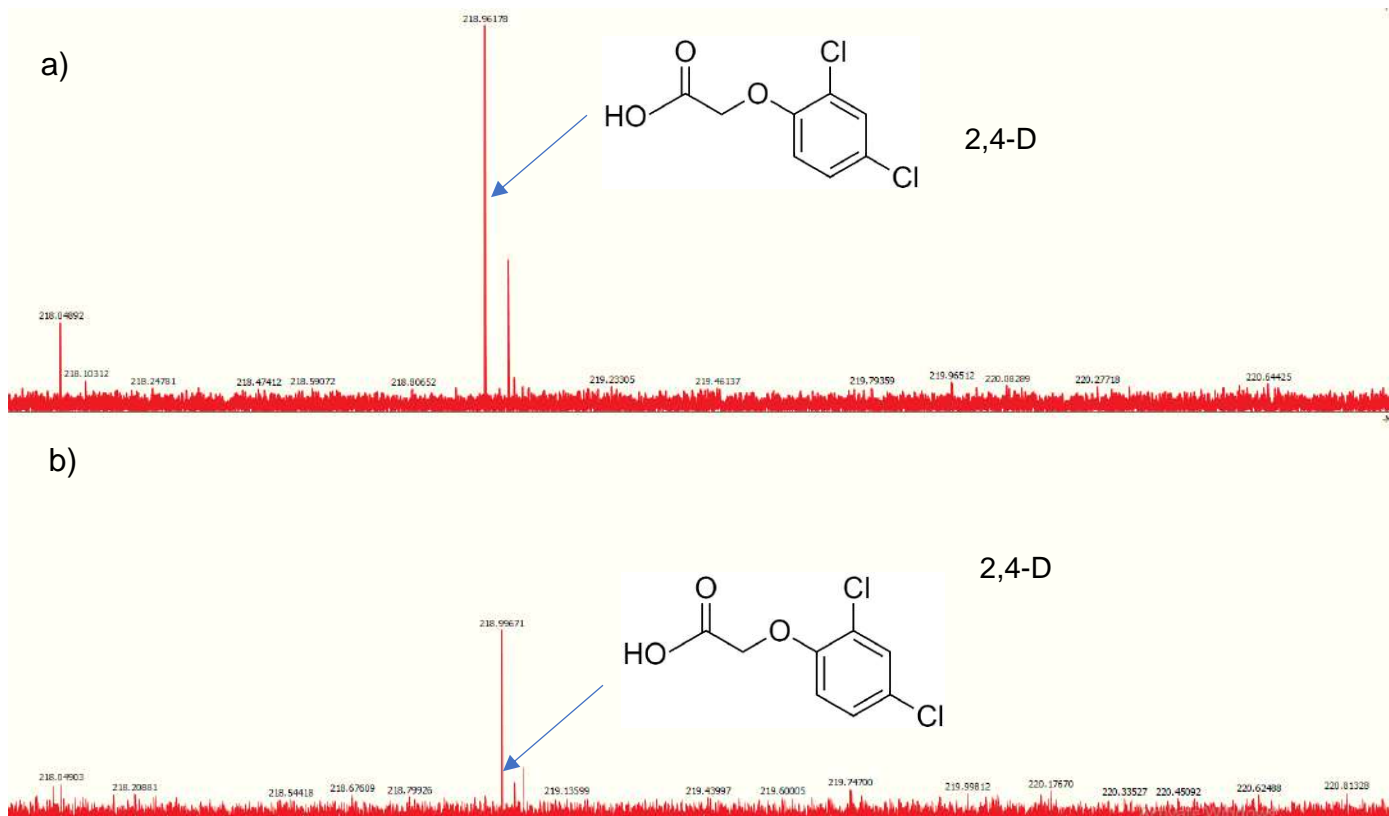


Figura 3.4: a) Espectro de masas del 2,4- D en la solución patrón de 10 ppm

b) Espectro de masas del 2,4-D encontrado en la muestra 2

Aducto-atrazina: Fue el que se encontró en mayor proporción M-H (214.085400) en la muestra 12 (ver Figura 3.5), este aducto es el correspondiente a la solución patrón de 10 ppm de la curva de calibración.

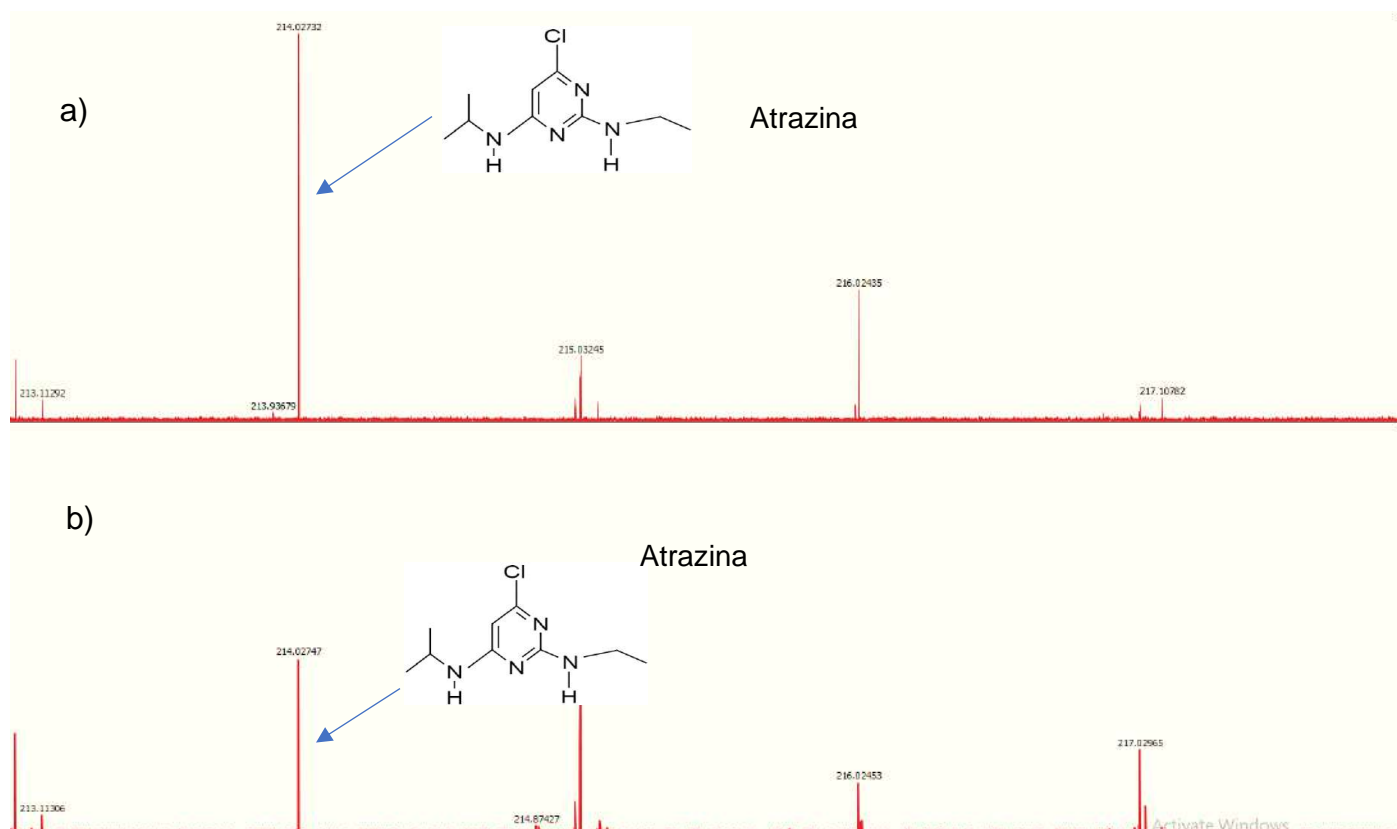


Figura 3.5: a) Espectro de masas de atrazina en la solución patrón de 10 ppm

b) Espectro de masas de atrazina encontrado en la muestra 12

Aducto-paraquat: Fue el encontrado en mayor proporción M+Cl (291.021708) en la muestra 8 (ver Figura 3.6), este aducto es el correspondiente a la solución patrón de 1 ppm de la curva de calibración.

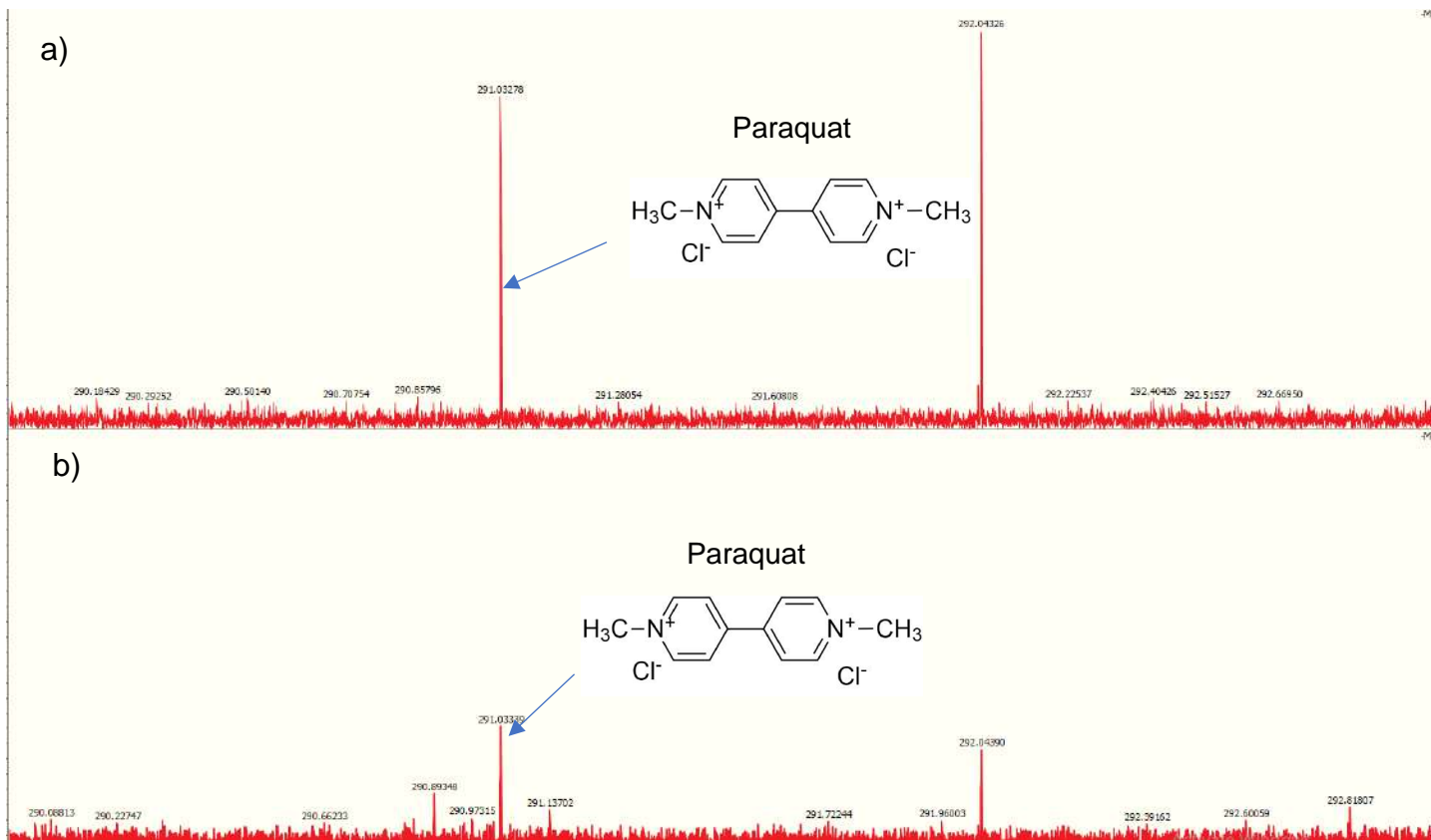


Figura 3.6: a) Espectro de masas del paraquat en la solución patrón de 1 ppm.

b) Espectro de masas del paraquat encontrado en la muestra 8

3.3 Identificación de metabolitos

La metabolómica su propósito es disponer de la información del perfil metabólico, la identificación es apoyados de espectrometría de masas. Se utilizó el software MetaboScape 2022 b para la identificación de los metabolitos presentes en cada muestra.

Finalmente se implementó el software R Studio 4.2.3 multivariado obteniendo como resultado un Análisis de Componentes Principales (PCA) y Heat Map (mapa de calor) de las muestras en conjunto.

3.3.1 Metabolitos encontrados en polaridad positiva

En el trabajo de identificación de metabolitos el acoplamiento de un detector de espectrometría de masas al sistema de separación cromatográfica es la herramienta que ayuda a resolver problemas de identificación y cuantificación de sustancias. Los detectores de masas por impacto electrónico cuando operan en modo scan brindan información espectral precisa sobre la identidad del producto; cuando operan en modo SIM (modo de selección de ión) producen sensibilidad con alta especificidad para el análisis cuantitativo. Para trabajar en la identificación de metabolitos, se puede realizar en modo iónico positivo, se forman moléculas protonadas y aductos con cationes. En modo negativo, se forma la especie desprotonada y la combinación con aniones o la captura electrónica (Santiago, 2014).

El enfoque del análisis metabolómico realizado es detectar el nivel de alteración metabólico en la orina de los niños participantes del estudio, ubicando moléculas de metabolitos clave que puedan indicar una alteración o daño en diferentes niveles por la presencia de los herbicidas detectados y a los que fueron expuestos. Para ello, la aplicación de dos estrategias clave del análisis masivo de los datos fueron necesarios: el análisis PCA y el análisis por mapa de calor (Heatmap).

3.3.1.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales (ACP), que se conoce en la literatura como Principal Component Analysis (PCA), es un método estadístico que se utiliza para reducir la dimensionalidad de la base de datos con la que se trabaja, se trata de simplificar la base de datos (García & Fuente, 2011).

El análisis de componentes principales (PCA) realizado en este estudio revela patrones interesantes en la agrupación de las muestras, como se muestra en la Figura 3.7. En la subfigura a), se destaca la formación de dos grupos distintos. El primero, ubicado en la parte superior derecha y marcado con un círculo rojo, agrupa la mayoría de las muestras. Estas muestras se caracterizan por presentar aductos típicos de herbicidas como el glifosato, 2,4-D y atrazina. Este agrupamiento sugiere

una similitud química o un origen común entre estas muestras, posiblemente indicando una exposición similar a estos herbicidas.

Por otro lado, en la parte inferior izquierda de la misma figura (círculo verde), se observa un segundo grupo compuesto por las muestras 7 y 8. De manera notable, solo la muestra 8 presenta aductos característicos de paraquat, lo que sugiere diferencias significativas en la composición química entre estas dos muestras, a pesar de estar agrupadas. Esto podría indicar que otros factores aparte de la presencia de paraquat están influyendo en su agrupamiento.

En la subfigura b), el análisis PCA revela una división similar en dos grupos (marcados con círculos azul y amarillo), basada esta vez en los metabolitos presentes en las muestras. Este patrón de agrupamiento sugiere que los metabolitos comunes en la orina se distribuyen de manera que reflejan la exposición a diferentes herbicidas. De forma destacada, algunos metabolitos son comunes entre las muestras, lo que podría indicar rutas metabólicas compartidas o exposiciones cruzadas a varios herbicidas.

Lo más relevante es la zona de intersección entre ambos grupos, donde las muestras indican la presencia simultánea de 2 o 3 herbicidas. Esto no solo demuestra la complejidad de las exposiciones a múltiples agentes químicos en las muestras analizadas, sino también resalta la utilidad del PCA para desentrañar estas complejas relaciones entre componentes químicos en muestras biológicas. La capacidad del PCA para identificar estos patrones subyacentes es crucial para comprender las interacciones entre diferentes herbicidas y su impacto metabólico.

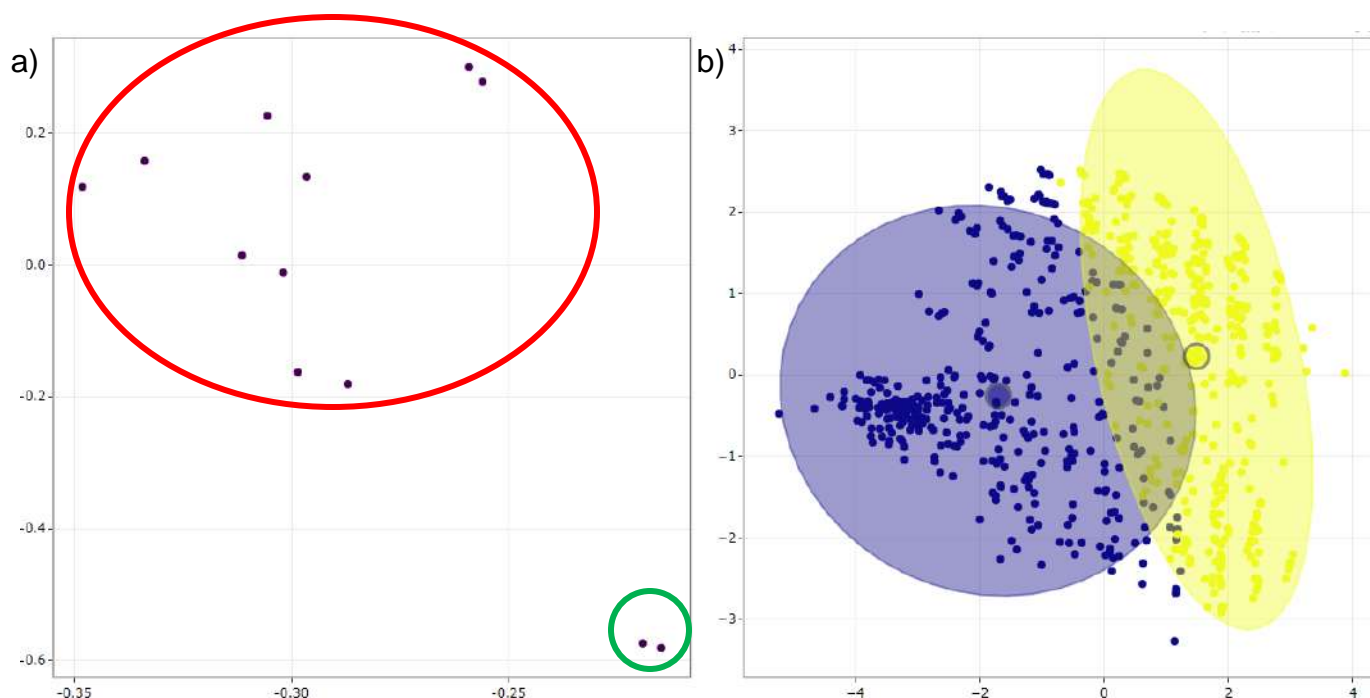


Figura 3.7: a) Análisis de componentes principales del metaboloma constitutivo de las muestras analizadas en polaridad positiva

b) Agrupación de metabolitos

3.3.1.2 Heat map

El heatmap o heat map, es una representación gráfica de datos, los cuales se representan por colores. Los mapas de calor se utilizan como una herramienta de visualización para datos metabolómicos, ahí la abundancia relativa de iones detectados en cada muestra se representa con intensidad de color (Rodrigues *et al.*, 2023).

El análisis mediante el heatmap de los datos metabolómicos, como se muestra en la Figura 3.8, proporciona una perspectiva reveladora sobre la presencia y concentración de diferentes metabolitos en las muestras de orina de niños menores de 15 años. Este método visual permite identificar patrones y concentraciones de metabolitos de manera intuitiva, donde el color amarillo indica una mayor intensidad, reflejando altas concentraciones de ciertos metabolitos.

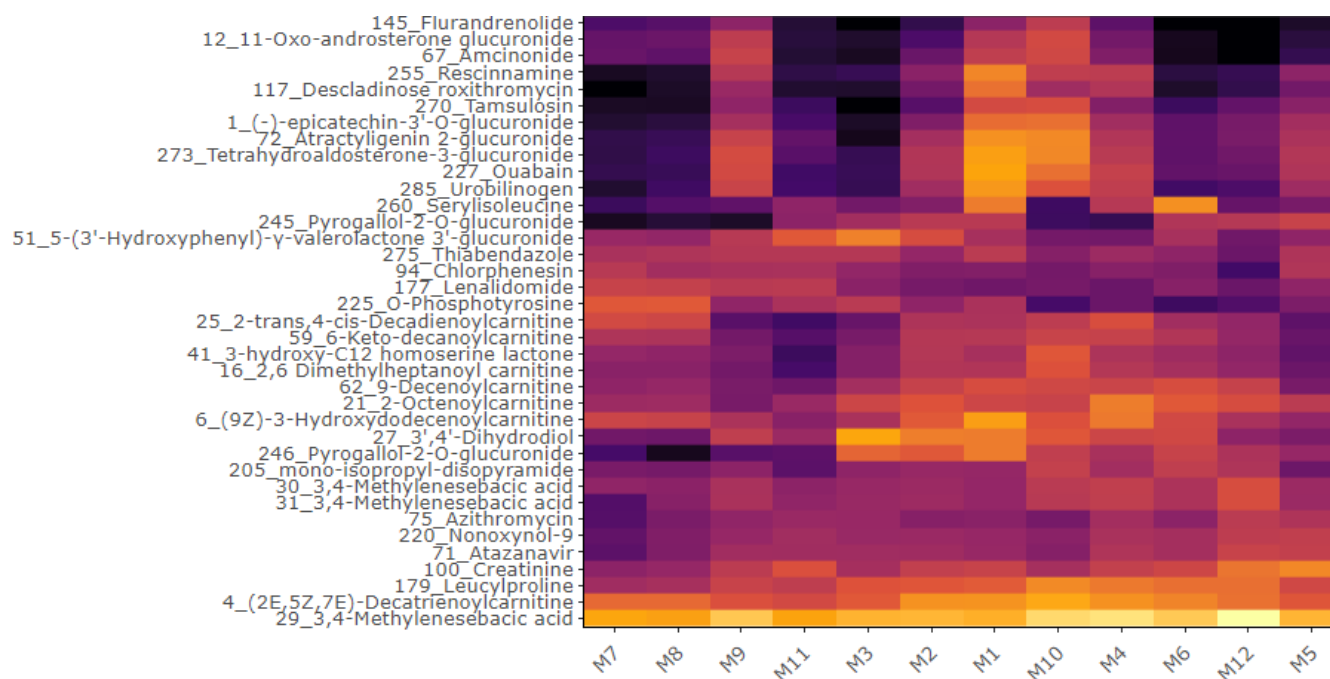


Figura 3.8: Heat map de todas las muestras

Nota: Para ver los heat maps completos escanear el código QR del anexo 2.

En el heat map se encontró la presencia de 800 metabolitos, de los cuales los 10 presentes en mayor concentración en la mayoría de las muestras se indican en la tabla 3.2 (MetaboScape, 2022).

Tabla 3.2: Metabolitos encontrados en polaridad positiva

Leucilprolina
3,4-dihidrodiol
(2E, 5Z, 7E) decatrienoil carnitina
(9Z)-3- hidroxidodecenoilcarnitina
Creatinina
Deferoxamina
Urobilinógeno
Ouabain
Serilisoleucina
O-fosfotirosina

La presencia y alta concentración de ciertos metabolitos, como se enumera en la tabla 3.2, tiene implicaciones significativas en el contexto del daño renal y metabólico en niños. Por ejemplo, la leucilprolina, 3,4-dihidrodiol, y varios derivados de carnitina, como el (2E, 5Z, 7E) decatrienoil carnitina y el (9Z)-3-hidroxidodecenoilcarnitina, podrían estar asociados con alteraciones metabólicas (Medellín, 2010). Estos compuestos están involucrados en rutas metabólicas críticas y su presencia elevada puede reflejar un desequilibrio en estas rutas, posiblemente debido a la exposición a herbicidas.

La creatinina, un marcador comúnmente utilizado para evaluar la función renal, se encuentra en concentraciones elevadas en varias muestras. Su presencia sugiere posibles efectos adversos sobre la función renal, especialmente preocupante en niños cuyo desarrollo aún no se ha completado. La presencia elevada de deferoxamina en las muestras de orina de los niños expuestos a herbicidas, como se reporta en el estudio, sugiere una posible relación entre la exposición a estos herbicidas y la bioacumulación de metales pesados. La deferoxamina es un agente quelante, utilizado comúnmente para tratar la sobrecarga de hierro en el cuerpo, y su presencia elevada puede ser un indicador de que el organismo está respondiendo a un exceso de metales pesados (Levey *et al.*, 1988)..

Los herbicidas mencionados en el estudio, como el glifosato, 2,4-D y atrazina, pueden estar involucrados de varias maneras en este proceso. Estos compuestos químicos pueden alterar la homeostasis normal de metales en el cuerpo de varias maneras (Pérez *et al.*, 2005):

1. **Alteración de la absorción y distribución de metales:** Algunos herbicidas pueden modificar la manera en que los metales son absorbidos y distribuidos en el cuerpo. Por ejemplo, pueden interactuar con los transportadores de metales en el intestino, aumentando la absorción de metales pesados del medio ambiente.
2. **Disrupción de la excreción de metales:** Los herbicidas pueden afectar los mecanismos de excreción de metales en los riñones, hígado u otros órganos excretores, llevando a una acumulación de metales en el cuerpo.

3. **Interacciones con proteínas de unión a metales:** Algunos herbicidas pueden alterar la afinidad o la cantidad de proteínas de unión a metales en el cuerpo, lo que puede llevar a un desequilibrio en la homeostasis de metales.
4. **Efectos en el metabolismo y la detoxificación:** Los herbicidas pueden alterar las vías metabólicas y los sistemas de detoxificación del cuerpo, lo que puede llevar a una acumulación de metales pesados debido a una disminución de la capacidad del cuerpo para procesar y eliminar estos elementos.

Dado que los niños del estudio aún están en desarrollo, su exposición a estos herbicidas y la consiguiente bioacumulación de metales pesados pueden tener implicaciones más graves. Los niños son más susceptibles a los efectos tóxicos de los metales pesados debido a su mayor tasa de absorción y menor capacidad para detoxificar y excretar estos compuestos. Además, la bioacumulación de metales pesados puede tener efectos a largo plazo en su desarrollo neurológico, crecimiento y salud general.

El urobilinógeno y la ouabaína son otros metabolitos de interés. El urobilinógeno está relacionado con la función hepática y su alteración puede ser un indicador de estrés hepático o disfunción. La ouabaína, un inhibidor conocido de la bomba de sodio-potasio, podría estar implicando alteraciones en el equilibrio electrolítico, lo que es crítico en el desarrollo y funcionamiento de los sistemas nervioso y muscular (Nakamura *et al.*, 2006).

La serilisleucina y la O-fosfotirosina son indicativos de procesos de fosforilación de proteínas y pueden reflejar cambios en la señalización celular. Estos cambios podrían estar relacionados con la exposición a herbicidas y sugieren alteraciones en las vías de señalización intracelular (Izquierdo *et al.*, 2014).

Los demás metabolitos mencionados en la tabla 3.2 no están directamente relacionados con el desarrollo específico de los riñones e hígado.

3.3.1.3 Espectros de masas

Un espectro de masas es una herramienta científica que muestra la distribución de las diferentes moléculas presentes en una muestra. Mide el peso de cada molécula para identificarlas. Esta técnica divide las moléculas en fragmentos más pequeños y mide su masa individual, creando un patrón único para cada sustancia. Es útil para identificar compuestos químicos, determinar su estructura y cuantificar la cantidad en una muestra (Zarrouk *et al.*, 2022).

En las siguientes figuras se presentan los espectros de masas de las muestras donde se encontró la presencia de los metabolitos mencionados en la sección anterior.

El aducto encontrado de leucilprolina en mayor proporción fue M (229.1499) en la muestra 10 (ver Figura 3.9).

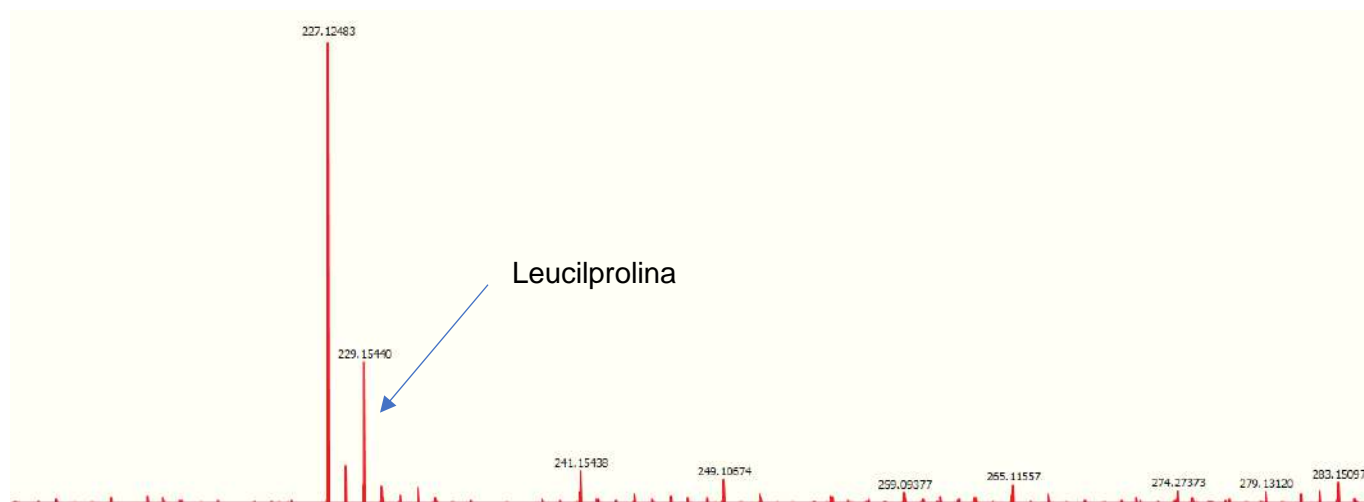


Figura 3.9: Espectro de masas de la muestra 10

El aducto encontrado de 3,4-dihidrodiol en mayor proporción fue M (287.0979) en la muestra 3 (ver Figura 3.10).

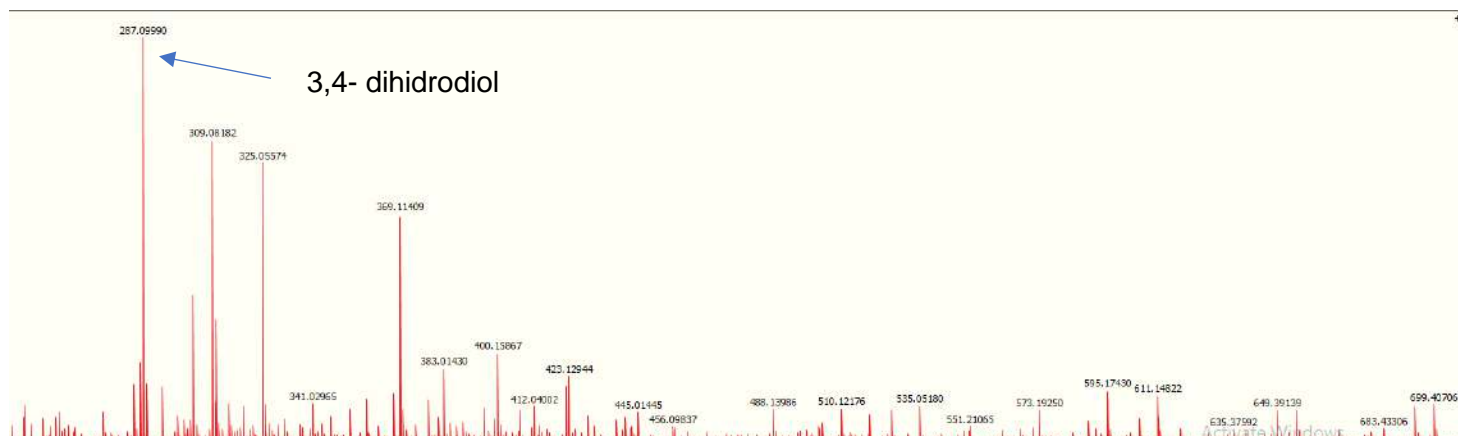


Figura 3.10: Espectro de masas de la muestra 3

En aducto encontrado de (2E,5Z,7E) decatrenoil carnitina en mayor proporción fue M (310.1967) en la muestra 2 (ver Figura 3.11).

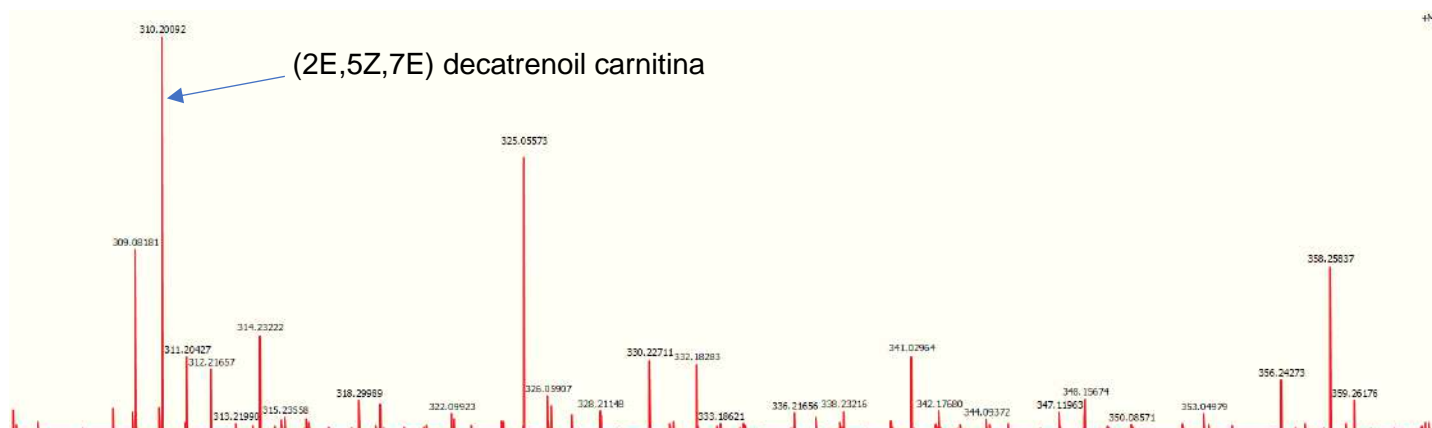


Figura 3.11: Espectro de masas de la muestra 2

El aducto encontrado de (9Z)-3-hidroxidodecenoilcarnitina en mayor proporción fue M (358.2542) en la muestra 1 (ver Figura 3.12).

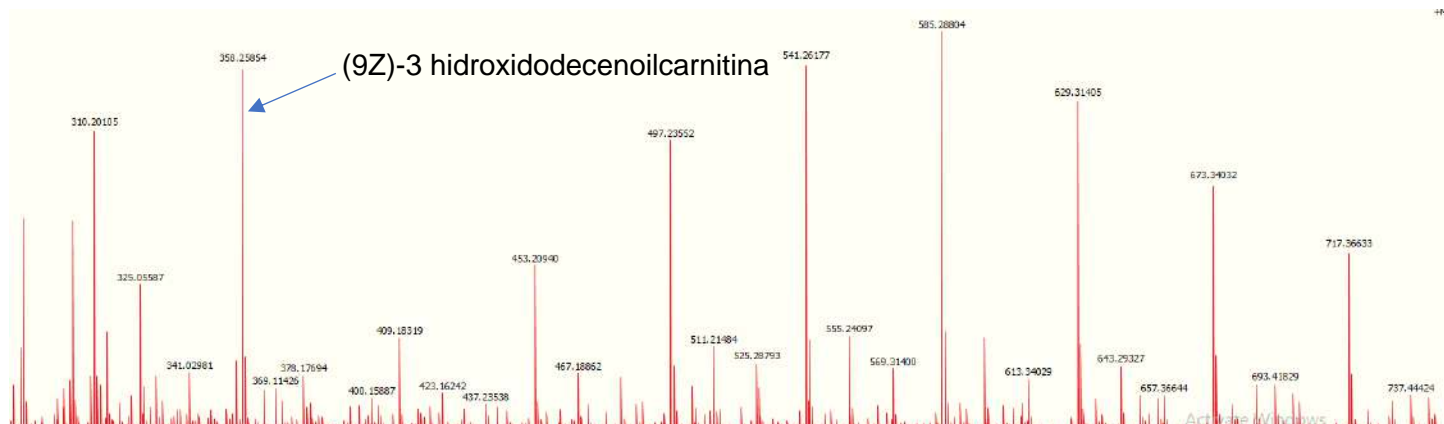


Figura 3.12: Espectro de masas de la muestra 1

El aducto encontrado de creatinina en mayor proporción fue M (114.0605) en la muestra 4 (ver Figura 3.13).

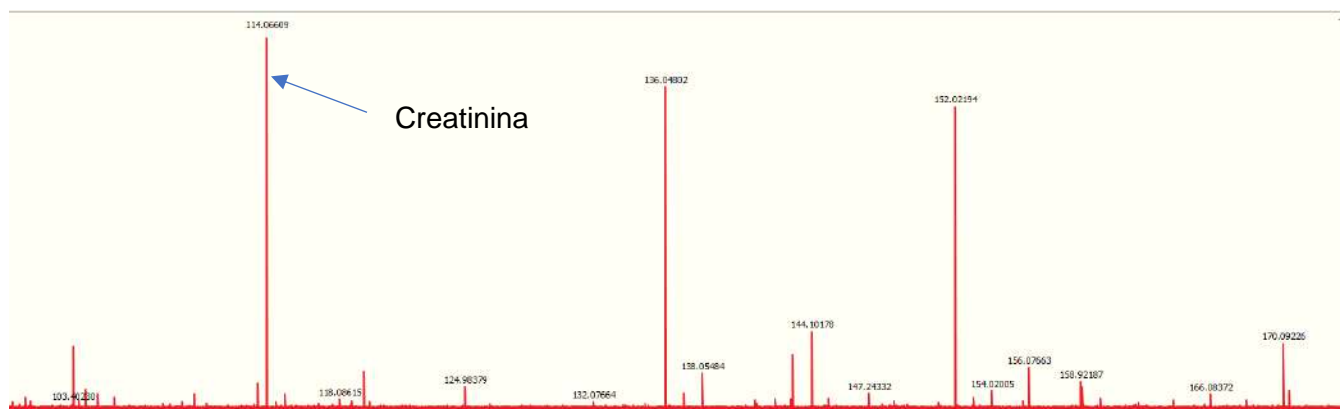


Figura 3.13: Espectro de masas de la muestra 4

El aducto encontrado de deferoxamina en mayor proporción fue M (561.3557) en la muestra 5 (ver Figura 3.14).

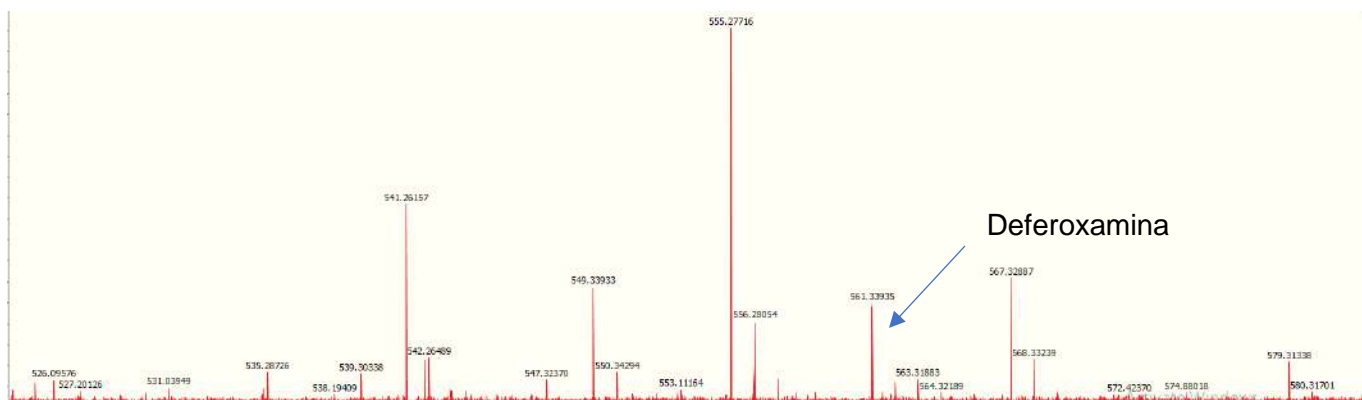


Figura 3.14: Espectro de masas de la muestra 5

El aducto encontrado de urobilinogeno en mayor proporción fue M+K (591.3130) en la muestra 10 (ver Figura 3.15).

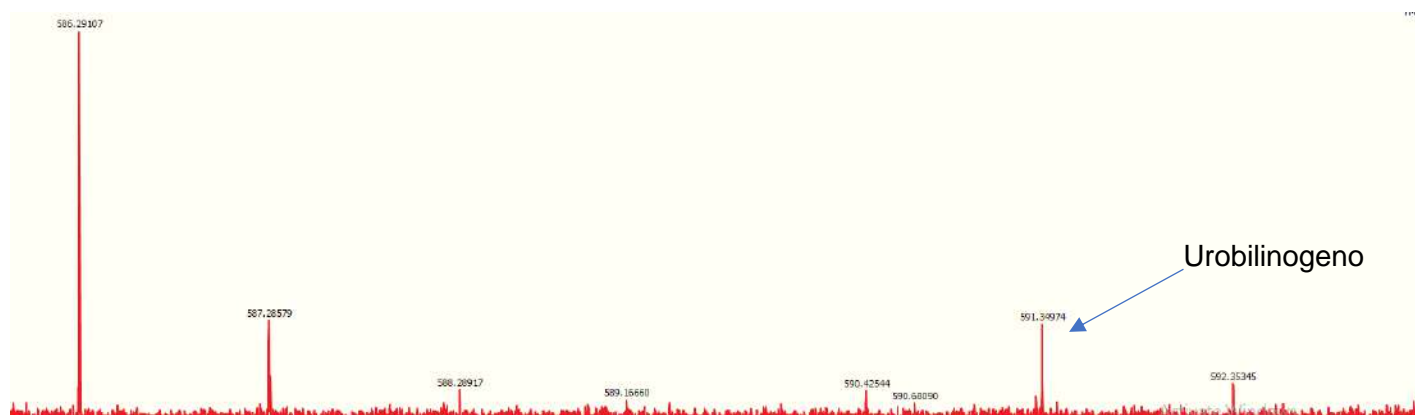


Figura 3.15: Espectro de masas de la muestra 10

El aducto encontrado de ouabain en mayor proporción fue M+K (585.2861) en la muestra 10 (ver Figura 3.16).

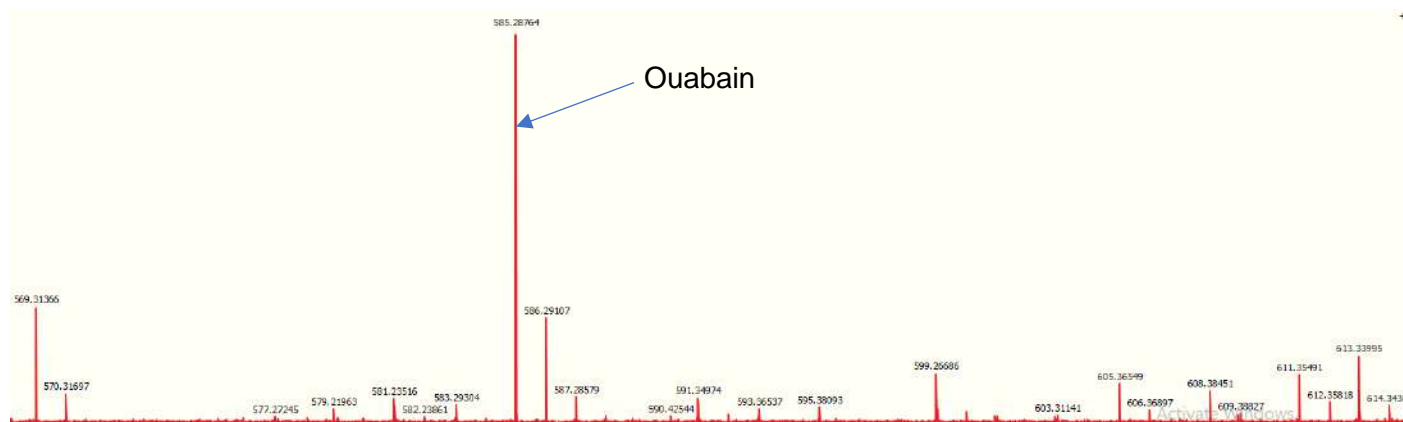


Figura 3.16: Espectro de masas de la muestra 10

El aducto encontrado de serilsoleucina en mayor proporción fue M+K (257.0898) en la muestra 1 (ver Figura 3.17).

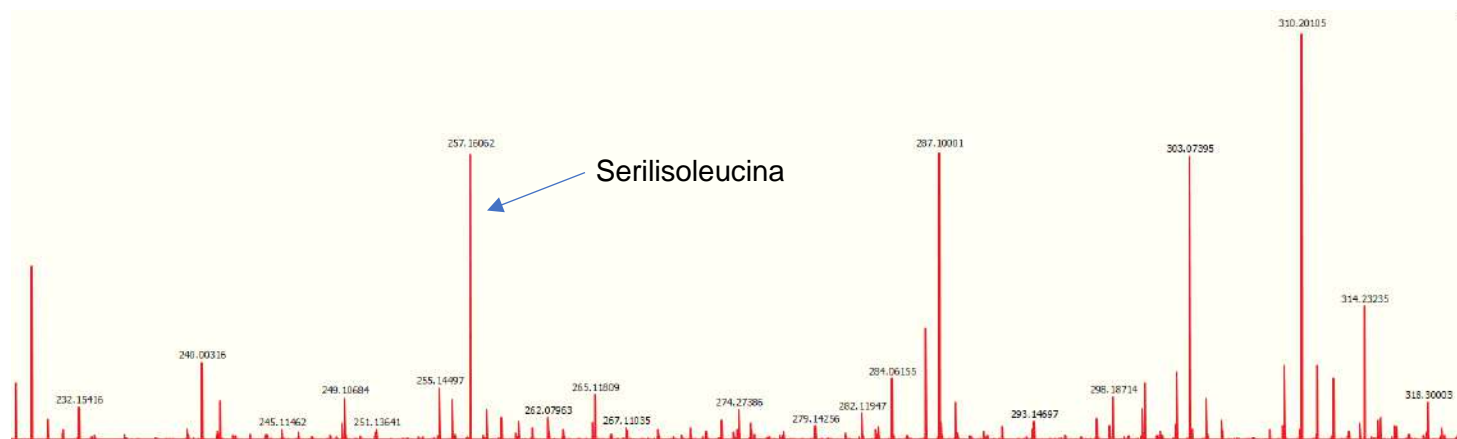


Figura 3.17: Espectro de masas de la muestra 1

El aducto encontrado de o-fosfotirosina en mayor proporción fue M+K (262.0428) en la muestra 3 (ver Figura 3.18).

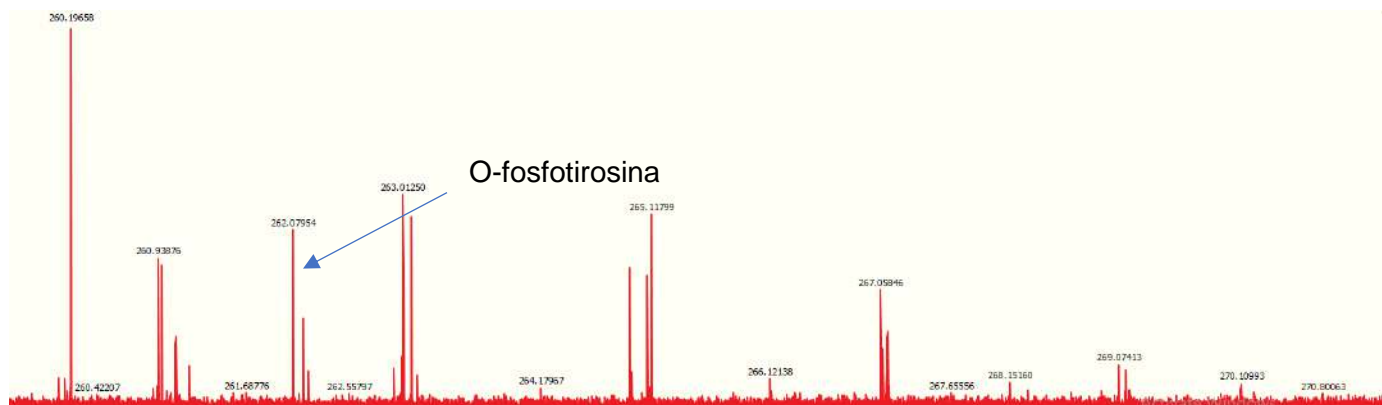


Figura 3.18: Espectro de masas de la muestra 3

3.3.2 Metabolitos encontrados en polaridad negativa

La identificación de metabolitos en polaridad negativa constituye un aspecto esencial en el análisis químico y bioquímico. Los metabolitos, en su esencia, son productos intermedios o finales del metabolismo celular, que abarcan una amplia gama de compuestos orgánicos generados por procesos enzimáticos. La identificación de estos metabolitos en polaridad negativa implica que los analitos poseen una carga negativa en su estructura molecular (Santiago, 2014). Este enfoque analítico se basa en la separación y detección de compuestos con esta carga mediante técnicas específicas, como la espectrometría de masas en modo de ionización negativa.

3.3.2.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Como se mencionó en el apartado 3.3.1.1 el Análisis de Componentes Principales es un método estadístico que ayuda a simplificar la base de datos con la que se trabaja. En la Figura 3.19, en la subfigura a) se puede observar que hay grupos dispersos, en el costado superior derecho de la figura se agruparon las muestras 6 y 10 (círculo morado) de las cuales solo la muestra 10 presenta aductos característicos de 2,4-D; en la parte inferior derecha de la figura se encuentra la

muestra 9 (círculo gris) la cuál no presentó ningún aducto característico de los herbicidas; al centro de la figura se agruparon las demás muestras faltantes, en las cuáles hay presencia de al menos un herbicida a excepción de la muestra 7.

En la subfigura b) se observa como los metabolitos presentes en las muestras forman dos grupos diferentes (círculo azul y círculo amarillo), lo que nos indica que los metabolitos más comunes presentes en la orina se agruparon de acuerdo con el herbicida que había en las muestras y hay algunos metabolitos comunes entre las muestras.

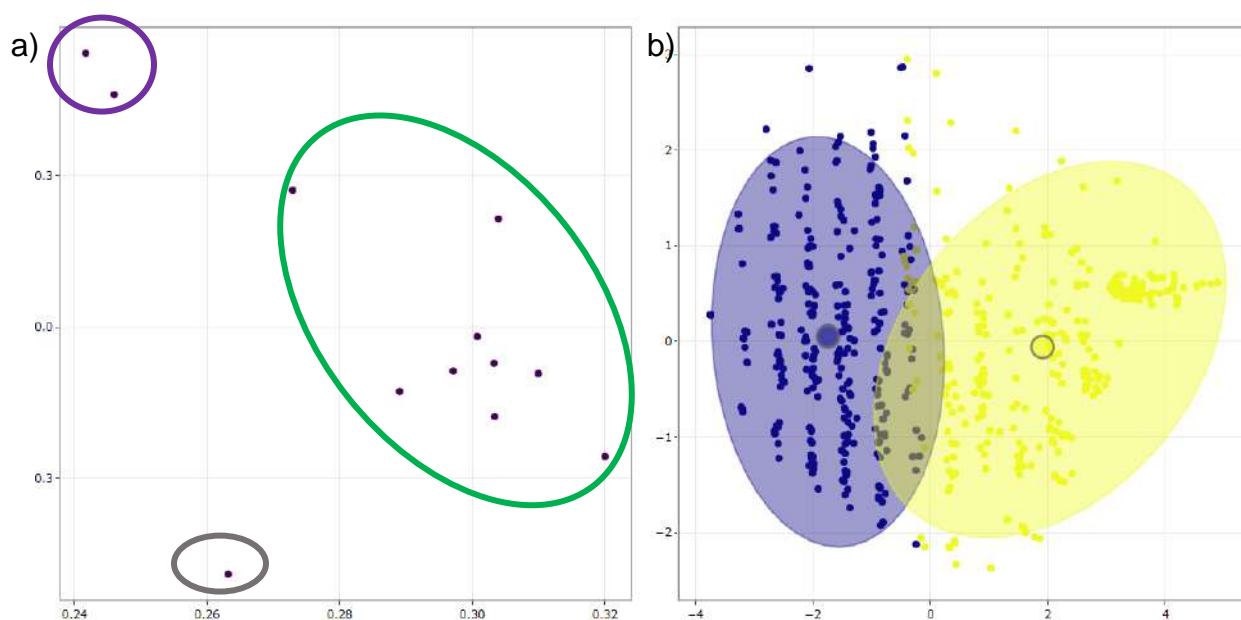


Figura 3.19: a) Análisis de componentes principales del metaboloma constitutivo de las muestras analizadas en polaridad negativa

b) Agrupación de metabolitos

3.3.2.2 Heat map

El análisis de agrupación jerárquica con los datos mediante el diagrama de calor se presenta en la Figura 3.20, que revela los metabolitos presentes en cada una de las muestras, mostrándose según la intensidad en la que están presentes, siendo el color negro de menor intensidad y va aumentando conforme se va aclarando el color, siendo el color amarillo el de mayor intensidad, así se identifican los grupos distintivos.

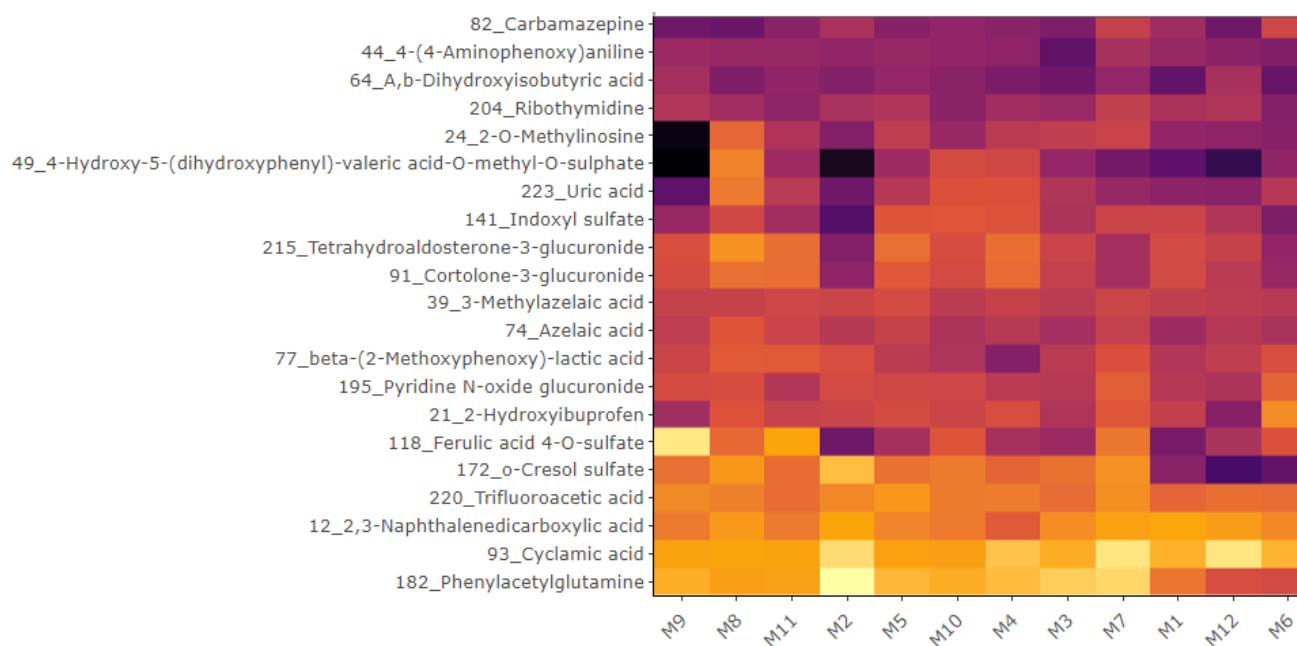


Figura 3.20: Heat map de todas las muestras

Nota: Para ver los heat maps completos escanear el código QR del anexo 2.

En el heat map se encontró la presencia de 800 metabolitos, de los cuales los 10 presentes en mayor concentración en la mayoría de las muestras se indican en la tabla 3.3 (MetaboScape, 2022).

Tabla 3.3: Metabolitos encontrados en polaridad positiva

Fenilacetilglutamina
Ácido ciclámico
Sulfato de ácido ferúlico 4-O
Sulfato de O-cresol
2-hidroxiibiprofeno
Ácido úrico
2-O-metilinosina
Tetrahidroaldosterona-3-glucurónido
Cortolona-3-glucurónido
Ácido azelaíco

La identificación de varios metabolitos en polaridad negativa en las muestras de orina de niños expuestos a herbicidas ofrece una visión importante sobre las posibles implicaciones metabólicas y de salud. Cada uno de estos metabolitos puede tener una relación significativa con la exposición a herbicidas y sus efectos en el organismo, particularmente en niños cuyo desarrollo aún no está completo.

La fenilacetilglutamina es un metabolito relacionado con la función gastrointestinal y el metabolismo de proteínas. Su presencia elevada podría indicar alteraciones en el metabolismo proteico o en la microbiota intestinal, posiblemente debido a la exposición a herbicidas (Almanza, 2017).

El ácido ciclámico es conocido como un edulcorante artificial, su presencia elevada podría reflejar cambios en la dieta o en la absorción de nutrientes inducidos por la exposición a herbicidas, afectando la función gastrointestinal (Bueno *et al.*, 2019).

El sulfato de ácido ferúlico 4-O y el sulfato de O-cresol son compuestos que están relacionados con el metabolismo de los fenoles y pueden indicar estrés oxidativo o alteraciones en la capacidad del cuerpo para procesar compuestos fenólicos, lo cual puede ser una respuesta a la exposición a herbicidas (Cabrera, 2005).

El 2-hidroxiibuprofeno es un metabolito del ibuprofeno, y su presencia elevada podría indicar una mayor utilización de medicamentos antiinflamatorios, posiblemente como respuesta a afecciones inflamatorias inducidas por la exposición a herbicidas (Rojas, 2023).

El ácido úrico es un producto del metabolismo de las purinas, su nivel elevado puede estar asociado con el estrés oxidativo y la inflamación, posiblemente exacerbados por la exposición a herbicidas (Goicoechea *et al.*, 2012).

El 2-O-metilinosina es un metabolito implicado en el procesamiento del ARN y su elevación puede reflejar alteraciones en la expresión genética o en el metabolismo del ARN, posiblemente como respuesta a la exposición a herbicidas (Maciel & Pérez, 2000).

El tetrahydroaldosterona-3-glucurónido y el cortolona-3-glucurónido son metabolitos relacionados con hormonas esteroides. Su presencia puede indicar alteraciones en el equilibrio hormonal o en el metabolismo de esteroides, lo que podría estar influenciado por la exposición a herbicidas (Liñán, 1977).

El ácido azelaico es conocido por sus propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, su aumento podría reflejar una respuesta del organismo a procesos inflamatorios o alteraciones en la microbiota cutánea, posiblemente relacionadas con la exposición a herbicidas (Nazzaro, 1987).

Los demás metabolitos mencionados en la tabla 3.3 no están directamente relacionados con el desarrollo específico de los riñones e hígado, o su importancia en relación con estos órganos no es tan destacada.

A las muestras se le agrego una gota de solución de ácido fórmico al 1% y tanto el PCA obtenido como el heat map se comportaron de manera similar a la polaridad negativa.

3.3.2.3 Espectros de masas

Como se mencionó en el apartado 3.3.1.3 el espectro de masas es útil para identificar compuestos químicos, determinar su estructura y cuantificar la cantidad en una muestra.

En las siguientes figuras se presentan los espectros de masas de las muestras donde se encontró la presencia de los metabolitos mencionados en la sección anterior.

El aducto encontrado de fenilacetilglutamina en mayor proporción fue M-H (263.1026) en la muestra 2 (ver Figura 3.21).

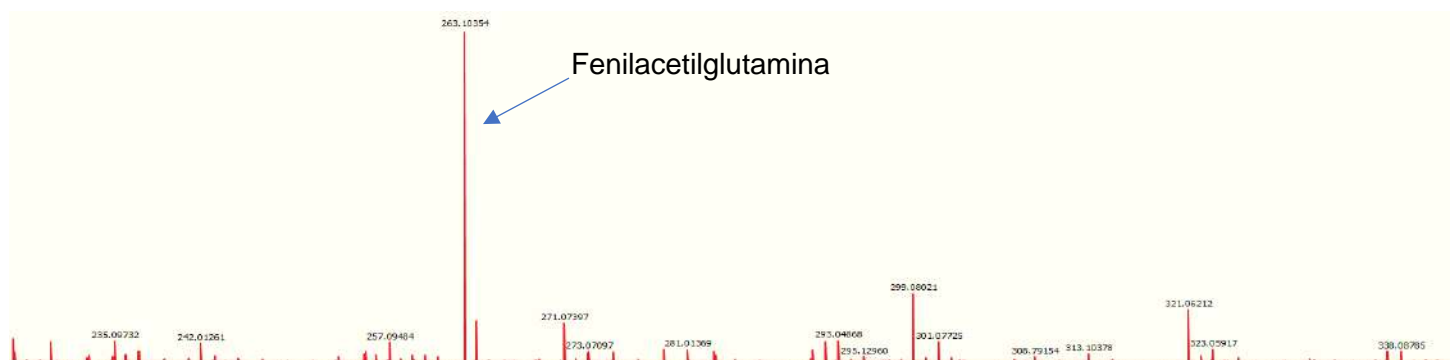


Figura 3.21: Espectro de masas de la muestra 2

El aducto encontrado del ácido ciclámico en mayor proporción fue M-H (179.0559) en la muestra 12 (ver Figura 3.22).



Figura 3.22: Espectro de masas de la muestra 12

El aducto encontrado del sulfato de ácido ferúlico 4-o en mayor proporción fue M-H (273.0063) en la muestra 9 (ver Figura 3.23).

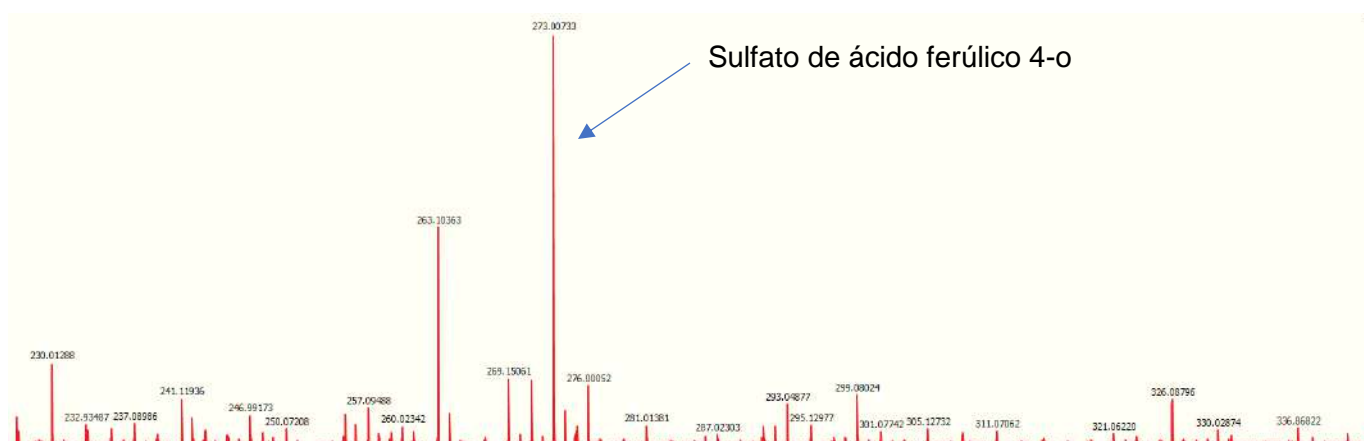


Figura 3.23: Espectro de masas de la muestra 9

El aducto encontrado del sulfato de o-cresol en mayor proporción fue M-H (187.0059) en la muestra 7 (ver Figura 3.24).



Figura 3.24: Espectro de masas de la muestra 7

El aducto encontrado de 2-hidroxibiprofeno en mayor proporción fue M-H (221.1172) en la muestra 6 (ver Figura 3.25).

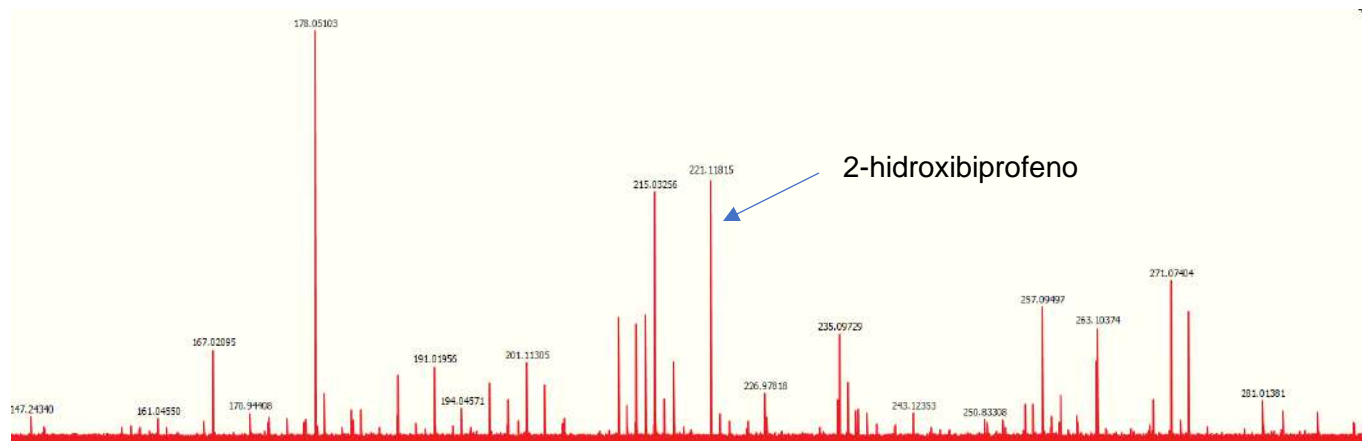


Figura 3.25: Espectro de masas de la muestra 6

El aducto encontrado del ácido úrico en mayor proporción fue M+Cl (202.9966) en la muestra 8 (ver Figura 3.26).

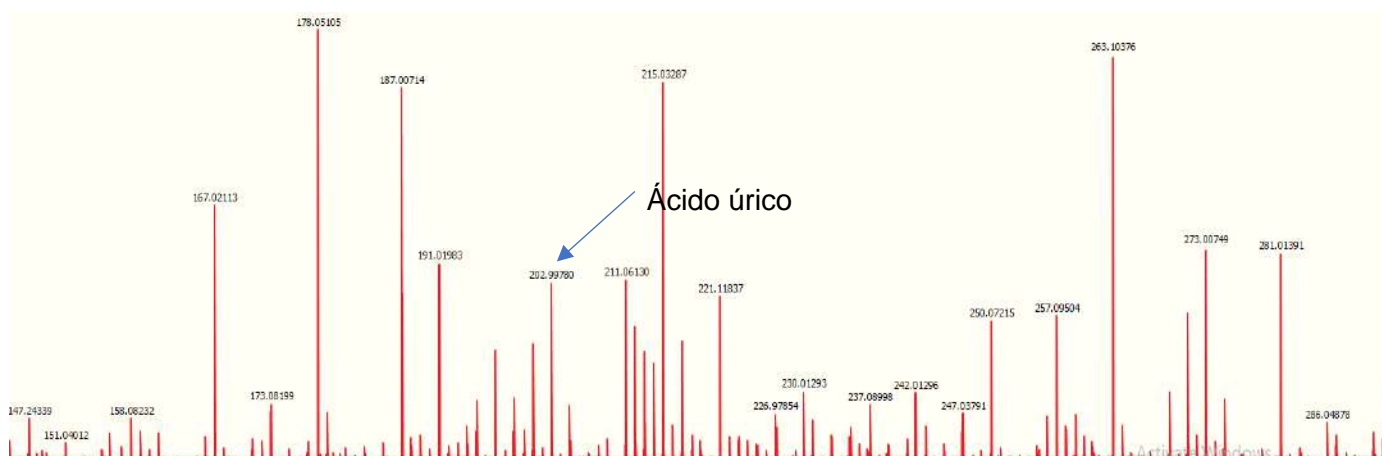


Figura 3.26: Espectro de masas de la muestra 8

El aducto encontrado de 2-o-metilinosina en mayor proporción fue M-H (281.0880) en la muestra 8 (ver Figura 3.27).

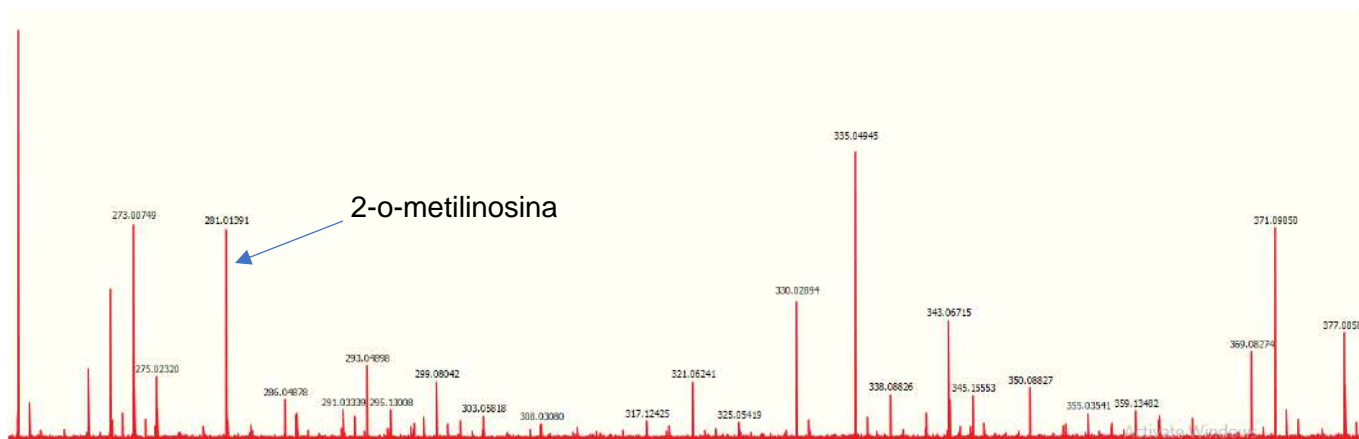


Figura 3.27: Espectro de masas de la muestra 8

El aducto encontrado de tetrahydroaldosterona-3-glucurónico en mayor proporción fue M-H (539.2486) en la muestra 9 (ver Figura 3.28).

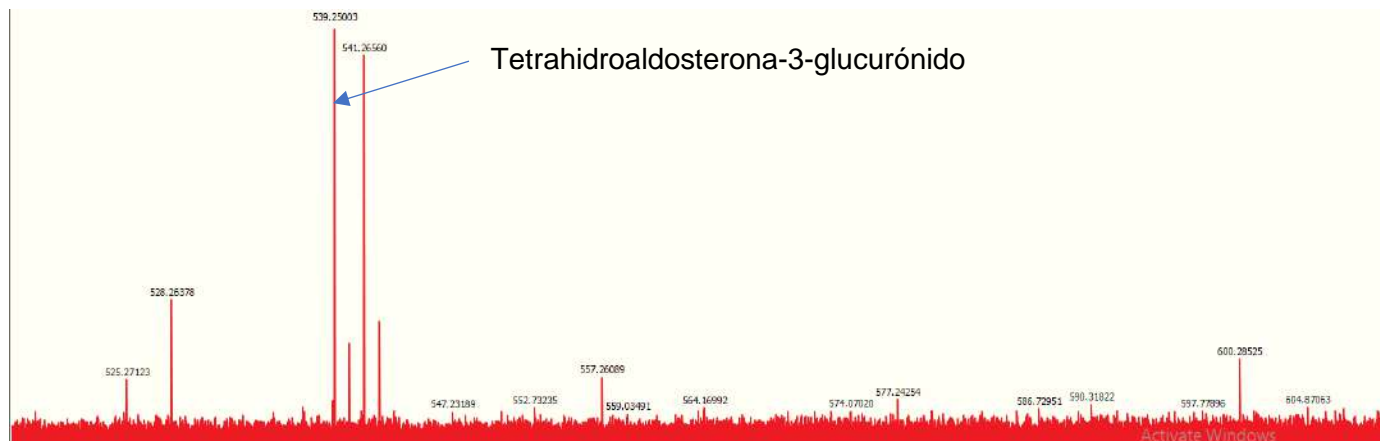


Figura 3.28: Espectro de masas de la muestra 9

El aducto encontrado de cortolona-3-glucurónico en mayor proporción fue M-H (541.2643) en la muestra 5 (ver Figura 3.29).



Figura 3.29: Espectro de masas de la muestra 5

El aducto encontrado del ácido azelaico en mayor proporción fue M-H (187.0964) en la muestra 8 (ver Figura 3.30).

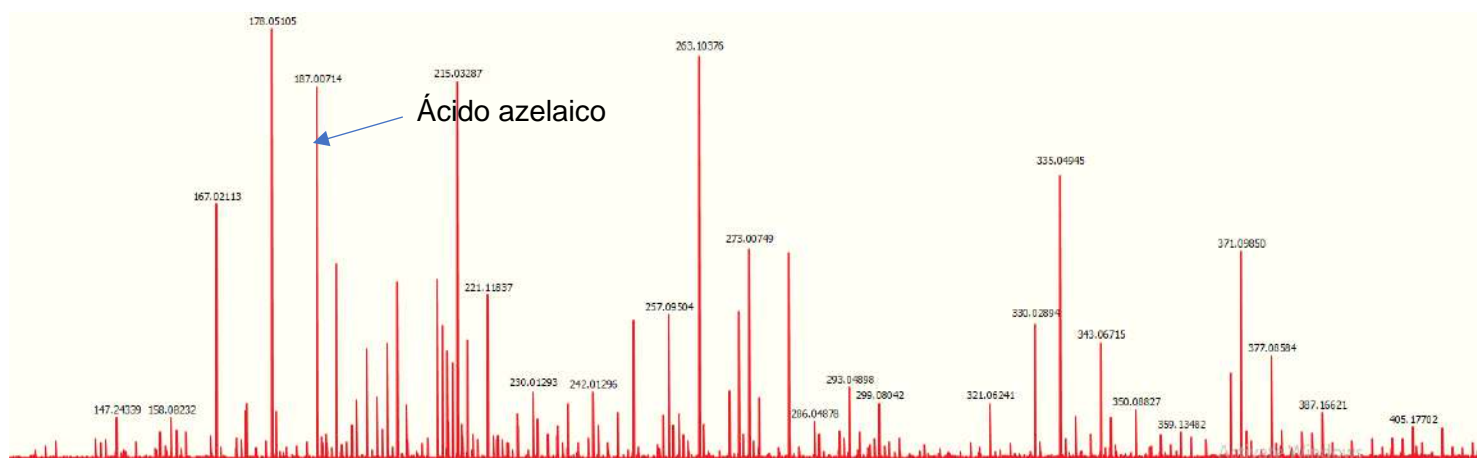


Figura 3.30: Espectro de masas de la muestra 8

3.4 Discusión de resultados

En referencia a investigaciones previas realizadas por la Universidad de Guadalajara (UDG) en Jalisco en 2019 y en Calvillo, Aguascalientes, en 2015, donde se encontraron pruebas contundentes de que los niños de esas comunidades están expuestos a pesticidas cancerígenos, al encontrar residuos de estas sustancias en su orina. Estos hallazgos reflejan una tendencia preocupante y consistente en la identificación de herbicidas en diversas regiones de México, lo que subraya la necesidad de acciones concretas para abordar y mitigar los riesgos para la salud asociados con la exposición a estos productos químicos en el ámbito agrícola y urbano (INFOBAE, 2019; Mendoza *et al.*, 2015).

De las 12 muestras analizadas, en 9 de ellas se identificaron plaguicidas en las siguientes proporciones: 25% glifosato, 58.33% 2,4-D, 33.33% atrazina y 8.33% paraquat, es importante destacar que en algunas muestras se identificó la presencia de más de un herbicida. Estas cifras sientan las bases para una política pública en el uso de productos químicos en la agricultura y la salud infantil.

Al ser analizadas por HPLC se puede cuantificar la cantidad de plaguicida en las muestras, se encontraron en un rango de las siguientes concentraciones:

- Atrazina: 2 µg/mL - 8 µg/mL
- 2,4-D: 7 µg/mL - 51 µg/mL
- Glifosato: 4 µg/mL – 18 µg/mL
- Paraquat: 0.348 µg/mL
- Mesotrione: No detectada.

El herbicida mesotrione no se detectó ya que es un compuesto de especialidad debido a que se aplica en las empresas semilleras y en los alrededores de Jiquipilco no se encuentra ninguna.

Por otro lado, la atrazina se detectó en mayor proporción ya que es un herbicida pre-emergente y se aplica varias veces al año para evitar el crecimiento de malas hierbas en los cultivos antes y después de la época de lluvias.

La presencia de estos herbicidas se confirmó mediante el espectrómetro de masas (MRMS) al encontrar los aductos característicos de cada plaguicida en la firma isotópica de las muestras ensayadas. Los resultados encontrados en este biomonitorio son una advertencia de que los habitantes de las zonas urbanas y agrícolas están expuestos a riesgos para la salud por la exposición a los herbicidas, que puede ser por el trabajo, la alimentación, el contacto con la atmósfera, el hogar o el jardín.

Es importante destacar que las concentraciones detectadas presentaron variabilidad significativa. Para el herbicida paraquat, se cuantificó la menor concentración, registrando 0.348 µg/mL, mientras que la concentración más elevada corresponde al 2,4-D, con un valor de 51 µg/mL. Esta información es especialmente relevante cuando se compara con los límites máximos permisibles (LMP) establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 para el agua potable en México.

Es preciso señalar que la NOM-127-SSA1-1994 establece un límite máximo permisible (LMP) para algunos herbicidas, como la atrazina, con un valor de 0.002 mg/L (equivalente a 2 ppb). En este estudio, se encontraron concentraciones de atrazina en las muestras que oscilaron entre 2 µg/mL y 8 µg/mL, superando significativamente el valor permitido para el agua potable de acuerdo con la normativa.

Este cambio de escala es crucial en la evaluación de contaminantes y su impacto en la salud humana y el medio ambiente. Cuando se pasa de partes por billón (ppb) a partes por millón (ppm), se habla de concentraciones más altas, lo que sugiere un mayor nivel de presencia de ciertos compuestos en un volumen específico de muestra. Este aumento en la concentración puede tener consecuencias considerables, especialmente cuando se trata de sustancias tóxicas.

Con los heat maps se encontró la presencia de 800 metabolitos en ambas polaridades, de los cuales se mencionaron los encontrados con una mayor concentración en la mayoría de las muestras. De estos metabolitos solo la creatinina, el urobilinógeno y el ácido úrico al presentarse en altas concentraciones en el organismo ocasionan daños en los riñones y el hígado.

Las comunidades suburbanas y rurales desempeñan un papel fundamental en la producción agrícola, siendo una pieza clave en la seguridad alimentaria. Sin embargo, la supervisión y regulación de sus prácticas agrícolas a menudo son limitadas o insuficientes. Esto puede llevar a un uso indiscriminado de herbicidas, aumentando los riesgos de exposición a sustancias químicas nocivas en estas áreas.

La falta de supervisión puede resultar en un manejo inadecuado de los herbicidas, con aplicaciones excesivas o indebidas que no solo afectan la salud humana, sino también el entorno ambiental. Estos productos químicos pueden filtrarse en los suelos, fuentes de agua cercanas y el aire, impactando la biodiversidad y la salud de las comunidades circundantes. Este trabajo revela una exposición, hasta hoy poca estudiada, en el Estado de México.

CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES

El método cuantitativo desarrollado para la identificación de herbicidas mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) demostró eficacia en la identificación de cuatro tipos distintos de herbicidas en las muestras analizadas. De las doce muestras estudiadas, fue posible identificar la presencia de cuatro herbicidas en nueve muestras, los cuales fueron: atrazina, 2,4-D, glifosato y paraquat.

La optimización del método mediante un espectrómetro de masas de ultra alta resolución (MRMS) permitió confirmar la presencia de estos herbicidas al observar los aductos principales en la firma isotópica de cada muestra y comparar esta firma con la firma de los puntos principales de la curva de calibración, para poder observar el cambio de intensidad con el que se presentó cada aducto. Revelando que estos herbicidas se utilizan en la zona agrícola de Jiquipilco, Estado de México.

El glifosato posee una estructura química compleja, tiene cuatro grupos altamente polares, ello entorpece el análisis por métodos convencionales, de ahí la importancia de la espectrometría de masas de alta resolución, técnica que ofrece resultados confiables en poco tiempo, cuya limitación son las inversiones de equipamiento y recursos humanos especializados.

Una hipótesis que deriva de este trabajo es que toda la población está expuesta a los herbicidas y sus efectos en la salud humana. Además, estas comunidades, debido a su ubicación alejada o a la carencia de recursos, a menudo enfrentan dificultades en el acceso a los servicios de salud pública. Esto los deja vulnerables ante posibles efectos adversos derivados de la exposición a sustancias tóxicas, ya que pueden carecer de atención médica oportuna y de programas de monitoreo de la salud específicos para evaluar los riesgos asociados con la exposición a herbicidas.

Este trabajo revela la evidencia de que, en Jiquipilco, Estado de México existe un problema de salud pública asociado a residuos de herbicidas. Se documenta una situación en la salud de los niños que debe ser atendida.

Se buscó en la normatividad nacional e internacional los límites máximos permisibles de estos herbicidas en el cuerpo humano; sin embargo, la normatividad

encontrada está orientada a la residualidad de herbicidas en los principales alimentos de consumo, por ello es importante realizar una caracterización para identificar el grado de contaminación presente en los niños y adultos en las diferentes zonas agrícolas del país.

Este método permitiría realizar dicha caracterización de manera rápida y confiable ya que la muestra requiere un tratamiento mínimo y el análisis es directo, realizando una identificación y cuantificación de estos herbicidas presentes en la orina. Con el propósito de colaborar a garantizar la salud pública, la ESIQIE-IPN con su equipo de espectrometría de masas de alta resolución ofrece resultados más fiables.

Los resultados del espectrómetro de masas de alta resolución revelan su potencial aplicación en el campo médico y de seguridad, permite realizar análisis toxicológicos y crear una corriente de opinión para mejorar las prácticas agrícolas.

La agricultura mexicana debe orientarse a producir alimentos sanos, libres de herbicidas, por tal motivo se deben desarrollar estrategias para la biorremediación de los suelos agrícolas, así como fortalecer el manejo de plagas y enfermedades.

Este biomonitoreo realizado en la Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas sienta las bases para una línea de investigación, para trabajar en medidas alternativas del uso de herbicidas.

CAPÍTULO V: REFERENCIAS

- Almanza, E. (2017). Efecto de un patrón de alimentación mediterránea sobre los perfiles metabolómicos asociados a salud metabólica y microbiota intestinal. Estudios de biomarcadores mediante una aproximación metabolómica no dirigida por resonancia magnética nuclear. <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/118367>
- Arellano, O., & Osten, J. (2016). LA HUELLA DE LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO. 39.
- Ascherio, A., Chen, H., Weisskopf, M. G., O'Reilly, E., McCullough, M. L., Calle, E. E., Schwarzschild, M. A., & Thun, M. J. (2006). Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 60(2), 197–203. <https://doi.org/10.1002/ana.20904>
- Ávila, A., Ruíz, G., & Gavilán, A. (2019). Estudios sobre el uso de plaguicidas en México compilación 1980-2018. En *Estudio sobre el uso de plaguicidas en México* (Vol. 1, p. 54). chrome-extension://efaidnbmnnhttps://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/728079/141_2022_Estudios_plaguicidas_Mexico_1980-2018.pdf
- Baez, M. E., & Zincker, J. (1999). PARAMETROS DE CALIDAD ANALITICA DE UN METODO DE DETERMINACION MULTIRESIDUOS DE PLAGUICIDAS POR HPLC-DAD. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 44(3), 357–366. <https://doi.org/10.4067/S0366-16441999000300013>
- Barron, A. (2007). Historia de la cromatografía de gases | QuimiNet. Quimi Net. <https://www.quiminet.com/articulos/historia-de-la-cromatografia-de-gases-20851.htm>
- Bedmar, F. (2011). ¿Qué son los plaguicidas? 21(122), 27.
- Bedoya, S., García, A., Londoño, Á. L., & Restrepo, B. (2014). Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados en suero sanguíneo de trabajadores de cultivo de Café y plátano en el departamento del quindío por gc-µecd. *Revista Colombiana de Química*, 43(3), 11–16.
- Behniwal, P. K., & She, J. (2017). Development of HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of metabolites of organophosphate pesticides, synthetic pyrethroids, herbicides and DEET in human urine. *International*

- Journal of Environmental Analytical Chemistry, 97(6), 548–562.
<https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1325881>
- Benítez, P., Miranda, L., Molina, Y., & Sánchez, B. (2015). RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN LA CÁSCARA E INTERIOR. 27, 10.
- Botías, C., & Sánchez, F. (2018). Papel de los plaguicidas en la pérdida de polinizadores: Ecosistemas, 27(2), Article 2.
<https://doi.org/10.7818/ECOS.1314>
- Botitsi, H. V., Garbis, S. D., Economou, A., & Tsipi, D. F. (2011). Current mass spectrometry strategies for the analysis of pesticides and their metabolites in food and water matrices. Mass Spectrometry Reviews, 30(5), 907–939.
<https://doi.org/10.1002/mas.20307>
- Brühl, C. A., & Zaller, J. G. (2021). Indirect herbicide effects on biodiversity, ecosystem functions, and interactions with global changes. En R. Mesnage & J. G. Zaller (Eds.), Herbicides (pp. 231–272). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823674-1.00005-5>
- Bueno, N., Vázquez, R., Abreu y Abreu, A. T., Almeda-Valdés, P., Barajas-Nava, L. A., Carmona-Sánchez, R. I., Chávez-Sáenz, J., Consuelo-Sánchez, A., Espinosa-Flores, A. J., Hernández-Rosiles, V., Hernández-Vez, G., Icaza-Chávez, M. E., Noble-Lugo, A., Romo-Romo, A., Ruiz-Margaín, A., Valdovinos-Díaz, M. A., & Zárate-Mondragón, F. E. (2019). Revisión de la evidencia científica y opinión técnica sobre el consumo de edulcorantes no calóricos en enfermedades gastrointestinales. Revista de Gastroenterología de México, 84(4), 492–510. <https://doi.org/10.1016/j.rgm.2019.08.001>
- Byker, H. P., Soltani, N., Nissen, S. J., Gaines, T. A., Westra, P. E., Martin, S. L., Tardif, F. J., Robinson, D. E., Lawton, M. B., & Sikkema, P. H. (2022). Mechanisms of Glyphosate Resistance in Common Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*): Patterns of Absorption, Translocation, and Metabolism. Weed Science, 70(2), 151–159. <https://doi.org/10.1017/wsc.2022.2>
- Cabrera, C. J. B. (2005). Aislamiento, estudio, actividad biológica y síntesis de metabolitos de origen vegetal [Ph.D.].

<https://www.proquest.com/docview/2619224504/abstract/62B9AF5FD2984F80PQ/1>

- Camacho, M., Luzardo, O. P., Boada, L. D., López, L. F., Medina, M., Zumbado, M., & Orós, J. (2013). Potential adverse health effects of persistent organic pollutants on sea turtles: Evidences from a cross-sectional study on Cape Verde loggerhead sea turtles. *Science of The Total Environment*, 458–460, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.043>
- Castagnino, J. (2000). *Electroforesis capilar*. 33(3), 21.
- Ccancapa, A., Masiá, A., Navarro, A., Picó, Y., & Barceló, D. (2016). Pesticides in the Ebro River basin: Occurrence and risk assessment. *Environmental Pollution*, 211, 414–424. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.059>
- Chang, P.-L., Hsieh, M.-M., & Chiu, T.-C. (2016). Recent Advances in the Determination of Pesticides in Environmental Samples by Capillary Electrophoresis. 8/04/2016, 20.
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2019). Registro Sanitario de Plaguicidas y Nutrientes Vegetales. gob.mx. <http://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/registro-sanitario-de-plaguicidas-y-nutrientes-vegetales>
- Crocoli, L. C., Ramires, N., & Moura, S. (2022). Determination of Pesticide Residues in Grapes Consumed in Natura and for Juice and Wine Production by High-Performance Liquid Chromatography with High Resolution Mass Spectrometry (HPLC-HRMS). *Analytical Letters*, 56(9), 1454–1464. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2134413>
- Diario Oficial de la Federación. (2020). Decreto por el que se establecen las acciones que deberán realizar las dependencias y entidades que integran la Administración Pública Federal, en el ámbito de sus competencias, para sustituir gradualmente el uso, adquisición, distribución, promoción e importación de la sustancia química denominada glifosato y de los agroquímicos utilizados en nuestro país que lo contienen como ingrediente activo,.

https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609365&fecha=31/12/2020#gsc.tab=0

- Díaz, E. S., Rosa, A. de J. C. la, & Kasten, F. L. (2019). Urinary Pesticide Levels in Children and Adolescents Residing in Two Agricultural Communities in Mexico. 8. <https://doi.org/10.3390/ijerph16040562>
- Díaz, J., Barraza, A., Yañez, L., & Hernández, L. (2021). Plaguicidas en alimentos: Riesgo a la salud y marco regulatorio en Veracruz, México. *Salud Pública de México*, 63(4), Article 4. <https://doi.org/10.21149/12297>
- Disner, G. R., Falcão, M. A. P., Andrade-Barros, A. I., Leite dos Santos, N. V., Soares, A. B. S., Marcolino-Souza, M., Gomes, K. S., Lima, C., & Lopes-Ferreira, M. (2021). The Toxic Effects of Glyphosate, Chlorpyrifos, Abamectin, and 2,4-D on Animal Models: A Systematic Review of Brazilian Studies. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 17(3), 507–520. <https://doi.org/10.1002/ieam.4353>
- Enríquez, E. (2004). Catalogo oficial de plaguicidas (p. 493). Comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias toxicas. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PP03/catalogo.pdf>
- Erngren, I., Haglöf, J., Engskog, M. K. R., Nestor, M., Hedeland, M., Arvidsson, T., & Pettersson, C. (2019). Adduct formation in electrospray ionisation-mass spectrometry with hydrophilic interaction liquid chromatography is strongly affected by the inorganic ion concentration of the samples. *Journal of Chromatography A*, 1600, 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.049>
- FAO. (2011). FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/RP>
- Ferreira, C., Duarte, S. C., Costa, E., Pereira, A. M. P. T., Silva, L. J. G., Almeida, A., Lino, C., & Pena, A. (2021). Urine biomonitoring of glyphosate in children: Exposure and risk assessment. *Environmental Research*, 198, 111294. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111294>

- Gallay, R., & Mendoza, C. (2007). OXIDACIÓN FOTOCATALITICA DE LOS HERBICIDAS 2,4-D, DIURON Y AMETRINA EN AGUA A ESCALA DE LABORATORIO. 24.
- Galo, D. A. G., Meylin J. (2018). Determinación de residuos de paraquat en lechuga y repollo cultivados en Lepaterique mediante HPLC-DAD. En Revista Portal de la Ciencia (p. 16). <https://doi.org/10.5377/pc.v0i15.7301>
- Garcia, D., & Fuente, M. J. (2011). Estudio comparativo de técnicas de detección de fallos basadas en el Análisis de Componentes Principales (PCA). Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial RIAI, 8(3), 182–195. <https://doi.org/10.1016/j.riai.2011.06.006>
- García, D., & Velazquéz, H. (2018). Determinación de residuos de paraquat en lechuga y repollo cultivados en Lepaterique mediante HPLC-DAD. 1(15), 16.
- Goicoechea, M., García, S., Arroyo, D., & Luño, J. (2012). Hiperuricemia, gota y enfermedad renal crónica. Nefrología, 3(2), 15. <https://doi.org/10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2012.Mar.11444>
- Gómez, M. E. (2015). Materiales Nanoestructurados en el diseño de formulaciones de liberación controlada de herbicidas [Doctoral, Instituto de Recursos naturales y Agrobiología de Sevilla]. <https://digital.csic.es/handle/10261/153298>
- Grandjean, P., & Landrigan, P. J. (2014). Neurobehavioural effects of developmental toxicity. The Lancet Neurology, 13(3), 330–338. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70278-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70278-3)
- Grewal, A. S., Grewal, A. S., Singla, A., Kamboj, P., Dua, J. S., & Internationals, O. (2017). Pesticide Residues in Food Grains, Vegetables and Fruits: A Hazard to Human Health. Journal of Medicinal Chemistry and Toxicology, 2(1), 40–46.
- Guerrero, J. A., & Velandia, N. Y. (2014). Comparación de dos metodologías para la determinación de residuos de plaguicidas en agua potable. Revista Colombiana de Química, 43(1), 17–24. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n1.50538>

- Hernández, N. A., & Martínez, M. A. (2000). Intoxicación por paraquat. 6(1), 5.
- Herrera, N. E. P., Mejía, J. A. A., Burguete, M. T. C., Navarrete, R. L. G., & Vega, M. B. Q. (2019). Efectos reproductivos en agricultores expuestos a plaguicidas en Muna, Yucatán. 16.
- Hopkins, M. (2011). Perfil del producto: Mesotriona. AgriBusiness Global. <https://www.agribusinessglobal.com/es/industry-news/producto-perfil-mesotriona/>
- INEGI. (1999). Encuesta Nacional de Micronegocios (ENAMIN) 1998. <https://www.inegi.org.mx/programas/enamin/1998/#Microdatos>
- INFOBAE. (2019). Encontraron pesticidas cancerígenos en la orina de 146 menores de Autlán, Jalisco. infobae. <https://www.infobae.com/america/mexico/2019/09/05/encontraron-pesticidas-cancerigenos-en-la-orina-de-146-menores-de-autlan-jalisco/>
- Iriarte, A. (2022). Historia, desarrollo y últimos avances en cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/5009>
- Islas, G. (2013). Determinación de glifosato y ácido aminometilfosfónico en suelos mediante HPLC con derivatización pre-columna [Maestría, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO]. http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/1886/Tesis_determinacion-glifosato.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Izquierdo, J.-H., Bonilla-Abadía, F., Cañas, C. A., & Tobón, G. J. (2014). Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad. Reumatología Clínica, 10(1), 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2013.05.008>
- Kaundun, S. S., Hutchings, S.-J., Dale, R. P., Howell, A., Morris, J. A., Kramer, V. C., Shivrain, V. K., & Mcindoe, E. (2017). Mechanism of resistance to mesotrione in an *Amaranthus tuberculatus* population from Nebraska, USA. PLoS ONE, 12(6), e0180095. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180095>
- Levey, A. S., Perrone, R. D., & Madias, N. E. (1988). Serum Creatinine and Renal Function. Annual Review of Medicine, 39(1), 465–490. <https://doi.org/10.1146/annurev.me.39.020188.002341>

- Leyva, J., Licea, X., & Álvarez, M. (2018). Glifosato como principal sustancia tóxica en herbicidas. *Memorias del XX Concurso Lasallista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 4.
- Liñán, A. F.-C. (1977). El riñón, como órgano endocrino. *Real Academia Nac. Medicina*.
- Maciel, B. M., & Pérez, G. L. (2000). An old allied: Thymomodulin. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 9(2), 65–68.
- Madeley, J. (2002). Paraquat el controvertido herbicida de Syngenta. 30.
- Mason, C. (2021). Herbicide Atrazine. 22.
- Matos, E. M. C. de, Ribeiro, & L. C., & Prestes, O. D. (2019). Multiclass Method for the Determination of Pesticide Residues in Oat Using Modified QuEChERS with Alternative Sorbent and Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry | SpringerLink. 10.
- May, M. (2017). Pros and Cons of Three High-Resolution Mass Spec Approaches. <http://www.biocompare.com/Editorial-Articles/338099-Pros-and-Cons-of-Three-High-Resolution-Mass-Spec-Approaches/>
- Medellín, A. M. (2010). Importancia de la grasa para la supervivencia en el ayuno, vista a través de una enzimopatía. *Revista de Educación Bioquímica*, 29(4), 111–119.
- Mendoza, E., González, R., & Martínez, S. (2015). Estudio de exposición a malatión y cipermetrina y su relación con el riesgo de daño renal en habitantes del municipio de Calvillo Aguascalientes, México. 46(3), 12.
- Muñiz, R., Leyva, J. B., Jurado, J. M., Sarabia, O. R., Hernández, J. V., Ceballos-Magaña, S. G., Bejarano Ramírez, I. C., Muñiz-Valencia, R., Leyva-Morales, J. B., Jurado Jurado, J. M., Sarabia-García, O. R., Hernández Madrigal, J. V., Ceballos-Magaña, S. G., & Bejarano Ramírez, I. C. (2019). Determinación de plaguicidas en suelo agrícola mediante extracción en fase sólida y cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) acoplada a un detector de arreglo de diodos (DAD). *Acta universitaria*, 29. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2287>

- Nakamura, T., Sato, K., Akiba, M., & Ohnishi, M. (2006). Urobilinogen, as a Bile Pigment Metabolite, Has an Antioxidant Function. *Journal of Oleo Science*, 55(4), 191–197. <https://doi.org/10.5650/jos.55.191>
- Navas, I., & García, A. (2019). Plaguicidas y biocidas: Generalidades, clasificación toxicológica y de riesgos, legislación europea aplicable. 13.
- Nazzaro, M. (1987). Azelaic acid. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 17(6), 1033–1041. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(87\)70294-1](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(87)70294-1)
- Nshimiyimana, F., Abdallah, E. A., Mohamed, F., Benbakhta, B., Barakate, N., Hami, H., & Soulaymani, A. (2014). Analysis Method for Pesticide Residues in Biological Matrices: Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Journal of Life Sciences*, 8, 489–495.
- Ondarse, D. (2021). Plaguicidas—Concepto, tipos, peligros y opciones orgánicas. Concepto. <https://concepto.de/plaguicidas/>
- Ospina, D. S., & Hernández, Y. M. (2018). PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO PARA LA SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE MEZCLAS. 4, 8.
- Pathak, V. M., Verma, V. K., Rawat, B. S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., Mohapatra, A., Pandey, V., Rana, N., & Cunill, J. M. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.962619>
- Perez de Souza, L., Alseekh, S., Scossa, F., & Fernie, A. R. (2021). Ultra-high-performance liquid chromatography high-resolution mass spectrometry variants for metabolomics research. *Nature Methods*, 18(7), 733–746. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01116-4>
- Pérez, G., Vittori, D., Pregi, N., Garbossa, G., & Nesse, A. (2005). Homeostasis del hierro.: Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(3), 301–314.
- Pérez, L. M. R. (2009). Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios [Tesis doctoral,

- Universidad de la Laguna].
<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/21050/cp582.pdf?sequence=1>
- Pesticide Action Network. (2018). PAN International | Pesticides don't respect national borders. <https://pan-international.org/es/>
- Planas, C., Puig, A., Rivera, J., & Caixach, J. (2006). Analysis of pesticides and metabolites in Spanish surface waters by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry with previous automated solid-phase extraction Estimation of the uncertainty of the analytical results. *Journal of Chromatography A*, 1131(1–2), 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.07.091>
- Procuraduría Federal del Consumidor. (2021, agosto). Atrazina, un herbicida tóxico. gob.mx. <http://www.gob.mx/profeco/es/articulos/atrazina-un-herbicida-toxico?idiom=es>
- Rayner, J. L., Enoch, R. R., & Fenton, S. E. (2005). Adverse Effects of Prenatal Exposure to Atrazine During a Critical Period of Mammary Gland Growth. *Toxicological Sciences*, 87(1), 255–266. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi213>
- Resumen de Salud Pública: Atrazina (Atrazine) | PHS | ATSDR. (2021). ATSDR. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs153.html
- Ribeiro, S. (2020). Niños orinan agrotóxicos en México. EcoPortal.net. <https://www.ecoportal.net/paises/ninos-orinan-agrotoxicos-en-mexico/>
- Rodrigues, L. da S., Pereira, F. M. V., & Pereira Filho, E. R. (2023). PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) PARA A AVALIAÇÃO DE DADOS QUÍMICOS E GERAÇÃO DE HEAT MAPS: UM TUTORIAL. *Química Nova*, 46, 747–754. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230030>
- Rodríguez, B. A., Martínez Rivera, L. M., Peregrina Lucano, A. A., Ortiz Arrona, C. I., Cárdenas Hernández, O. G., Rodríguez Aguilar, B. A., Martínez Rivera, L. M., Peregrina Lucano, A. A., Ortiz Arrona, C. I., & Cárdenas Hernández, O. G. (2019). Análisis de residuos de plaguicidas en el agua superficial de la cuenca del Río Ayuquila-Armería, México. *Terra Latinoamericana*, 37(2), 151–161. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.462>

- Rojas, V. V. (2023). Determinación de ibuprofeno y sus metabolitos en muestras acuosas utilizando fases naturales en técnicas de microextracción y GC-MS. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/192280>
- Romano, G., Martínez, C., Cuadras, A. A., & Ortega, L. D. (2019). Plaguicidas, impacto en salud y medio ambiente en sinaloa (méxico): Implicaciones y retos en gobernanza ambiental. *Trayectorias Humanas Trascontinentales*, 4, Article 4. <https://doi.org/10.25965/trahs.1615>
- Rosas, M. M., Ramírez, A., Villanueva, J. A., & Osorio, F. (2019). LEYES Y ORGANISMOS QUE REGULAN EL USO DE PLAGUICIDAS EN MÉXICO. 15.
- Rossi, M. E. (2020). Antología toxicológica del glifosato (5°). Naturaleza de derechos. <https://conacyt.mx/cibiogem/index.php/comunicacion/publicaciones-y-documentos-de-interes/item/antologia-toxicologica-glifosato>
- Ruiz, L., Romero, R., Garrido, A., & Martínez, J. L. (2008). Determination of pesticides in water samples by solid phase extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 31(1), 151–161. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700299>
- Santiago, M. C. (2014). Espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de biomarcadores metabolómicos en análisis clínico. <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/12163>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Leyes y Normas del Sector Medio Ambiente. gob.mx. <http://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/leyes-y-normas-del-sector-medio-ambiente>
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2018). Análisis de la sensibilidad del glifosato. Análisis Estratégico de Riesgos Sanitarios, 12.
- Skoog, D. A. (2015). Fundamentos de Química Analítica (9°, Vol. 1). Cengage Learning.
- Slyfe, F. (2000). Identificación del herbicida glifosato, propiedades y toxicidad. Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos, 51.

- Srokosz, S. (2022, mayo 27). Common Adduct and Fragment Ions in Mass Spectrometry. ACD/Labs. <https://www.acdlabs.com/blog/common-adduct-and-fragment-ions-in-mass-spectrometry/>
- Stoytcheva, M. (2011). Pesticides and Human Health. En Pesticides in the Modern World—Effects of Pesticides Exposure. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/18734>
- Strada, J., Ricca, A., Conles, M., Silva, M., Rojas, D., & Casini, C. (2012). GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y TRIGO (*Triticum aestivum* L.) POSTERIOR A LA APLICACION. 37, 7.
- Suárez, S., & Palacio, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372–387.
- Sun, Y., Cao, M., Wan, Y., Wang, H., Liu, J., Pan, F., He, W., Huang, H., & He, Z. (2020). Spatial variation of 2,4-D and MCPA in tap water and groundwater from China and their fate in source, treated, and tap water from Wuhan, Central China. *Science of The Total Environment*, 727, 138691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138691>
- The Secretariat of the Rotterdam Convention Geneva. (2006). Guidance to Designated National Authorities on the operation of the Rotterdam Convention. 116.
- Thermo Fisher, S. (2022). Detectores de HPLC y UHPLC - MX. ThermoFisher. <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/industrial/chromatography/liquid-chromatography-lc/hplc-uhplc-components/hplc-uhplc-detectors.html>
- United States Environmental Protection Agency. (2001). Pesticide Fact Sheet. 7.
- Universidad Nacional de Costa Rica. (2020). Mesotrione. MANUAL DE PLAGUICIDAS DE CENTROAMÉRICA. <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/371-mesotrione>
- Universidad Nacional Heredia. (2022). 2,4-D. <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/5-24-d>

- Velasco, M. A. T. (2009). NORMA Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4020/salud/salud.htm>
- Wang, X., Wang, S., & Cai, Z. (2013). The latest developments and applications of mass spectrometry in food-safety and quality analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 170–185. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.08.005>
- Wolansky, M. J. (2011). Plaguicidas y salud humana. *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA*, 21(122), 7.
- Zarrouk, E., Lenski, M., Bruno, C., Thibert, V., Contreras, P., Privat, K., Ameline, A., & Fabresse, N. (2022). High-resolution mass spectrometry: Theoretical and technological aspects. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 34(1, Supplement), 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2021.11.002>

ANEXO 1

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS HERBICIDAS

➤ Glifosato

Ecuación de la recta: $y = 4x10^{-0.6} x + 0.6952$

Sustitución muestra 1:

$$y = (4x10^{-0.6} * 1033470) + 0.6952 = 4.8290 \frac{mg}{L} = 4.8290 ppm$$

Sustitución muestra 3:

$$y = (4x10^{-0.6} * 1366441) + 0.6952 = 6.1609 \frac{mg}{L} = 6.1609 ppm$$

Sustitución muestra 4:

$$y = (4x10^{-0.6} * 43475959) + 0.6952 = 18.0870 \frac{mg}{L} = 18.0870 ppm$$

➤ 2,4-D

Ecuación de la recta: $y = 5.7692 x - 17.5$

Sustitución muestra 3:

$$y = (5.7692 * 4.4) - 17.5 = 7.8844 \frac{mg}{L} = 7.8844 ppm$$

Sustitución muestra 6:

$$y = (5.7692 * 12) - 17.5 = 51.7304 \frac{mg}{L} = 51.7304 ppm$$

Sustitución muestra 8:

$$y = (5.7692 * 8.2) - 17.5 = 29.8074 \frac{mg}{L} = 29.8074 ppm$$

Sustitución muestra 9:

$$y = (5.7692 * 7.1) - 17.5 = 23.4613 \frac{mg}{L} = 23.4613 ppm$$

Sustitución muestra 10:

$$y = (5.7692 * 9.7) - 17.5 = 38.4612 \frac{mg}{L} = 38.4612 ppm$$

Sustitución muestra 11:

$$y = (5.7692 * 8.7) - 17.5 = 32.6920 \frac{mg}{L} = 32.6290 ppm$$

Sustitución muestra 12:

$$y = (5.7692 * 6.5) - 17.5 = 19.9998 \frac{mg}{L} = 19.9998 ppm$$

➤ Mesotrione: No se encontró la presencia de mesotrione en ninguna muestra.

➤ Atrazina

Ecuación de la recta: $y = 0.9789 x - 2.0948$

Sustitución muestra 1:

$$y = (0.9789 * 7.2) - 2.0948 = 4.9532 \frac{mg}{L} = 4.9532 ppm$$

Sustitución muestra 3:

$$y = (0.9789 * 5.5) - 2.0948 = 3.2891 \frac{mg}{L} = 3.2891 ppm$$

Sustitución muestra 4:

$$y = (0.9789 * 4.7) - 2.0948 = 2.5060 \frac{mg}{L} = 2.5060 ppm$$

Sustitución muestra 8:

$$y = (0.9789 * 10.8) - 2.0948 = 8.4773 \frac{mg}{L} = 8.4773 ppm$$

- Paraquat

Ecuación de la recta: $y = 7 \times 10^{-07} x - 2.4945$

Sustitución muestra 8:

$$y = (7 \times 10^{-07} * 1652959) - 2.4945 = 0.3480 \frac{mg}{L} = 0.3480 ppm$$

CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES PROMEDIO DE LOS HERBICIDAS

- Glifosato

$$Promedio = \frac{4.8290 + 6.1609 + 18.087}{3} = 9.6923 ppm$$

- 2,4-D

$$\begin{aligned} Promedio &= \frac{7.8844 + 51.7304 + 29.8074 + 23.4613 + 38.4612 + 32.6920 + 19.999}{7} \\ &= 29.1481 ppm \end{aligned}$$

- Mesotrione: No está presente en ninguna muestra.

- Atrazina

$$Promedio = \frac{4.9532 + 3.2891 + 2.5060 + 8.4773}{4} = 4.8064 ppm$$

- Paraquat

$$Promedio = \frac{0.348}{1} = 0.348 ppm$$

CÁLCULO DE LOS PORCENTAJES DE LOS HERBICIDAS

- Glifosato: Está presente en 3 de las 12 muestras.

$$Porcentaje = \frac{(3)(100\%)}{12} = 25 \%$$

- 2,4-D: Está presente en 7 de las 12 muestras.

$$Porcentaje = \frac{(7)(100\%)}{12} = 58.3333 \%$$

- Mesotrione: No está presente en ninguna muestra.

$$Porcentaje = \frac{(0)(100\%)}{12} = 0 \%$$

- Atrazina: Está presente en 4 de las 12 muestras.

$$Porcentaje = \frac{(4)(100\%)}{12} = 33.3333 \%$$

- Paraquat

$$Porcentaje = \frac{(1)(100\%)}{12} = 8.3333 \%$$

ANEXO 2

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Clasificación de los plaguicidas por su composición química	18
Figura 1.2: Clasificación de los plaguicidas por su destino de aplicación	19
Figura 1.3: Clasificación de los plaguicidas por la plaga a combatir	19
Figura 1.5: Clasificación de los herbicidas por selectividad	20
Figura 1.4: Clasificación de los herbicidas por su época de aplicación	20
Figura 1.6: Clasificación de los herbicidas por su modo de acción	20
Figura 1.7: Estructura química del glifosato	23
Figura 1.8: Estructura química del 2,4 -D	24
Figura 1.9: Estructura química del mesotrione	26
Figura 1.10: Estructura química de atrazina	27
Figura 1.11: Estructura química del paraquat	29
Figura 1.12: Estados de la república Mexicana con mayor uso de plaguicidas	37
Figura 1.13: Demanda de plaguicidas en los principales cultivos de México	38
Figura 1.14: Diagrama de los componentes de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia	48
Figura 1.15: Diagrama de bloques de los componentes de un cromatógrafo de gases	51
Figura 1.16: Diagrama de un sistema de electroforesis	53
Figura 1.17: Espectro de masas del etil benceno	56
Figura 1.18: Diagrama de bloques de los componentes de un espectrómetro de masas	57
Figura 1.19: Diagrama del equipo espectrómetro de masas	57
Figura 2.1: Diagrama general del desarrollo experimental	79

Figura 2.2: Diagrama del desarrollo experimental por HPLC	81
Figura 2.3: Curva de calibración para cuantificar la concentración de los herbicidas	82
Figura 2.4: Espectrómetro de masas SOLARIX marca Bruker (ESI FIA FTICR-MS)	85
Figura 2.5: Diagrama del desarrollo experimental por MRMS	85
Figura 2.6: Condiciones API del equipo	86
Figura 3.1: Representación gráfica de concentraciones promedio encontradas en las muestras analizadas	90
Figura 3.2: Representación gráfica de los porcentajes de los herbicidas encontrados en las muestras	92
Figura 3.3: a) Espectro de masas del glifosato en la solución patrón de 10 ppm..	93
b) Espectro de masas del glifosato encontrado en la muestra 3	93
Figura 3.4: a) Espectro de masas del 2,4- D en la solución patrón de 10 ppm	94
b) Espectro de masas del 2,4-D encontrado en la muestra 2	94
Figura 3.5: a) Espectro de masas de atrazina en la solución patrón de 10 ppm ...	95
b) Espectro de masas de atrazina encontrado en la muestra 12	95
Figura 3.6: a) Espectro de masas del paraquat en la solución patrón de 1 ppm...	96
b) Espectro de masas del paraquat encontrado en la muestra 8	96
Figura 3.7: a) Análisis de componentes principales del metaboloma constitutivo de las muestras analizadas en polaridad positiva	99
b) Agrupación de metabolitos.....	99
Figura 3.8: Heat map de todas las muestras.....	100
Figura 3.9: Espectro de masas de la muestra 10	103
Figura 3.10: Espectro de masas de la muestra 3	104
Figura 3.11: Espectro de masas de la muestra 2	104

Figura 3.12: Espectro de masas de la muestra 1	105
Figura 3.13: Espectro de masas de la muestra 4	105
Figura 3.14: Espectro de masas de la muestra 5	106
Figura 3.15: Espectro de masas de la muestra 10	106
Figura 3.16: Espectro de masas de la muestra 10	107
Figura 3.17: Espectro de masas de la muestra 1	107
Figura 3.18: Espectro de masas de la muestra 3	108
Figura 3.19: a) Análisis de componentes principales del metaboloma constitutivo de las muestras analizadas en polaridad negativa.....	109
b) Agrupación de metabolitos.....	109
Figura 3.20: Heat map de todas las muestras.....	110
Figura 3.21: Espectro de masas de la muestra 2	113
Figura 3.22: Espectro de masas de la muestra 12	113
Figura 3.22: Espectro de masas de la muestra 12	114
Figura 3.23: Espectro de masas de la muestra 9	114
Figura 3.24: Espectro de masas de la muestra 7	114
Figura 3.25: Espectro de masas de la muestra 6	115
Figura 3.26: Espectro de masas de la muestra 8	115
Figura 3.27: Espectro de masas de la muestra 8	116
Figura 3.28: Espectro de masas de la muestra 9	116
Figura 3.29: Espectro de masas de la muestra 5	117
Figura 3.30: Espectro de masas de la muestra 8	117

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1: Clasificación de los herbicidas de acuerdo con su categoría de toxicidad	21
Tabla 2.1: Reactivos utilizados.....	77
Tabla 2.2: Equipos de laboratorio utilizados.....	77
Tabla 2.3: Condiciones generales del método	83
Tabla 2.4: Condiciones específicas del método gradiente	84
Tabla 3.1: Concentraciones encontradas de los herbicidas ($\mu\text{g/mL}$).....	89
Tabla 3.2: Metabolitos encontrados en polaridad positiva.....	100
Tabla 3.3: Metabolitos encontrados en polaridad positiva.....	111

CÓDIGO QR HEAT MAPS



GLOSARIO

- Acónito: Planta ranunculácea de hojas palmeadas y flores azules, cuyas variedades son todas venenosas cuando la semilla ha llegado a la madurez.
- Agente quelante: Sustancias que promueven la formación de enlaces múltiples con único ion metálico para formar un complejo.
- Alícuota: Parte que se toma de un volumen.
- Anfótero: Molécula que contiene un radical base y otro ácido, dándole la posibilidad de actuar como ácido o como base, según el medio en que se encuentre.
- Carbamatos: Son plaguicidas químicos derivado del ácido carbámico (NH_2COOH), el cual es algo parecido a la urea.
- Carcinogénico: Que produce cáncer o favorece su aparición.
- Ciclotrón: Acelerador de partículas de trayectoria circular usado para el bombardeo del núcleo de los átomos para producir transmutaciones y radiactividad artificial.
- Cicuta: Planta de la familia de las umbelíferas, de unos dos metros de altura y flores blancas. Su zumo es venenoso y se usa como medicina.
- Cromóforo: Conjunto de átomos que, al absorber radiaciones luminosas, dotan de color a un compuesto orgánico.
- Defoliantes: todo producto químico que es fumigado o espolvoreado sobre las plantas de manera que induce a que se desprendan sus hojas.
- Derivatización: Transformación de un compuesto químico en uno de estructura química similar, pero con propiedades químicas diferentes.
- Endócrina: Glándula que produce hormonas o secreciones que van a parar directamente a la sangre.
- Fitosanitarios: De la prevención y curación de las enfermedades de las plantas.

-Flavonoides: Son un grupo diverso de fitonutrientes (químicos vegetales) que se encuentran en muchas frutas, verduras y especias, responsables de sus colores intensos.

-Florícolas: Empresa que se dedica a la producción y exportación de flores.

-Fluoróforo: Una molécula o parte de una molécula que emite fluorescencia después de ser excitada con luz.

-Fotosintéticos: Los organismos fotosintéticos son aquellos capaces de capturar la energía solar y usarla para la producción de compuestos orgánicos.

-Genómico: La genómica es un campo interdisciplinario de estudio de la función, estructura, evolución, mapeo y edición de genoma. Un genoma es un conjunto completo de ADN dentro de una sola célula de un organismo.

-Gradiente: Variación de una magnitud en función de la distancia, a partir de la línea en que esta variación es máxima en las magnitudes cuyo valor es distinto en los diversos puntos de una región del espacio.

-Heat map: Mapa de calor.

-Homeostasis de metales: Es el equilibrio controlado de los metales que necesita el cuerpo humano para funcionar correctamente, como hierro, zinc, cobre, entre otros.

-Inocuidad: Incapacidad para hacer daño.

-Neonicotinoides: Son una familia de insecticidas que actúan sobre el sistema nervioso central de los insectos, causándoles una parálisis que les lleva a la muerte normalmente en pocas horas, pero que tienen una menor toxicidad en aves y mamíferos, debido a que los neonicotinoides bloquean una ruta neuronal específica que es más abundante en los insectos que en los mamíferos de sangre caliente.

-Organoclorados: Compuestos orgánicos que contienen cloro, llamándose, asimismo, hidrocarburos clorados.

-Organofosforados: Compuestos orgánicos que contienen fósforo como parte integral de la molécula.

-Señalización intracelular: Proceso por el que la célula responde a sustancias del exterior de la célula mediante moléculas de señalización que están en la superficie de la célula o dentro de ella.

-Silvicultura: Conjunto de actividades relacionadas con el cultivo, el cuidado y la explotación de los bosques y los montes.

-Sobrenadante: Líquido que queda sobre un sedimento o precipitado, después de producida la sedimentación

-Teratogénicos: es una sustancia, agente físico u organismo capaz de provocar un defecto congénito durante la gestación del feto.

-Terpenoides: Son hidrocarburos que pueden verse como una combinación de numerosas unidades de isopreno. Son lípidos que se encuentran en toda clase de seres vivos, y son biosintetizados en las plantas, donde son importantes en numerosas interacciones bióticas.

RELACIÓN DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

-AAS: Espectroscopia de Absorción Atómica

-ACN: Acetonitrilo.

-API: Interfaz de Programación de Aplicaciones

-CAD: Detector de Aerosol Cargado

-CE: Electroforesis Capilar

-CFP: Consentimiento Fundamentado Previo

-COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

-COP's: Contaminantes Orgánicos Persistentes

-CZE: Electroforesis Capilar de Zona

-DAD: Detector de Diodos Integrados

-DDT: Dicloro Difenil Tricloroetano

- DL50: Dosis letal media.
- DLLME: Micro Extracción Dispersiva de Fase Líquida
- ECD: Detector de Captura de Electrones
- EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
- ESI: Ionización por Electrospray
- ESI FIA FTICR-MS: Espectrometría de Masas con Infusión Directa por Resonancia de Iones en el Ciclotrón con Transformada de Fourier.
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- FID: Detector de Ionización de Flama
- FLD: Detector de Fluorescencia
- FTIR: Espectroscopia Infrarroja
- FTMS: Espectrometría de Masas con Transformada de Fourier
- GC: Cromatografía de Gases
- GC-MS: Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
- H₂O: Agua.
- HCl: Ácido clorhídrico
- HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
- HPLC-MS: Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas
- HRMS: Espectrometría de Masas de Alta Resolución
- ITC: Electroforesis Capilar Isotérmica
- ITP: Electroforesis Capilar Isótopa
- LLE: Extracción Líquido-Líquido

- LFSV: Ley Federal de Sanidad Vegetal
- LGEEPA: Ley General de Salud y la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente.
- LGPGLR: Ley General para la Gestión Integral de Residuos
- LGS: Ley General de Salud
- LMR: Límites Máximos de Residuos
- MALDI: Ionización por Desorción Láser
- MEKC: Electroforesis Capilar Micelar
- MS: Espectrometría de Masas
- MS/MS: Espectrometría de Masas en tandem
- MWD: Detector de Longitud de Onda Múltiple
- ND: No detectado
- NOM: Norma Oficial Mexicana
- NOM-003: Actividades agrícolas- uso de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes-condiciones de seguridad e higiene.
- NOM-007-SSA3-2011: Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- NOM-082: Límites máximos de residuos. Lineamientos técnicos y procedimiento de autorización y revisión.
- NOM-127: Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-limites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- NOM-232: Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico.

- NOM-256-SSA1-2012: Condiciones sanitarias que deben cumplir los establecimientos y personal dedicados a los servicios urbanos de control de plagas mediante plaguicidas.
- NPD: Detector de Nitrógeno-Fósforo
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- PAN: Red de Acción en Plaguicidas.
- PCA: Análisis de Componentes Principales
- PNUMA: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
- PTFE: Politetrafluoroetileno
- RENAF: Registro Federal de Productos Fitosanitarios
- RID: Detector de Índice de Refracción
- SADER: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
- SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
- SENASICA: Secretaría de Salud a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
- SPE: Extracción en Fase Sólida
- SSA: Secretaría de Salubridad y Asistencia
- STPS: Secretaría de Trabajo y Previsión Social
- TOF: Espectrómetros de Masas de Tiempo de Vuelo
- UHRMS: Espectrometría de Masas de Ultra Alta Resolución
- UV: Ultravioleta
- VWD: Detector de Longitud de Onda Variable