

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ADAPTACIÓN DE TÉCNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA
DETECCIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE
SUELO Y AGUA

Tesis

Que presenta VALERIA MALDONADO ORTEGA
como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



ADAPTACIÓN DE TÉCNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA
DETECCIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE
SUELO Y AGUA

Tesis

Que presenta VALERIA MALDONADO ORTEGA
como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Una firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.

Dr. Ernesto Cerna Chávez
Director UAAAN

Una firma manuscrita en tinta azul sobre una línea horizontal.

Dra. Mariana Beltrán Beache
Director Externo

Saltillo, Coahuila

Octubre 2018

ADAPTACIÓN DE TÉCNICA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA DETECCIÓN DE
RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE SUELO Y AGUA

Tesis

Elaborada por VALERIA MALDONADO ORTEGA como requisito parcial para obtener
el grado de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y
aprobación del Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal




Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Asesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Asesor



Dra. Mariana Beltrán Beache
Asesor Externo



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Subdirectora de Postgrado
UAAAN

Agradecimientos

Un trabajo de tesis no lo logra una sola persona, más bien es un trabajo en equipo, es por esto por lo que quisiera agradecer a mi director de tesis Dr. Ernesto Cerna Chávez y a la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes, por brindarme su tiempo, su paciencia, sus conocimientos, y su apoyo en momentos difíciles.

Agradezco de igual manera a mis asesores por su tiempo y conocimientos: Dr. Jerónimo Landeros Flores Y Dra. Mariana Beltrán Beache.

En conjunto voy a agradecer a mis compañeros y a los demás Doctores del Departamento de Parasitología, que en cada uno de ellos encontré sabiduría y mucha ayuda.

Me tomaría un par de hojas mencionar a cada uno de mis amigos y colegas, sin embargo hare mención de los mas que pueda, esperando no se me pase ninguno, quiero agradecer a Marisol ya que en toda la maestría fue mi compañera de clases (gracias por la paciencia), Manuel y Leslie mis aliados por siempre y con los que sin duda podía platicar de mi estrés, no menos importantes mi Rocío, Lolita, Pepito, Nestor, Ulises, Karen, Beto, Jazz gracias infinitas por siempre estar.

Gisell se que no entiendes nada de esto y te causa gracia mis materias de insectos, pero gracias por apoyarme siempre.

Hermana, todo ha sido duro, pero sin tu presencia no hubiera podido salir adelante.

Mamá y papá gracias por dejarme ser yo misma y apoyarme en cada paso que doy, los amo.

Dedicatoria

Le dedico este trabajo primero que nada a mi padre Dios que me dio la fortaleza para seguir adelante y el que me lleno con su luz cuando yo sentía rendirme, cuando no veía fruto a mis esfuerzos, que finalmente y con paciencia logre cosechar.

A mi familia, por apoyarme siempre y ser cada uno de ellos mis maestros de vida y mi soporte.

A mis padres, a mi madre que siempre tuvo paciencia en escucharme y darme consejos cuando le planteaba mis inquietudes y problemas y lo difícil que se me hacía en su momento realizar mis actividades en el laboratorio, a mi padre que a pesar de encontrarse lejos siempre me brindó su apoyo y sus conocimientos.

Por ultimo y no menos importante le dedico este logro a mis dos angelotes que tengo en el cielo, mis abuelos, que, aunque su ausencia a sido dura aun al pasar de los años, han sido mi motor y mis ganas de seguir adelante.

Índice General

Resumen.....	X
Abstract.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	2
Objetivos específicos.....	2
HIPÓTESIS.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Plaguicidas.....	3
2.1.2. Importancia y evolución histórica.....	3
2.1.2.1. Clasificación.....	5
2.1.2.2 Efectos sobre el medio ambiente.....	8
2.1.2.3 Efectos sobre el ser humano.....	10
2. 2. Toxicidad aguda.....	11
2.2.1 Toxicidad crónica.....	11
2. 3. Técnicas de determinación de plaguicidas.....	14
2.4. Preparación de la muestra.....	14
2. 5 Métodos de extracción para muestras líquidas.....	15
2. 5. 1. Extracción líquido-líquido.....	15
2.5.2 Extracción en fase sólida.....	16
2. 6 Métodos de extracción para muestras sólidas.....	17
2.6.1 Extracción líquido-sólido.....	17
2. 6. 1.1 Soxhlet.....	18
2. 7 Acoplamiento de cromatografía-espectrometría de masas.....	19
2. 7. 1. Cromatografía de gases.....	19
2.8. Cromatografía líquida.....	20
2. 9. Espectrofotometría UV/Visible.....	21
2.9.1. Método espectrofotométrico basado en ensayo de Ellman.....	22
2.9.2. Detección de residuos de plaguicidas organofosforados por colorimetría directa.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Procedimientos.....	26

3.1.1. Muestreo	26
3.2. Preparación de las muestras	26
3.3. Estandarización para la determinación de plaguicidas organofosforados.....	28
3.3.1. Preparación de estándares	29
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1 Curvas de calibrado	30
4.2. Determinación de residuos en muestras de suelo y agua en el cultivo de papa.....	32
4.3. Determinación de residuos en muestras de suelo y agua en el cultivo de manzana.....	37
5. CONCLUSIONES	43
6. Referencias.....	44

Lista de Tablas

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, expresada en DL_{50}	7
Tabla 2 Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad	7
Tabla 3. Límites de detección ($\mu\text{g/ml}$) por plaguicida	29
Tabla 4. Concentraciones de plaguicidas en muestras de suelo en el cultivo de papa	33
Tabla 5. Concentraciones de en plaguicidas muestras de agua en el cultivo de papa	34
Tabla 6. Concentraciones de plaguicidas en muestras de suelo en el cultivo de manzana	39
Tabla 7. Concentraciones de plaguicidas en muestras de agua en el cultivo de manzana	40
Tabla 8. Valores de $\log K (oc)$ y solubilidad de plaguicidas	42

Lista de Figuras

Figura 1. Esquema de los cuatro pasos en extracción en fase sólida	17
Figura 2. Esquema de un extractor Soxhlet.....	18
Figura 3. Esquema de un cromatógrafo de gases	20
Figura 4. Esquema de un cromatógrafo líquido de alta eficacia.....	21
Figura 5. Diagrama esquemático del sistema de detección colorimétrico	23
Figura 6. Esquema de la reacción química entre 4-(a-nitrobencil) piridina y organofosforados	24
Figura 7. Reacción de color de nitrobencilpiridina	24
Figura 8. Extracción por Soxhlet.....	27
Figura 9. Extracción líquido-líquido	28
Figura 10. Metodología por colorimetría directa.....	29
Figura 11. Curvas de calibrado. A) Naled, B) Ometoato C) Profenofos D) Acefato .	30
Figura 12. Curvas de calibrado	31

“Adaptación de una técnica espectrofotométrica para detección de residuos de plaguicidas en muestras de suelo y agua”

Introducción. Los plaguicidas son sustancias o mezcla de sustancias de carácter orgánico o inorgánico que está destinado que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas. La agricultura actual exige el uso de estos para asegurar el incremento a la producción agrícola con objeto de garantizar el suministro de alimentos de calidad a la creciente población mundial. La aplicación de plaguicidas ha sido un mecanismo eficiente para el cuidado de los cultivos. Sin embargo, el ingreso de estas sustancias al ambiente puede representar un alto riesgo para los sistemas biológicos. Por lo antes mencionado, se han desarrollado técnicas para determinar los residuos de plaguicidas en el medio ambiente y así poder tener un control sobre ellos. **Objetivo.** Determinar la presencia en suelo y agua de plaguicidas organofosforados. **Metodología.** Se utilizó una técnica espectrofotométrica para muestras de suelo y agua. **Resultados.** Existe una mayor persistencia de estos productos en suelo agrícola, esto se puede deber a propiedades físicas de este, en el cultivo de papa (suelo) se encontró con mayor persistencia Naled con una concentración de 15.549 $\mu\text{g/g}$ y en cultivo de manzano (suelo) fue Acefato con 254.2 $\mu\text{g/g}$. En caso de las muestras de agua, para el cultivo de papa se tuvo el mismo resultado en cuanto el plaguicida con mayor persistencia, sin embargo, se registró en una concentración mucho menor 5.182 $\mu\text{g/ml}$; en cultivo de manzana fue el Acefato con 139.2 $\mu\text{g/ml}$. La presencia de los plaguicidas en cuerpos de agua depende directamente de su solubilidad. **Conclusión.** En todas las muestras se encontró al menos un plaguicida presente, debido a que no existen referencias sobre límites máximos permitidos para el recurso del suelo o agua, este tipo de estudios son de importancia ya que pudieran servir como referencia en un futuro.

Palabras clave: plaguicida, residuo, organofosforado, espectrofotometría.

Abstract

“Adaptation of a spectrophotometric technique for the detection of pesticide residues in soil and water samples”

Introduction. Pesticides are substances or a mixture of substances of an organic or inorganic nature that is intended to combat insects, mites, rodents and other undesirable plant species. Current agriculture requires the use of these to ensure an increase in agricultural production in order to guarantee the supply of quality food to the growing world population. The application of pesticides has been an efficient mechanism for the care of crops. However, the entry of these substances into the environment may represent a high risk for biological systems. For the aforementioned, techniques have been developed to determine pesticide residues in the environment for the control of them. **Objective.** Determine the presence in soil and water of organophosphorus pesticides. **Methodology.** A spectrophotometric technique was used for soil and water samples. **Results.** There is a greater persistence of these products in soil, this may be due to physical properties, in the cultivation of potato (soil) was found with greater persistence Naled with a concentration of 15.549 $\mu\text{g} / \text{g}$ and in cultivation of apple (soil) it was acephate with 254.2 $\mu\text{g} / \text{g}$. In case of water samples, the same result was obtained for the potato crop Naled was the pesticide with the highest persistence, however, it was recorded at a much lower concentration 5.182 $\mu\text{g} / \text{ml}$; in apple culture was the acephate with 139.2 $\mu\text{g} / \text{ml}$. The presence of pesticides in water depends directly on their solubility. **Conclusion.** In all samples, at least one pesticide was present, because there are no references on maximum permitted limits for soil or water resources, this type of studies are important because they could serve as a reference in the future.

Key words: pesticide, residue, organophosphate, spectrophotometry.

1. INTRODUCCIÓN

La utilización de diversos productos químicos en la producción agrícola tanto para controlar las plagas y enfermedades, así como para disminuir los riesgos y pérdidas de los sistemas agrícolas ha sido un reto permanente (Obando and PEREZ 2017).

El uso generalizado de dichos productos se debe a las propiedades biocidas y selectividad que poseen; por ello, constituyen el método habitual de lucha contra las plagas (Cortés et al. 2006). Estos insumos son esenciales en la agricultura moderna para controlar las plagas y enfermedades y así incrementar la productividad de los cultivos (Cooper and Dobson 2007). Son necesarios también en el control de plagas que causan daños durante el almacenamiento o transporte de los alimentos u otros bienes (COFEPRIS 2014). Además, se emplean para el control de vectores de enfermedades humanas y animales, y de organismos que interfieren en el bienestar del hombre.

El consumo y la variedad de plaguicidas a nivel mundial se ha incrementado dramáticamente a la par del aumento de la población y de la producción agrícola (Zhang et al. 2011). La aplicación y manipulación de este tipo de sustancias puede entrañar riesgos para el ser humano, ya sea como usuario o consumidor de vegetales, frutas o productos tratados (Fenik et al. 2011). El inadecuado uso de estos puede tener como consecuencia impactos graves tales como riesgos para la salud de los seres humanos y contaminación ambiental, ya que pueden producir contaminación de suelos, aguas superficiales y subterráneas y el aire (Badii and Landeros 2015).

Debido a la elevada toxicidad de los plaguicidas presentes en el medio ambiente se ha obligado a disponer de tecnologías y métodos analíticos viables que permitan el control de los compuestos tóxicos en diversos tipos de muestras (Díaz, 2007).

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia en suelo y agua de plaguicidas organofosforados.

Objetivos específicos

- Adaptar un método de espectrofotometría comúnmente utilizado en muestras biológicas, como tecnología para analizar muestras de agua y suelo.
- Determinar los niveles de plaguicidas organofosforados en muestras de suelo y agua.

HIPÓTESIS

Se espera encontrar residuos de plaguicidas organofosforados.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Plaguicidas

2.1.2. Importancia y evolución histórica

Desde las épocas tempranas del surgimiento y desarrollo del hombre, se tuvo la necesidad de combatir las plagas que afectaban los cultivos y productos, con el uso de sustancias capaces de eliminarlos. En la llamada “era de los productos naturales” (antes de nuestra era hasta mediados del siglo XIX), se tienen evidencias en documentos escritos por Homero, del uso del azufre como sustancia “purificadora” para eliminar los hongos; el rey de Persia, Jerjes, usó las flores de piretro como insecticida y los chinos utilizaron los arsenitos para el control de roedores y otras plagas, alrededor del primer milenio después de nuestra era (del Puerto y col., 2014). A partir de la Revolución Industrial, se observó un crecimiento de las zonas urbanas con una dependencia de las rurales para la obtención de los alimentos, lo cual requería de una mayor producción, almacenamiento y protección de los mismos, en consecuencia, hubo un incremento sustancial de producción de sustancias químicas como parte del sostenimiento del desarrollo industrial y de la agricultura (González y col., 2007).

Se le denomina plaguicida a cualquier sustancia o mezcla de sustancias de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas (Sánchez y Sánchez, 2000), que son perjudiciales para el hombre y que interfieren de cualquier otra forma en la elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, entre otros (López y col., 2012). Si bien el concepto de plaguicida es relativamente moderno (siglo XIX), el empleo de diferentes sustancias para combatir todo tipo de plagas se remonta a más de cuatro mil años atrás (Arata, 1993).

La introducción en el uso de plaguicidas se señala a principios del siglo pasado, y se pueden distinguir tres fases en su desarrollo histórico. La primera

marca el descubrimiento, accidental o experimental, de la acción plaguicida de algunos compuestos como el azufre, los arseniatos, el sulfato de cobre, etc (Oerke,2006). Los primeros compuestos orgánicos fueron generalmente derivados de extractos de tejido vegetal que se usaban en la agricultura incluso antes de que se conocieran las estructuras o se lograra sintetizar la molécula responsable de la actividad biológica (Isern, 2002).

La segunda fase presenta un desarrollo rápido, y tiene su punto de partida en 1920, año en que se registra que se introdujeron el uso de aceites insecticidas, comenzando la era de los productos sintéticos con la preparación y el uso de compuestos derivados de nitrógeno gaseoso o dinitroderivados (Bedmar, 2006). La última fase se inicia con el descubrimiento de las propiedades del DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano), realizado por Muller en 1940, se suceden con rapidez los descubrimientos de nuevos plaguicidas, y se desarrollan las bases científicas para investigaciones posteriores.

La introducción en México de este compuesto en los años cincuenta para su uso agrícola siguió el mismo patrón que en Canadá y EU, en el decenio de los sesenta el uso de este comenzó a decrecer debido a inquietudes ambientales y a los límites más estrictos de residuos en los alimentos (Ramirez,2005). Entre 1997 y 2000 el uso del DDT solo estaba autorizado para las campañas de salud pública y siguió siendo una herramienta importante para el paludismo, fue la OMS la encargada de apoyar la utilización de este producto para la fumigación de interiores para repeler o eliminar al mosquito portador (Mazel, 2006).

En nuestro país se ha reportado el uso de plaguicidas agrícolas desde fines del siglo XIX; hasta mediados del siglo pasado se utilizaban cerca de 40 compuestos de tipo botánico u orgánico (Nieto y col.,2010). La aplicación intensiva de estos abrió el camino a la búsqueda de productos semejantes de acción potente, iniciando la época de los organofosforados, carbamatos y una gran variedad de herbicidas, todo lo cual estuvo relacionado con la Revolución

Verde, el cual México fue uno de los primeros países en adoptar (Albert, 2005).

La agricultura actual exige un esfuerzo dirigido a estudiar, desarrollar y valorar estrategias que aseguren e incrementen la producción agrícola con objeto de garantizar el suministro de alimentos de calidad a la creciente población mundial (Ravelo, 2009). En este sentido, la introducción de productos químicos de uso agrícola como los plaguicidas, ha revolucionado la agricultura hasta tal punto que este tipo de compuestos ha llegado a ser indispensable para producir cultivos que en áreas en las que sin el uso de los mismos no sería posible (Pomares y Albiach, 2005), extender el periodo de las plantas, incrementar su rendimiento y producción, así como mantener su calidad y periodo de almacenamiento (Verhulst y col., 2015).

2.1.2.1. Clasificación

Los plaguicidas se clasifican de acuerdo a una variedad de criterios; según los organismos que controlan, su concentración, su modo de acción, su composición química, la presentación de sus formulaciones comerciales y el uso a que se destinan (Alfaro, 2006).

- Por el grupo químico al que pertenecen:

Carbamatos: Se encuentra dentro de los compuestos de segunda generación junto con los organoclorados y organofosforados, pueden ser de tres tipos: derivados de ácidos carbámicos usados comúnmente como insecticidas; derivados de ácido tiocarbámico utilizados como fungicidas y carbamatos empleados como fungicidas (Ramírez y Lacasaña, 2014). Estas sustancias tienen una menor persistencia y toxicidad debido a que son rápidamente hidrolizados en el ambiente, tienen una gran inestabilidad química, y, por tanto, lábiles a procesos fotolíticos y de hidrólisis (Lin y col, 2007).

Organoclorados (OC): En la década de los 70 fueron los plaguicidas con mayor aplicación agrícola. Su estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados, lo que les confiere una alta estabilidad física y

química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos (Heck y col.,2007). Estas características van a favorecer su alta persistencia en el ambiente y su biomagnificación lo cual incrementa la complejidad de los efectos tóxicos (Darko y col., 2008). La información disponible, muestra que, en la fase ambiental, estas sustancias alcanzan entre el 75 y 100 % de su degradación en un rango de tiempo de 10 a 30 años (Sankararamakrishnan y col., 2005).

Organofosforados (OF): Son compuestos ésteres, amidas o tioles derivados de los ácidos fosfórico, fosfónico y fosforico. Se descomponen con mayor facilidad y se degradan por oxidación e hidrolisis, dando origen a productos solubles en agua, menos persistentes y poco acumulables en el organismo humano (Badii y Varela, 2008). El mecanismo de acción de estas sustancias se atribuye a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa la cual se encarga de la reducción de los niveles de acetilcolina; principal neurotransmisor del sistema central, en consecuencia, se conduce a una exacerbación de las respuestas en el sistema nervioso de los organismos impuestos (Zamy y col., 2004).

Piretroides: Son análogos derivados sintéticos de los productos naturales denominados piretrinas contenidos en las flores del género *Chrysanthemum*, cuyo polvo contiene del 1 al 3% de ingrediente activo (Rogg,2000). Están considerados entre los insecticidas más seguros y más utilizados como productos fitosanitarios, zosanitarios y como plaguicidas de uso doméstico, no obstante, en la actualidad están clasificados como agentes neurotóxicos (Anadón, 2015). Tienen una relativa selectividad, por lo que su toxicidad es baja en organismos no blancos; son metabolizados por hidrolisis, oxidación y conjugación, son rápidamente degradados en el ambiente, pues, aunque se absorben masivamente en el suelo, se eliminan fácilmente con el agua (Ferrer, 2003).

Desde 1980 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, definida

ésta como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un periodo de tiempo relativamente corto (OMS,2010) (Tabla 1). La toxicidad se va a medir a través de la dosis letal media o de la concentración letal media, ambos parámetros varían conforme a múltiples factores como la presentación del producto, la vía de entrada, la temperatura, la dieta, la edad, el sexo, etc. (Calvo, 2013). Por su vida media, los plaguicidas se pueden clasificar también en persistentes, moderadamente persistentes y no persistentes (Oyonarte y col.,2003) (Tabla 2).

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad, expresada en DL₅₀

Clase	Toxicidad	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrin
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malatión

Tabla 2 Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad

Persistencia	Vida media	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión
Persistente	De meses a 20 años	Aldrín, dieldrín
Permanentes	Indefinidamente	Productos a base de mercurio, arsénico, plomo

2.1.2.2 Efectos sobre el medio ambiente

La aplicación de plaguicidas ha sido un mecanismo eficiente para el cuidado de los cultivos. Sin embargo, el ingreso de estas sustancias al ambiente puede representar un alto riesgo para los sistemas biológicos (Palacio, 2007). Algunos problemas como la bioacumulación en zooplancton, en ictiofauna, y en aves han sido ampliamente documentados en el mundo (Cid y col., 2007). La contaminación provocada en el aire se debe principalmente a la incapacidad de la atmósfera de procesar ciertos productos químicos desprendidos por su uso o fabricación; tratamientos extensivos en avioneta pueden incidir tanto en la salud humana como en la fitotoxicidad a cultivos y, en buena extensión a la fauna al ser sometida a nubes contaminantes que reducen sus posibilidades de supervivencia (Reeves y col.,2015).

La aplicación aérea de los plaguicidas y su deriva (es decir, su arrastre, o la cantidad aplicada que sale del área tratada al ser arrastrada por el viento, volatilizarse, o lixiviarse), puede contaminar a otros cultivos, sus trabajadores, residentes de comunidades cercanas y a la vida silvestre que la circunda (Jaramillo y col.,2003). El agua es otra vía importante a través de la cual se extienden por el ambiente, bien por el uso de sustancias destinadas a la higiene pública o indirectamente por la movilización, de este modo, el plaguicida disuelto en agua puede ser desplazado por lixiviación pudiendo alcanzar el agua subterránea (Pitarch, 2001, buap).

Debido a la escorrentía de los distritos de riego o de las áreas de aplicación se pueden contaminar las aguas superficiales, desgraciadamente es frecuente que se laven los tanques y equipos de aplicación, en arroyos o canales, contaminándolos y afectando, corriente abajo a animales acuáticos, plantas, el fitoplancton, zooplancton y a los peces (Vilchez y col.,2001). Estos compuestos químicos provocan la muerte de varias formas de vida, ya sea por intoxicación directa causada por la acumulación en ciertas áreas o el

envenenamiento por ingestión de peces contaminados (Sánchez y Bravo, 2006 buap).

Existen mecanismos de transporte ambiental, estos son la forma en que se mueven los plaguicidas en el medio, desde la fuente emisora hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano o biota (Jáquez y col., 2003). Se verán involucrados los movimientos de gases, líquidos y partículas sólidas dentro de un medio determinado y a través de interfaces entre el aire, el agua, sedimento, suelo, plantas y animales.

Dispersión: Ocurre en la dirección del movimiento del agua debido a las diferentes velocidades de flujo dentro de los poros del suelo (Albero,2008). La capacidad del agua para transportar las moléculas de plaguicidas depende del tamaño y continuidad de los poros presentes en el perfil del suelo (Aparicio y col., 2015).

Lixiviación: La lixiviación de plaguicidas a través del suelo es un proceso frecuente por efecto de las aguas de lluvia o riego (Cruz y col.,2007). Para que se produzca este proceso es fundamental que el producto presente una adecuada solubilidad en agua, el movimiento se puede realizar asociado al agua o en disolución, suspendido en ella o emulsionado, la magnitud depende de la naturaleza del producto utilizado, y sobre todo de la composición coloidal del suelo y de sus posibilidades de adsorción (Araki y col.,2003).

Volatilización: Consiste en el paso del plaguicida a la fase gaseosa, a través de la cual puede transportarse a lugares muy alejados de la aplicación. Se estima que es la mayor causa de pérdidas, ya que se pueden esperar pérdidas por volatilización de hasta un 90% en un periodo de tiempo de 48 horas (Alcalá,2007). La magnitud de este proceso va a depender de la presión del compuesto utilizado, de esta manera los que tienen mayor presión de vapor tenderán a volatilizarse si no son muy solubles en agua (Moreno y col.,2014).

Adsorción: Se va a definir como la fijación de moléculas en la superficie de un sólido, en este caso la adsorción del plaguicida va a depender de sus propiedades químicas, al igual que las características del suelo como la textura, contenido de materia orgánica y el pH (Díaz,2007). Este proceso es un factor importante que determinará el grado de movilidad en el suelo de un compuesto (González y Hansen, 2014).

Absorción por plantas y microorganismos: Existen plantas y microorganismos que acumulan y metabolizan plaguicidas, existe una gran variedad de especies resistentes a estos, convirtiéndolos a compuestos no tóxicos (Rivera y col., 2010). Son utilizados como técnicas de biorremediación del suelo aprovechando el potencial metabólico de algunos hongos y bacterias (*Lactobacillus*) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples, poco o nada contaminantes (Hernández y col.,2015).

2.1.2.3 Efectos sobre el ser humano

La utilización de plaguicidas no solo ha sido un beneficio innegable para la agricultura, si no que brindan también la ventaja de evitar la propagación de enfermedades por vectores como insectos, ácaros y roedores (Moreno y col., 2007). El uso de estos contribuye a mejorar la alimentación, ya que permite tener una mayor disponibilidad de los alimentos y aumenta su vida de anaquel (Weiss y col.,2004). El hecho que sean compuestos químicos utilizados extensivamente en el mundo tiene como resultado una continua exposición de la población a partir de diferentes fuentes, lo que constituye una amenaza grave a la salud pública (Alavanja y col.,2004).

Los efectos tóxicos sobre la población humana han sido motivo de preocupación a través de los años, sin embargo, los mecanismos de toxicidad de la mayoría de los plaguicidas son poco comprendidos a la fecha (Ferrer, 2003). Las consecuencias para la salud pueden ser tanto inmediatas, como manifestarse tiempo después, entre los efectos crónicos se pueden incluir cáncer, problemas reproductivos (muerte fetal, abortos espontáneos y alteración de la fertilidad), alteración del sistema inmunológico, lo que puede

bajar las defensas del cuerpo haciéndolo más propicio a contraer otras enfermedades; disrupciones hormonales, entre otros (Benítez,2012). Otros perjuicios a la salud pueden ser dolor de cabeza, mareos, malestar en el pecho, diarreas, sudor, vómitos y secreciones por la boca y la nariz, provocando así intoxicaciones agudas (Montaña y col.,2008).

2. 2. Toxicidad aguda

La toxicidad aguda puede ser oral (por ingestión), dérmica (por contacto) y por inhalación. Implica casi exclusivamente al agricultor y en excepciones, a la población adyacente a campos de cultivo (Dawson y col.,2010). Suelen presentarse en épocas de aplicaciones en forma de picores, irritaciones oculares, afecciones bucofaríngeas, tos, náuseas, vómitos, mareos y dolores de cabeza. Este tipo de intoxicación es consecuencia directa de dos eventos importantes: la preparación de las formulaciones por parte del agricultor sin seguir las indicaciones del producto y sin las protecciones adecuadas; y por otra parte, la propia técnica de aplicación (López, 2005).

2.2.1 Toxicidad crónica

Esta provoca una mayor inquietud por parte de los consumidores y la que, por otra parte, genera controversia por la escasez de datos detallados para evaluar sus efectos sobre la salud (Fernández y col.,2010). La toxicidad crónica a los plaguicidas está determinada por la ingestión de alimentos vegetales afectados por residuos de dichas sustancias, alimentos animales afectados por la bioacumulación y la ingestión de agua directamente contaminada (Pose y col.,2000). Las manifestaciones clínicas derivadas de esta situación corresponden a efectos cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos, neurotóxicos, inmunológicos; afectan a la piel, al aparato respiratorio y se ha dado a conocer que afectan de manera importante el sistema endocrino y el sistema reproductor (Pinilla y col.,2014).

La absorción va a depender de la vía de entrada y las propiedades de la formula, que son los que determinan que un producto cruce las barreras del cuerpo hasta alcanzar la sangre u otro tejido en particular (Barrero y Fernando, 2010). En el medio laboral, la vía dérmica es la más importante; los plaguicidas liposolubles se difunden a través de los componentes grasos de la piel y la sangre, mientras que los de moléculas hidrosolubles lo hacen a través del material proteico intracelular (Vargas y Vallejo, 2002).

Dentro de la población en general la vía más importante es el aparato digestivo a partir de la ingestión de alimentos y agua contaminados, por otra parte, se encuentra en menos frecuencia la ingestión deliberada o accidental (Goldman y col.,2004). La estructura del epitelio alveolar favorece el intercambio de gases en el pulmón; sin embargo, también permite una rápida y eficiente absorción de los plaguicidas, que por vía aérea son captados rápidamente hacia el torrente sanguíneo (Salazar, 2014). En el ámbito laboral el uso de fumigantes en forma de gases, polvos, vapores y nebulizaciones colocan a la vía respiratoria como la segunda en importancia (Crespo y Valero, 2001).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) los plaguicidas en desarrollo causan un millón de casos de intoxicación y cerca de 2, 000 muertes anualmente (Martínez y Valenzuela, 2007). Desde 1995 se relaciona el carcinoma mamario con algunos productos de exposición ambiental, como los compuestos organoclorados. Según INEGI el carcinoma de mama femenina fue el padecimiento responsable de 3,220 defunciones registradas en 1997 en México (Waliszewski y col.,2003).

En México, se han reportado casos por intoxicaciones agudas por plaguicidas desde 1993, lamentablemente estas cifras no nos muestran la realidad ya que se calcula que por cada caso registrado cinco al menos no se contabilizan (Cortés y col.,2007). Se pueden mencionar otros ejemplos como los reportados por Aranguré y col., (2007) y Aguilar y col. (2007), los cuales evaluaron la bioacumulación de plaguicidas organofosforados en sedimentos

y peces, realizado durante periodos de estiaje y lluvia; encontrando niveles altos de acuerdo a el Codex Alimentarius y a la FDA.

En Colombia, entre 2010 y 2012 se aumentó la producción de plaguicidas llevando como consecuencia a estudios sobre los posibles efectos adversos de estos sobre todo en los agricultores (Narváez y Castañeda,2015). Así como sobre la exposición y su uso, se desconoce el comportamiento de la mortalidad por intoxicación debido a que son escasas las investigaciones epidemiológicas sobre el tema (Orozco y Lavalle, 2014). Los informes de vigilancia epidemiológica entre el 2011 y 2012 reportaron 305 muertes por intoxicaciones con plaguicidas, 68% de ellas debidas a intoxicaciones químicas (INS,2012). Entre 1998 y 2011, se registraron un total de 4,853 muertes relacionadas con intoxicación, en donde las mayores tasas de mortalidad se registraron en zonas rurales, entre los 15 y 40 años de edad y en hombres (Vides, 2011).

En Costa Rica las tierras dedicadas a la labranza en el 2014 fueron de 167, 133. 4 de hectáreas de las cuales el 70% responden a los cultivos anuales (INEC, 2014), lo que implica una alta demanda de productos químicos para combatir enfermedades en cultivos de importancia. Rodríguez (2015) utilizó un estudio de diagnóstico para determinar los plaguicidas mayormente aplicados en tierras costarricenses. En cada una de las etapas de desarrollo de su estudio fue posible identificar los principios activos con mayor significancia en el consumo nacional, así como mencionar sus efectos.

Uno de los principios activos mencionados es el metamidofos conocido por tener efectos teratogénicos y reproductivos; específicamente en Costa Rica existen antecedentes de exposición de padres de familia a este plaguicida en un estudio de leucemia infantil entre 1995 y 2000 (Ávalos, 2008). El endosulfán catalogado como moderadamente peligroso según OMS (2005) y altamente tóxico según EPA (2015), ha sido encontrado en una gran cantidad de cultivos, siendo el más utilizado el cultivo del café (Pérez, 2014).

La EPA estimó que en 2007 se utilizaron alrededor de 5.1 billones de libras de plaguicidas solo en Estados Unidos (Donaldson y col.,2011). En un estudio

reciente se encontró que la tasa de incidencia anual por intoxicaciones es de 53.6 por cada 100,000 agricultores (Calvert y col., 2008). Los niños constituyen otro grupo que está en alto riesgo sobre los efectos adversos de los plaguicidas, es la novena causa de pediatría en Estados Unidos y el séptimo líder de causa de muertes entre infantes de 3 a 13 años de edad (Bronstein y col.,2009), esto a causa de su mal almacenamiento y carencia de información.

2. 3. Técnicas de determinación de plaguicidas

La elevada toxicidad de los plaguicidas presentes en el medio ambiente obliga a disponer de métodos analíticos viables que permitan el control de los compuestos tóxicos en diversos tipos de muestras (Díaz, 2007). La elección de una técnica analítica adecuada para la determinación de plaguicidas va a depender de una variedad de factores incluyendo las propiedades de los analitos, efectividad, rapidez, fiabilidad, selectividad y sensibilidad, coste y capacidad del análisis (Gaal y col.,2005). En la actualidad, la cromatografía de gases es la técnica ampliamente utilizada para el análisis multiresidual de plaguicidas en diversas matrices, dada su elevada sensibilidad y selección de este tipo de compuestos (Guntuzweiny, 2000).

Para la determinación tanto en muestras biológicas, como de suelo y agua, se necesitan una serie de etapas previas que constituyen lo que se llama proceso analítico, de otra manera es imposible realizarse de manera directa:

1. Toma de muestra: almacenamiento y conservación
2. Preparación de la muestra (etapa de extracción y separación, etapa de purificación y etapa de pre concentración).

2.4. Preparación de la muestra

En la etapa de preparación de la muestra se incluye generalmente un paso de extracción de los plaguicidas o los metabolitos y otro alternativo de purificación, que debe ser eficiente para separar a los analitos de los

interferentes que forman parte de una muestra compleja (Esteve, 2007). Se mencionan en revisiones de literatura métodos convencionales de extracción mediante disolventes orgánicos o mediante extracción en fase sólida dispersiva, así como la extracción por Soxhlet (López y col., 2001). La elección de la técnica analítica para la determinación instrumental depende de factores de sensibilidad; en el caso de los plaguicidas, esta determinación se lleva a cabo mediante técnicas cromatográficas, cromatografía de gases (GC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Eraso y Quenguan,2015).

Recientemente, técnicas como la espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y espectrometría en tándem masas (MS/MS) han sido satisfactoriamente aplicadas para la determinación de plaguicidas y/o metabolitos en cualquier tipo de muestras incluidas las de origen biológico (Martínex Vidal y col.,2000).

2. 5 Métodos de extracción para muestras líquidas

2. 5. 1. Extracción líquido-líquido

Se basa en la distinta distribución de los componentes de la muestra entre dos componentes inmiscibles al agua, donde matriz y analito tiene diferente solubilidad en cada uno de ellos (Fernández y Hernando, 2002). Habitualmente, se suelen realizar entre dos y tres extracciones para asegurar una extracción cuantitativa del analito (Luque, 2003). El equilibrio químico que rige el proceso de partición de un analito entre dos disolventes puede modificarse de varios modos: modificando el pH, formando pares iónicos, formando complejos con iones metálicos o añadiendo sales neutras a la fase acuosa para reducir la solubilidad (Esteve, 2007).

Ventajas de la metodología:

- Se puede utilizar un amplio rango de disolventes, lo cual la hace más versátil.

- Es un método simple, ya que no requiere el uso de instrumentaciones muy complejas.

Desventajas de la metodología:

- En muestras que contienen surfactantes o grasas incluidas, se producen emulsiones que son difíciles de romper; por lo que ocasiona agregar otro paso al método como sería centrifugación, filtración o el agregado de diferentes tipos de sales.

2.5.2 Extracción en fase sólida

La SPE es un método rápido, confiable y preciso para la preparación de la muestra, limpieza y concentración del analito de interés, libre de interferencias y en una adecuada concentración para su detección y medición (Valls, 2004). Este tipo de extracción consiste en poner en contacto una muestra gaseosa o líquida con una fase sólida, donde el analito es adsorbido selectivamente sobre la superficie del sólido (Moors, 1994). Consta principalmente de cuatro etapas: acondicionamiento del soporte, adsorción de la muestra, lavado de interferentes y finalmente elución del analito de interés (Ballesteros, 2014). En la figura 1 se muestra un esquema del procedimiento que se sigue.

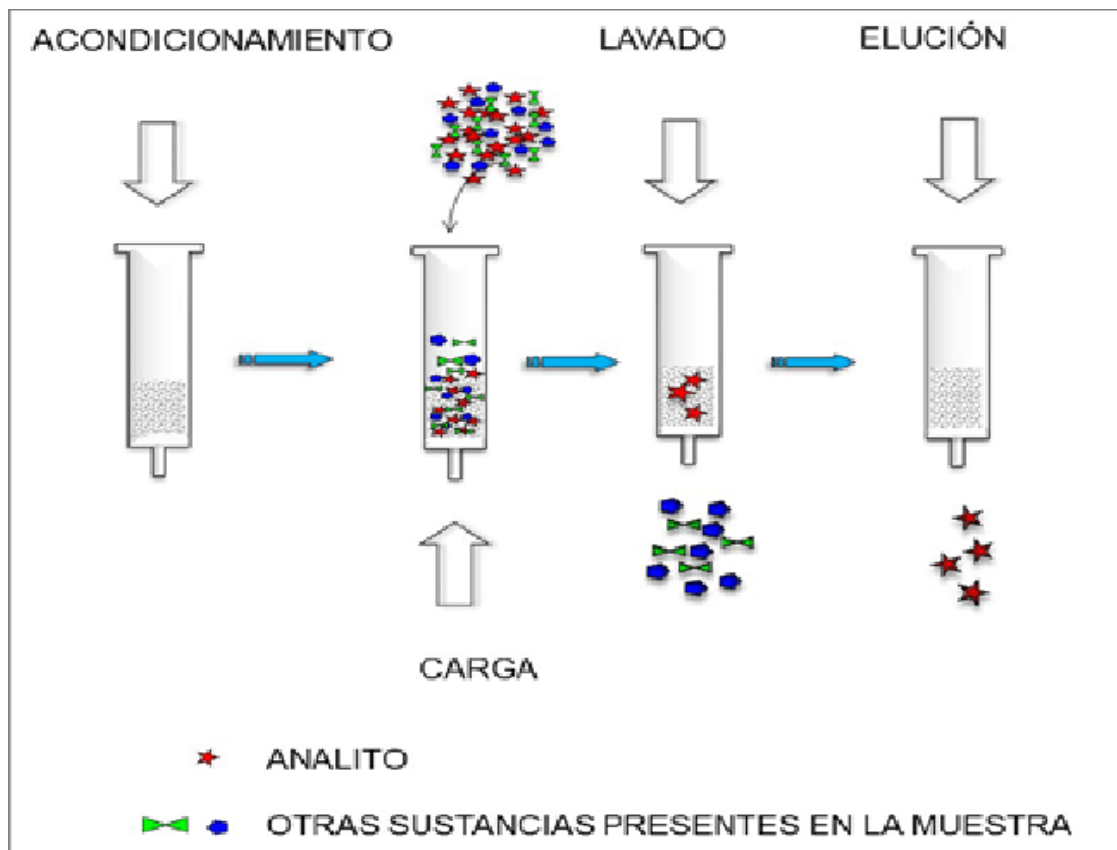


Figura 1. Esquema de los cuatro pasos en extracción en fase sólida
 . (www.starlabsci.com)

2. 6 Métodos de extracción para muestras sólidas

2.6.1 Extracción líquido-sólido

El empleo directo de disolventes para la extracción de muestras medioambientales es uno de los métodos más antiguos y utilizados en la química analítica (Guerrero y Velandia, 2014). Se pueden clasificar en dos grupos: aquellos que necesitan un aporte de calor (Soxhlet) y aquellos que no necesitan calor, pero necesitan un tipo de agitación (agitación o sonicación) (Romero y col.,2008).

2. 6. 1.1 Soxhlet

La extracción Soxhlet fue desarrollada por F. Soxhlet en 1879 y ha sido durante muchos años el método estándar o de referencia de preparación de un extracto a partir de matrices sólidas (Tirado y col., 2006). Debido a esto, es una técnica ampliamente desarrollada, que se ha utilizado para la certificación de materiales por diversos organismos y está recomendada en el método EPA 3540 (EPA,1996). Para su funcionamiento la muestra se introduce en un cartucho poroso de celulosa, que actúa como filtro, este cartucho se coloca en el interior del tubo Soxhlet, como indica la figura 2, en el matraz de fondo redondo se introduce el disolvente orgánico, que al aplicar calor se evapora, llegando al refrigerante y destilando. El disolvente va llenando de este modo el cuerpo del Soxhlet, y retorna de forma discontinua al matraz mediante un mecanismo de sifón (Cardona y col.,2012).

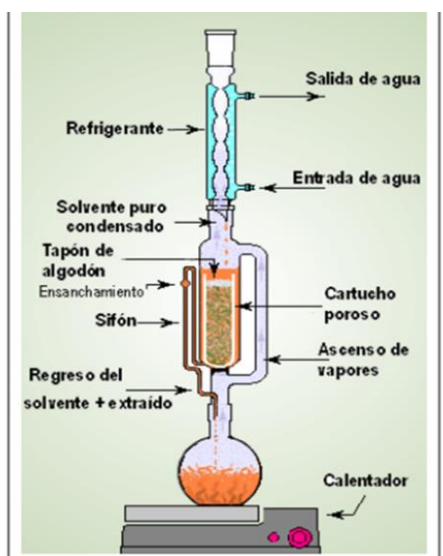


Figura 2. Esquema de un extractor Soxhlet

(Nuñez,2008)

Las metodologías analíticas utilizadas para la determinación de residuos de plaguicidas son muy variadas dependiendo del tipo de muestra, el tipo y número de plaguicidas que se quieran analizar (Aranzazu, 2015). Durante el siglo XX el avance instrumental en química analítica ha sido tan importante que, hoy en día, su aplicación resulta imprescindible en ámbitos como el medioambiental, forense, farmacéutico y seguridad alimentaria, entre otros (Dosal y Llano, 2014). La problemática del análisis de muestras complejas reside en la habilidad para desarrollar un método adecuado en base a las propiedades y concentración de los analitos, así como las características de la matriz (Hernández y Ramírez, 2009):

Los compuestos a analizar se pueden volver problemáticos, desde el punto de vista analítico, ya que existen aquellos que durante alguna de las etapas del análisis se degradan o se pierden, de modo que su determinación resulta complicada (Lehotay, 2005). Algunos de los plaguicidas conocidos por ser problemáticos en cuanto a su determinación son folpet, captan, clorotalonil, piretrinas y piretroides y ditiocarbamatos (Biasco, 2004). Los factores que pueden ocasionar estas pérdidas pueden tener distinto origen (Mitra, 2003):

- Físicos: Pueden producirse pérdidas por volatilización, difusión y/o adsorción.
- Químicos: Se deben a reacciones fotoquímicas, de hidrólisis, o de oxidación, entre otros.
- Biológicos: Producidos por reacciones enzimáticas y biodegradación.

2. 7 Acoplamiento de cromatografía-espectrometría de masas

2. 7. 1. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es la técnica preferida para la determinación de compuestos volátiles y semi-volátiles, térmicamente estables. La fase móvil es un gas que recorre el sistema desde el inyector a través de la fase estacionaria hasta el detector, de modo que participa en el transporte de los

analitos pero no interacciona con ellos (Grob, 2004). La introducción de las muestras en el sistema cromatográfico se realiza mediante el uso de un inyector, en donde la muestra se introduce en un tubo de evaporación con el propósito de evaporar la muestra y mezclar los analitos en fase vapor con el gas portador (Leyes y col.,2009).

Tras vaporizar la muestra se produce una división de flujo, de manera que únicamente una fracción de la muestra se transfiere a la columna y la mayor parte se elimina junto al gas portador a través de una válvula (Alba,2014). Se realiza la transferencia de la totalidad de la muestra vaporizada a la columna para su análisis.

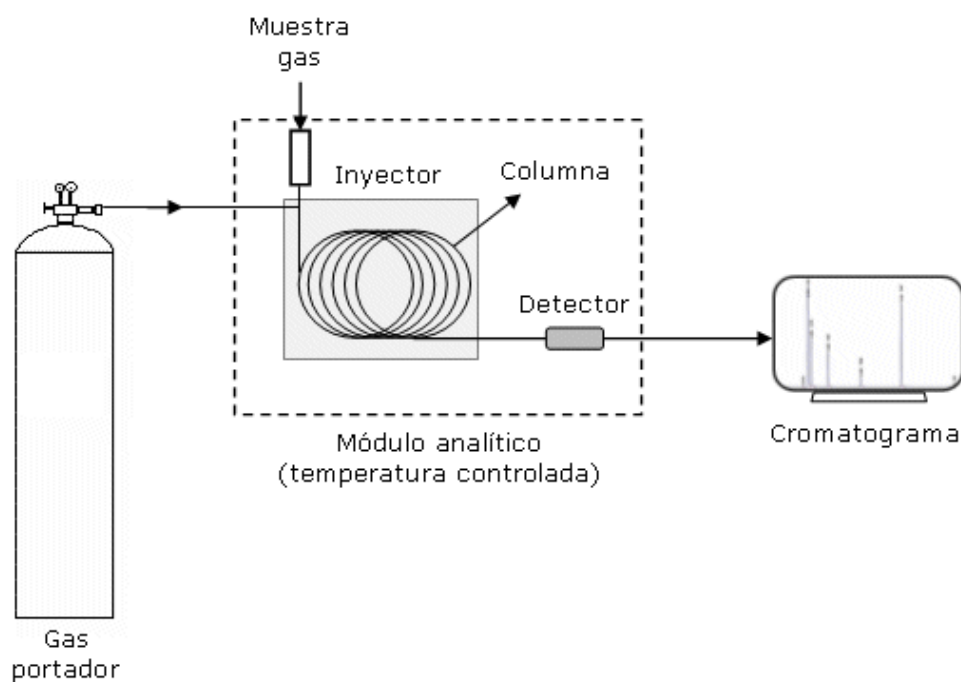


Figura 3. Esquema de un cromatógrafo de gases

2.8. Cromatografía líquida

La cromatografía líquida puede ser aplicada en una gran variedad de compuestos químicos, incluyendo aquellos que presentan baja estabilidad térmica, elevada polaridad e incluso especies iónicas (Ardrey, 2003). La fase

móvil es un líquido, normalmente de una polaridad, que fluye a través de la fase estacionaria contenida en una columna cerrada. La separación se produce como resultado de la interacción de los analitos con ambas fases, lo que provoca que se muevan a distinta velocidad por el sistema (Hoffmann, 2012):

En función de las características de la fase estacionaria, y de los mecanismos de retención, la cromatografía líquida se clasifica en cromatografía de partición, de adsorción, de intercambio iónico, de exclusión y de afinidad (Grimalt, 2005).

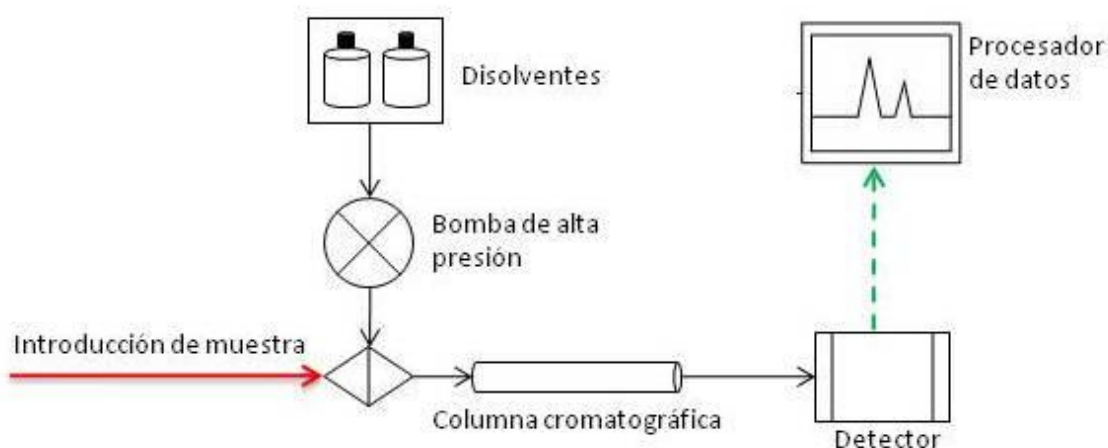


Figura 4. Esquema de un cromatógrafo líquido de alta eficacia

2. 9. Espectrofotometría UV/Visible

Hoy en día las técnicas antes mencionadas son de las más importantes y utilizadas por su exactitud y precisión, sin embargo, tienen algunas desventajas como costos elevados, complejidad y labor intensiva (Bautista,2001); los métodos colorimétricos tienen ventajas, incluyendo límites de detección bajos, alta sensibilidad, rapidez en su análisis, entre otros

(Romero,2009), debido a esto ha ido en incremento su aplicación en análisis de residuos.

La espectrofotometría ultravioleta visible es comúnmente utilizada en la determinación de componentes que son difíciles de analizar por el cromatógrafo: herbicidas y plaguicidas clorados han sido detectados por esta técnica (Márquez y col., 2017). Muchos organoclorados y organofosforados han sido determinados bajo estas técnicas, sin embargo, han reducido su auge por la utilización de adaptaciones cromatográficas (Moreno y Salazar, 2017); Sin embargo, en países tercermundistas en donde la instrumentación muy sofisticada no está disponible por los altos costos, la espectrofotometría sigue siendo una tecnología en disposición (Toral y col., 2001).

Un método colorimétrico fue reportado por Harikrishna (2001) para la cuantificación de carbofuran en muestras de arroz, trigo y agua. Este método está basado en la reacción de carbofuran y fenol con aminoacetanilida, produciendo un cromóforo amarillo con una absorción máxima de 465 nm (de Brito,2012). Cesnik y Gregoric (1990), validaron un método para la determinación de ditiocarbamatos en muestras de manzana, lechuga, papa y tomate; en este caso se forman dos complejos amarillos de ditiocarbamato cúprico los cuales son medidos en conjunto por espectrofotometría ultravioleta visible. Es específico al grupo funcional tiocarbamato, el que da los complejos de color con cobre (II).

2.9.1. Método espectrofotométrico basado en ensayo de Ellman

Existen algunos reportes de análisis cuantitativos y semi-cuantitativos de residuos de plaguicidas basados en sensores colorimétricos, así como la técnica tradicional basada en el ensayo Ellman que ha sido utilizada desde 1950 para la determinación de organofosforados y carbamatos (Repetto, 2000), que hoy en día se ha convertido en un método de detección rápido y preciso (Duque y col., 2014). Esto porque el color se puede observar directamente a simple vista, estudios recientes se han enfocado en análisis

por colorimetría basados en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Simonato y col.,2011).

A grandes rasgos consiste en una detección colorimétrica que utiliza acetilcolina como sustrato y valora la colina liberada por la intensidad del color amarillo al reaccionar esta sustancia al reaccionar esta sustancia con ditiobisnitrobenzoato, formando 5-tionitrobenzoato que presenta un fuerte máximo de absorción de 412 nm (Flanagan y col., 2007). Autores han realizado estudios exhaustivos de la técnica y de las condiciones del ensayo, que se adapta a la determinación en sangre total, eritrocitos lavados y en tejidos (Cerón y Tecles, 2003).

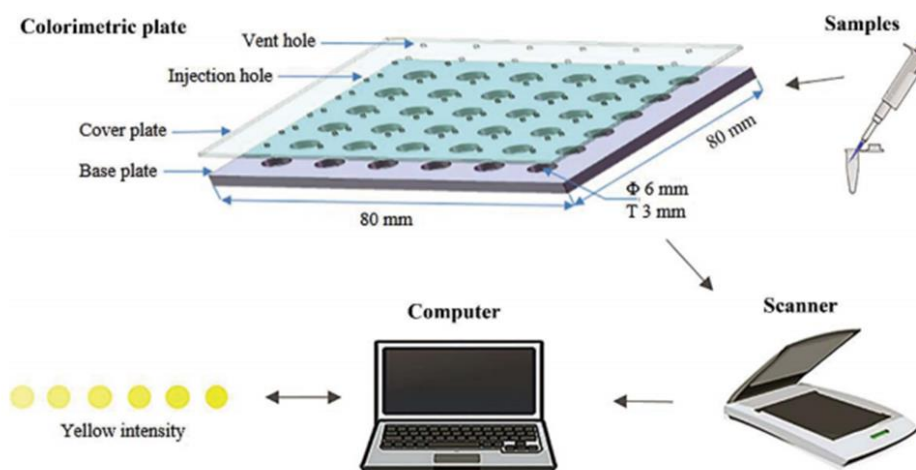


Figura 5. Diagrama esquemático del sistema de detección colorimétrico

2.9.2. Detección de residuos de plaguicidas organofosforados por colorimetría directa

La medición de organofosforados en fluidos corporales, como orina y suero, puede ser importante para el aviso y manejo médico de pacientes sospechosos expuestos a estos compuestos. Esta técnica ha sido aplicada cualitativa y cuantitativamente a lo largo de los años para este tipo de muestras, en comparación a otras técnicas, en donde la preparación de las muestras consume mucho tiempo (Martínez,2014). 4- (4-nitroencil) piridina (NBP) se utiliza como reactivo cromogénico general para la detección de estos

compuestos. Este reactivo se utilizó por primera vez para la detección de agentes alquilantes como el yodometano (Kohler, 1930). Tiempo después fue utilizado para la detección de organofosforados con la ayuda de reactivos colorantes (Watts, 1970), esta reacción química fue reportada por primera vez por Kremer y Gamson (1965).

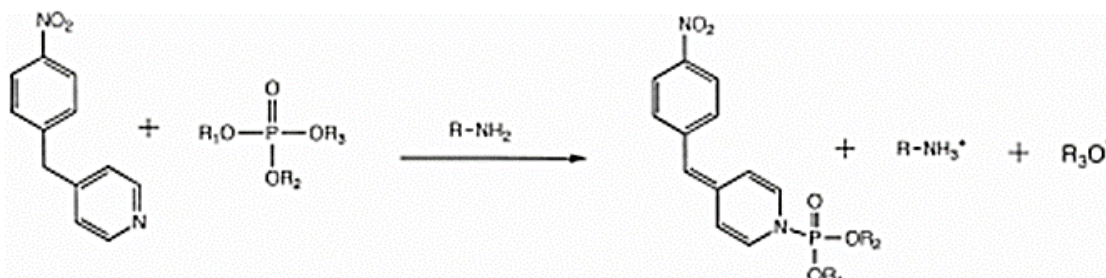


Figura 6. Esquema de la reacción química entre 4-(a-nitrobencil) piridina y organofosforados

La reacción química que produce el color se encuentra dividida en dos pasos (Figura 7): en la reacción (1), el reactivo 4-(4-nitrobencil) piridina (NBP) se comporta como un nucleófilo hacia el grupo alquilo R de RX, produciendo una sal de piridinio incolora II (Bedford y Robinson, 1972). Siendo el NBP un nucleófilo bastante débil, la reacción se tiene que llevar a cabo en calor (Preussmann y col., 1970). La reacción (2) se lleva a cabo a temperatura ambiente, en donde una base orgánica fuerte, abstrae un protón del grupo metileno (CH) de la sal de piridinio (antes formada), para producir un producto sin carga, III, el cual es coloreado.

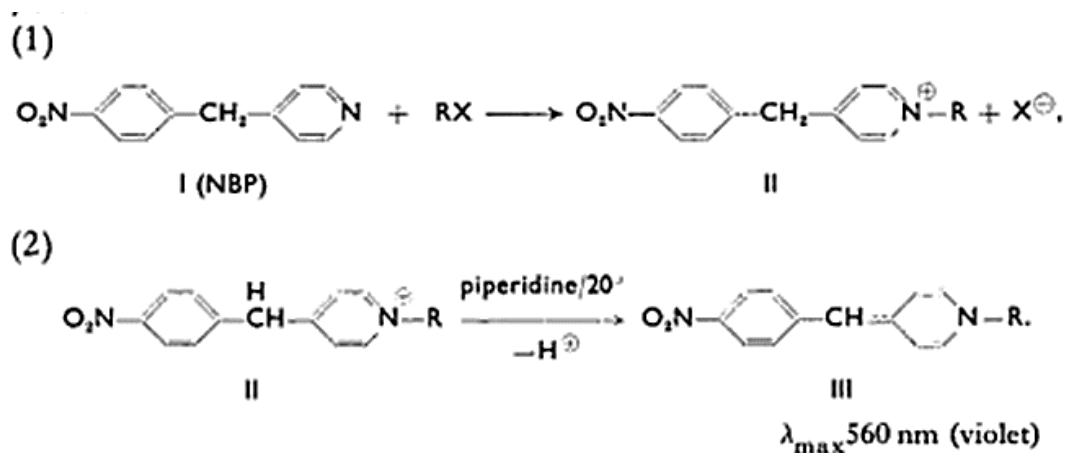


Figura 7. Reacción de color de nitrobencilpiridina

Aunque el grupo nitro en el anillo del benceno no participa en la reacción (I), tiene dos funciones en la reacción (II): contribuye en la estabilización de los protones de metileno en la sal de piridinio, facilitando así la abstracción de uno de ellos por piperidina; y forma una parte integral del cromóforo conjugado del producto, dando aumento a la absorción en la región visible a 560 nm.

En el año 2000 esta técnica fue aplicada por Namera y col., en donde se hicieron adecuaciones para determinar organofosforados en muestras de orina humana. Los agentes colorantes fueron agregados a la muestra de orina para después llevarla a calentamiento, formándose un color de rosa a púrpura estable por aproximadamente dos horas. El método fue evaluado mediante el uso de doce muestras de orina de agricultores intoxicados por plaguicidas, encontraron un límite de detección de 0.3 µg/ml. Los resultados obtenidos fueron comparados después con cromatografía de gases en donde se observó una similitud del 100 %.

Debido a que no existen reportes en donde se utilice esta reacción en muestras de suelo y agua de uso agrícola, en el presente trabajo se implementó esta técnica en 25 muestras de suelo y 25 muestras de agua de diferentes regiones del estado de Coahuila y Nuevo León con la finalidad de proponer este método de detección como opción viable.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, así como en las zonas productoras de papa y manzano de los estados de Coahuila y Nuevo León.

3.1. Procedimientos

3.1.1. Muestreo

El muestreo fue llevado a cabo en ranchos de diferentes localidades del estado de Coahuila (Huizache, Huachichil, Tunal y los Lirios) y Nuevo León (Navidad) dedicados a la producción de papa y manzano. Tomando muestras de suelo y agua de cinco ranchos por cada localidad; para suelo se seleccionó una hectárea representativa, de la cual se tomaron diez puntos bajo el sistema de zigzag (EPA, 2011), todas las muestras se tomaron de la capa superficial (30 cm). El muestreo de agua se llevó a cabo de acuerdo a la NOM-014-SSA1-1993, en donde viene establecido desde la preparación de los envases para la toma de la muestra, hasta su manejo y almacenamiento.

3.2. Preparación de las muestras

Suelo: el pretratamiento en las muestras de suelo fue bajo extracción Soxhlet, metodología descrita por Franz Von Soxhlet en 1879. Para realizar dicha metodología (Figura 8) se pesaron 10 g de suelo, el cual fue colocado en papel filtro doblado e introducido en el sifón del equipo. Enseguida se vertieron 130 mL de solvente hexano-acetona en una proporción 5:1 en un matraz de fondo plano, para posteriormente proceder a montar el equipo. Una vez armado el equipo se encendió la parrilla de calentamiento a 180 °C y se prendió la bomba de circulación. Una vez iniciada la evaporación y condensación del solvente se completaron un total de 12 ciclos dentro de un rango de 4 a 5 horas. El producto final fue guardado en frascos ámbar.



Figura 8. Extracción por Soxhlet

Agua: Se llevó a cabo por extracción líquido-líquido (Figura 9), dicha extracción puede ser definida como la transferencia de una sustancia X desde una fase líquida "A" a otra fase líquida "B", inmiscible con la anterior (Ritcher y col., 2000). En primer lugar, se vertieron 60 mL de solvente hexano-acetona proporción 5:1 en el embudo de decantación, a continuación, se colocaron 60 mL de la muestra para posteriormente agitar por 1 min y dejar reposar otros 15 min hasta observar la separación de fases, recuperando la fase orgánica. Se repitió la operación tres veces, el producto recuperado se guardó en frascos ámbar.



Figura 9. Extracción líquido-líquido

3.3. Estandarización para la determinación de plaguicidas organofosforados

Se agregaron 0.2 mL de NBP (45% de acetona) a 2 mL de muestra, mezclándolo por 30 segundos en vortex. La mezcla se llevó a calentamiento hasta 100 °C por 20 min en baño maría, para después dejar enfriar a temperatura ambiente. Se agregó 0.2 mL de TEP y 2 mL de éter dietílico, posteriormente se extrajeron los complejos de color formados (Figura 10) vertiéndolos en tubos de ensaye de borosilicato para su análisis mediante espectrofotómetro.



Figura 10. Metodología por colorimetría directa

3.3.1. Preparación de estándares

Previo a la cuantificación de residuos de los plaguicidas se realizó una curva de calibrado de cada producto, utilizando seis estándares los cuales se obtienen a partir de cada producto. La preparación de los estándares se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita anteriormente, se prepararon seis soluciones en un rango de 0.001 a 0.1 mg/mL para realizar la curva de calibrado previa a la cuantificación de plaguicidas. Se utilizaron seis plaguicidas de la familia de los organofosforados y un neonicotinoide para corroborar que esta técnica es selectiva para organofosforados. Se obtuvo el límite de detección de cada producto (Tabla 3).

Tabla 3. Límites de detección ($\mu\text{g/ml}$) por plaguicida

Compuesto	Límite de detección ($\mu\text{g/ml}$)
Naled	0.3
Ometoato	0.3
Profenofos	0.3
Acefato	0.3
Diazinon	0.3
Dimetoato	0.3
Imidacloprid	No reacciona
Metamidofos	0.01
Malathion	0.1
Clorpirifos	0.5

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Curvas de calibrado

A continuación, se presentan las curvas de calibrado obtenidas. Con los valores de las diferentes concentraciones y utilizando un filtro de 540 nm, se obtuvieron las diferentes absorbancias, con las cuales se calculó la ecuación de la recta, para utilizarla como referencia en las muestras a estudiar y así poder determinar los residuos de plaguicidas.

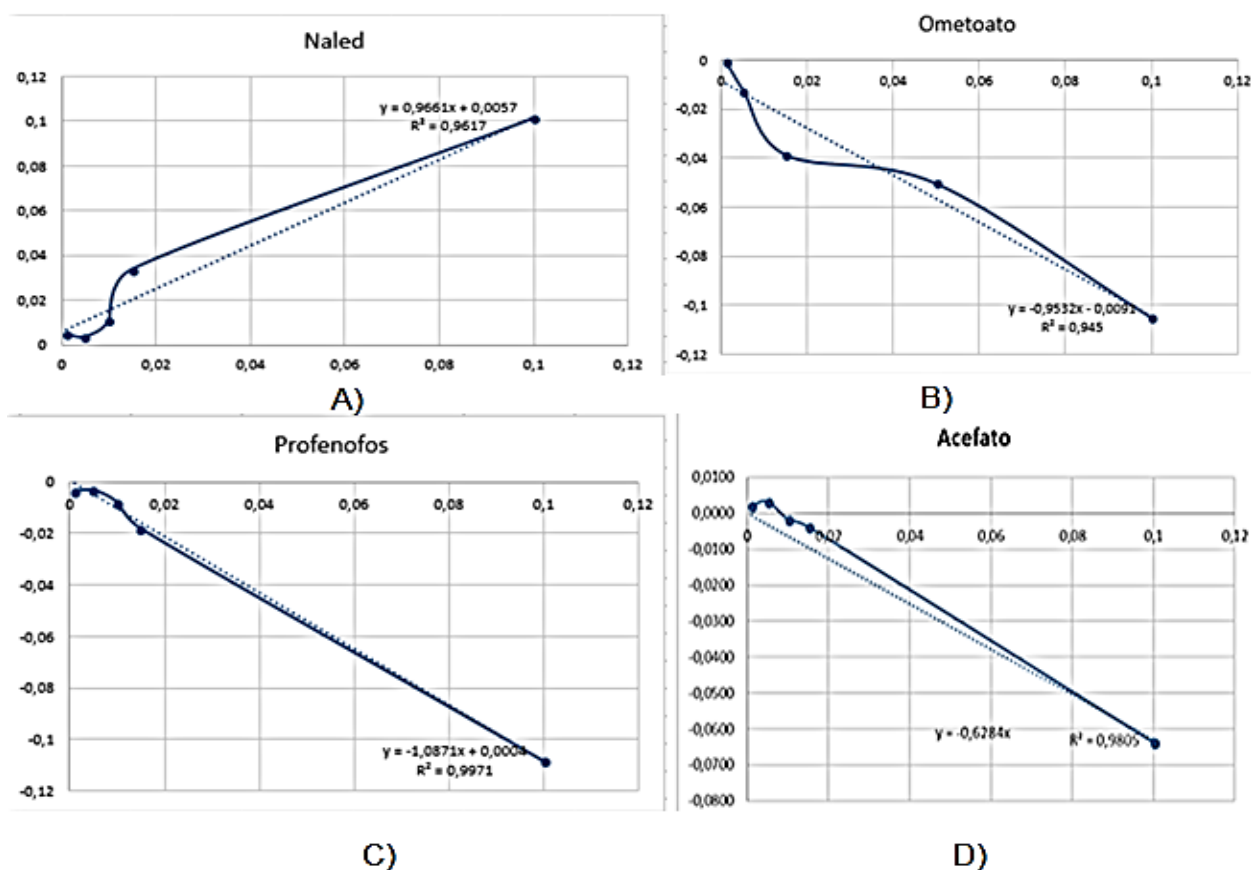


Figura 11. Curvas de calibrado.

A) Naled, B) Ometoato C) Profenofos D) Acefato

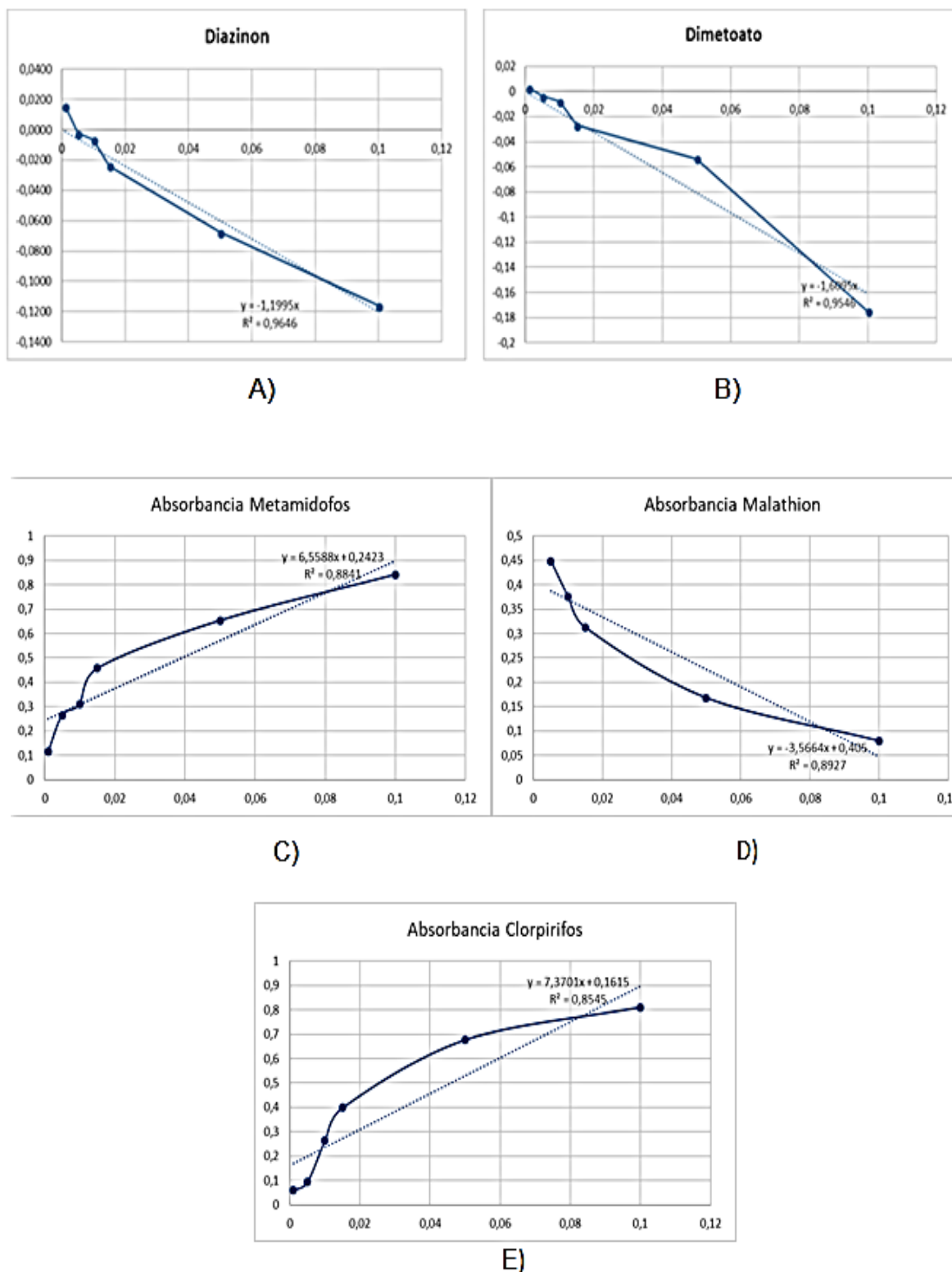


Figura 12. Curvas de calibrado

A) Diazinon B) Dimetoato C) Metamidofos D) Malathion E) Clorpirifos

4.2. Determinación de residuos en muestras de suelo y agua en el cultivo de papa

Como se describió en la sección de metodología se muestrearon tres localidades de producción papera con cinco ranchos en cada una, en la tabla 4 podemos observar que los residuos de plaguicida en muestras de suelo, la región de Huizache presentó un número mayor de muestras con residuos en un 90% con el producto Naled. Por otro lado, en la tabla 5 se muestran los resultados en muestras de agua, su incidencia es menor, se encontró Naled en un 20% del total de las muestras, seguido por el resto de los insecticidas en un 10%.

Los límites máximos de residuos señalados por el Codex Alimentarius indican residuos presentes dentro o en la superficie de los alimentos, se basan en datos sobre residuos obtenidos en ensayos supervisados (Aquino y Castro,2008), sin embargo, hasta el momento no existen datos de límites de residuos en muestras de suelo de uso agrícola. En papa y en general en frutas esta establecidos los siguientes valores: 0.01 mg/kg para ometoato, 0.05 mg/kg para profenofos, 0.5 mg/kg para dimetoato y malathion (FAO,2017).

Tabla 4. Concentraciones de plaguicidas en muestras de suelo en el cultivo de papa

Localidad		Naled	Ometoato	Profenofos	Acefato	Diazinon	Dimetoato	Metamidofos	Malathion	Clorpirifos
		Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Huachichil	A	5.183 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.77 µg/g	0.538 µg/g	2.60 µg/g
	B	11.224 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.329 µg/g	0.228 µg/g	1.10 µg/g
	C	10.939 µg/g	1.716 µg/g	1.799 µg/g	6 µg/g	1.3 µg/g	1.125 µg/g	1.120 µg/g	0.785 µg/g	3.80 µg/g
	D	(-)	(-)	(-)	6 µg/g	1.34 µg/g	1.125 µg/g	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Huizache	A	15.549 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.48 µg/g	0.333 µg/g	1.62 µg/g
	B	10.511 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	11.230 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.55 µg/g	0.388 µg/g	2.76 µg/g
	D	12.000 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Navidad	A	(-)	15.160 µg/g	15.893 µg/g	15.16 µg/g	15.45 µg/g	2.237 µg/g	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	2.592 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.277 µg/g	0.192 µg/g	2.02 µg/g
	D	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	4.608 µg/g	2.156 µg/g	32.685 µg/g	20.03 µg/g	10.2 µg/g	5.77 µg/g	0.018 µg/g	0.126 µg/g	3 µg/g

Tabla 5. Concentraciones de en plaguicidas muestras de agua en el cultivo de papa

Localidad		Naled	Ometoato	Profenofos	Acefato	Diazinon	Dimetoato	Metamidofos	Malathion	Clorpirifos
		Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua
Huachichil	A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	2.159 µg/ml	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Huizache	A	5.182 µg/ml	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.556 µg/ml	0.116 µg/ml	0.560 µg/ml
	B	(-)	3.432 µg/ml	2.346 µg/ml	3.02 µg/ml	6.71 µg/ml	5.65 µg/ml	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	2.156 µg/ml	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Navidad	A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	1.00 µg/ml	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.6 µg/ml	0.417 µg/ml	2.02 µg/ml
	C	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	2.345 µg/ml	1.557 µg/ml	10.15 µg/ml	1.577 µg/ml	1.023 µg/g	(-)	(-)	(-)

En cuanto a los resultados en muestras de suelo (Tabla 4) se encontraron en mayor concentración en la región de Navidad: profenofos, acefato y ometoato con 32.685µg/g, 20.03 µg/g y 15.160µg/g respectivamente. Estos datos coinciden con Gavidia y col. (2003), quienes encontraron en dos municipios de Venezuela dedicados al cultivo de papa los insecticidas profenofos y ometoato con 20.3 µg/g y 40 µg/g. En México los productores del cultivo de la papa realizan desde 5 hasta 30 aplicaciones de plaguicida para el control del vector *B. cockerelli* durante el ciclo del cultivo, en lo referente Vega y col. (2008) reportan que en el estado de Coahuila es común que se realicen hasta 12 aplicaciones, utilizando estos productos.

En muestras de agua se encontraron las mayores concentraciones de los insecticidas acefato en la región de Navidad (10.15 µg/ml), diazinon y dimetoato en la región del Huizache (6.71 µg/ml, 5.65 µg/ml). Estos resultados difieren de otros autores que reportan cantidades menores de residuos, López y col. (2000) analizaron cuencas del Rio San Juan en Nicaragua, encontrando mayor incidencia de diazinon y dimetoato en concentraciones que oscilan entre los 0.021 µg/ml a 0.050 µg/ml; por otro lado, Vidal (2014) reporto en muestras de agua superficiales y subterráneas a diazinon, dimetoato y clorpirifos como no detectables.

Es muy notorio que hubo mayor retención de producto en muestras de suelo que en muestras de agua, estudios hacen mención de los diferentes procesos naturales llevados a cabo en suelo como la absorción (entrada del plaguicida a la matriz del suelo) y adsorción (unión del plaguicida a partículas del suelo (Rodríguez y col.,2014). En estudios realizados por Hang y col., en 2011 en donde se probaron diferentes plaguicidas organofosforados en tipos de suelo variados, mencionan que se presentaba mayor afinidad a estos conforme la profundidad de suelo, el contenido de carbono orgánico y el pH juegan también un papel importante, ya que a mayor contenido de CO y menor pH existe una mayor vulnerabilidad para la retención.

Otros estudios han reportado que la presencia de plaguicidas en los suelos se relaciona directamente con el contenido de materia orgánica, pues a mayor contenido, aumenta la adsorción de los plaguicidas disminuyendo así su movilidad a través del perfil del agua (Chaves y col.,2012). En este sentido, cuando existe una fuerte adsorción en el suelo, el mecanismo más probable de transporte hacia cuerpos de agua es a través de fenómenos de erosión o escorrentía superficial (Mojica y Guerrero, 2009).

En México existe una gran diversidad edáfica representada por 26 grupos de suelo, sin embargo, solo seis de ellos, en conjunto ocupan el 81.7% del territorio (IUSS,2007). Tanto en Coahuila y Nuevo León predomina el tipo leptosol, que se considera poco apto para la agricultura y ganadería, pero es utilizado de igual manera para estos fines (INEGI, 2017). Dentro de las características son suelos muy delgados, pedregosos y poco desarrollados; son los suelos de mayor distribución a nivel mundial, su potencial agrícola está limitado ya que el calcio que contienen puede inmovilizar los nutrientes minerales. Tienen una capa superficial rica en materia orgánica, pero también pueden presentar problemas de manejo agrícola por la escasa retención de humedad debido a lo somero del suelo.

4.3. Determinación de residuos en muestras de suelo y agua en el cultivo de manzana

Se muestrearon dos localidades dedicadas a la producción de manzana con cinco ranchos en cada una, en la tabla 5 podemos observar los residuos de plaguicidas presentes en muestras de suelo, en las cuales los nueve organofosforados estudiados fueron encontrados en ambas regiones, siendo el ometoato, profenofos, acefato, diazinon y dimetoato los de mayor incidencia en el Tunal, mientras que en Los Lirios fueron Metamidofos, Malathion y Clorpirifos. Dichos productos mostraron la misma incidencia en muestras de agua (Tabla 6) para esta región.

Se obtuvieron concentraciones de acefato en suelo que van de 254.2 $\mu\text{g/g}$ a 177.3 $\mu\text{g/g}$, valores altos en comparación con los obtenidos en el cultivo de papa, le prosiguieron diazinon con 56.41 $\mu\text{g/g}$ y profenofos con 42.88 $\mu\text{g/g}$. En 2007 Muñoz y Ávila detectaron residuos de acefato y diazinon en cultivos de tomate y cilantro, con concentraciones de 100 a 288 $\mu\text{g/g}$. En 2011, Emamiyan y col., realizaron un estudio para identificar los niveles de residualidad de diazinon , en suelo y en frutos seleccionados (manzana, uva, melón, sandía), el cultivo de manzano tuvo un mayor porcentaje de residuo, en muestras de suelo se encontraron residuos en un 50% de las 75 muestras estudiadas.

Acefato es un insecticida registrado desde 1973 por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Magee, 1973), en estudios se ha observado que después de su descomposición generalmente se convierte en metamidofos altamente tóxico (Yen y col.,2000), ya que es su metabolito principal. Se ha observado que el acefato tiene una vida media más larga que metamidofos en suelo y este tiene una movilidad más lenta, lo que lleva a la conclusión de que el acefato puede conducir a la contaminación del agua subterránea con mayor facilidad (Yen y col.,2000).

Tabla 6. Concentraciones de plaguicidas en muestras de suelo en el cultivo de manzana

Localidad		Naled	Ometoato	Profenofos	Acefato	Diazinon	Dimetoato	Metamidofos	Malathion	Clorpirifos
		Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Tunal	A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	31.176 µg/g	32.685 µg/g	177.3 µg/g	39.3 µg/g	32.96 µg/g	(-)	(-)	(-)
	C	3.167 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.343 µg/g	0.230 µg/g	1.15 µg/g
	D	(-)	37.18 µg/g	38.98 µg/g	181.5 µg/g	40.2 µg/g	33.75 µg/g	0.0838 µg/g	0.058 µg/g	0.282 µg/g
	E	(-)	31.75 µg/g	33.285 µg/g	254.2 µg/g	56.41 µg/g	47.25 µg/g	(-)	(-)	(-)
Los Lirios	A	(-)	4.009 µg/g	42.88 µg/g	156.4 µg/g	40 µg/g	22.34 µg/g	(-)	(-)	(-)
	B	8.917 µg/g	2.86 µg/g	2.998 µg/g	100.2 µg/g	55.63 µg/g	33 µg/g	0.118 µg/g	0.493 µg/g	1.456 µg/g
	C	12.957 µg/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.7 µg/g	0.5 µg/g	2.38 µg/g
	D	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.23 µg/g	0.163 µg/g	0.792 µg/g

Tabla 7. Concentraciones de plaguicidas en muestras de agua en el cultivo de manzana

Localidad		Naled	Ometoato	Profenofos	Acefato	Diazinon	Dimetoato	Metamidofos	Malathion	Clorpirifos
		Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua
Tunal	A	0.864 µg/ml	0.864 µg/ml	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D	(-)	(-)	25.744 µg/ml	139.2 µg/ml	30.89 µg/ml	25.87 µg/ml	(-)	(-)	(-)
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Los Lirios	A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.212 µg/ml	0.148 µg/ml	0.716 µg/ml
	B	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	3.432 µg/ml	77.6 µg/ml	6.787 µg/ml	(-)	0.096 µg/ml	0.067 µg/ml	0.325 µg/ml
	D	(-)	(-)	2.86 µg/ml	81.2 µg/ml	3.76 µg/ml	15 µg/ml	0.118 µg/ml	0.082 µg/ml	0.397 µg/ml
	E	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	1.46 µg/ml	1.01 µg/ml	4.93 µg/ml

Los valores de las concentraciones encontradas en las muestras de agua presentan similitud a las del suelo, el acefato sigue siendo el producto que muestra valores altos (77.6 $\mu\text{g/ml}$ – 139.2 $\mu\text{g/ml}$) en las localidades manzaneras, ya que el resto de los insecticidas fluctúan en 0.067 $\mu\text{g/ml}$ (malathion) a 30.89 $\mu\text{g/ml}$ (diazinon). Eraso y Cuaran (2015) determinaron organofosforados y carbamatos en agua, los insecticidas diazinon y malathion no se detectaron en ninguna de sus muestras, mientras que metamidofos y acefato se consideraron no detectables debido a que se señalan valores menores a 0.000089 $\mu\text{g/ml}$.

El comportamiento de los plaguicidas en el agua depende de sus propiedades físicas y químicas, los organofosforados implican un problema ya que si bien tienen una menor persistencia (Narváez y col., 2011), su degradación parcial genera subproductos de mayor toxicidad que los compuestos parentales (Vittozzi y col.,2011). La solubilidad de un plaguicida es un elemento importante para la eliminación de los desechos, puede indicar la cantidad máxima de plaguicida disuelta en cualquier agua contaminada (FAO,2014). Las sustancias con solubilidad acuosa mayor a 50 ppm son muy móviles en los suelos y su mayor concentración se encuentra en los ecosistemas acuáticos. Por otro lado, las sustancias con una solubilidad acuosa mayor de 25 ppm no son persistentes en los organismos vivos, en tanto aquellas con una solubilidad menor a 25 ppm tienden a inmovilizarse en el suelo y a concentrarse en organismos vivos (Badii y Landeros,2007).

El $\log K_{(oc)}$ es una propiedad fisicoquímica relacionada con el potencial de acumulación de plaguicidas en sedimentos acuáticos (Jekel, 2006). Así un valor alto de $\log K_{(oc)}$ indica gran afinidad por este compartimento. Sin embargo, algunos factores como la estabilidad térmica y el pH alteran la interacción de los plaguicidas con el sedimento y por lo tanto favorecen su liberación hacia la columna de agua; a valores altos se indica un potencial de acumulación en suelo y en contraste, los valores bajos, pueden lixiviarse e ingresar a los cuerpos de agua. En la tabla 7 se muestran Los valores de $\log K_{(oc)}$ y de solubilidad de algunos plaguicidas.

Tabla 8. Valores de log K (oc) y solubilidad de plaguicidas

Plaguicida	<i>log K</i> (oc)	Solubilidad
Acefato	0.89	79 ppm
Diazinon	2.81	40 ppm
Profenofos	3.70	28 ppm

5. CONCLUSIONES

Se estableció un método para la detección cualitativa y cuantitativa de plaguicidas organofosforados en muestras de suelo y agua, mostrando un característico color rosa-magenta.

Con un límite de detección de 0.3 a 100 $\mu\text{g/g}$, considerando la técnica sensible.

El plaguicida Naled fue el que se presentó en mayor frecuencia en el cultivo de papa, en un 60% en muestras de suelo y en un 20% en muestras de agua del total de los ranchos muestreados.

En las localidades dedicadas a la producción de manzana se presentaron los nueve plaguicidas a estudiar tanto en suelo como en agua.

El Acefato se presentó en concentraciones altas en el Tunal, en rangos de 253 a 100 $\mu\text{g/g}$ en suelo y en agua de 139 $\mu\text{g/ml}$ a 77 $\mu\text{g/ml}$ en ambas regiones manzaneras.

Los plaguicidas Metamidofos, Malathion y Clorpirifos se presentaron en un 40% (suelo) y 24% (agua) de los 25 ranchos muestreados, mostrando cantidades bajas en un rango de 0.3 a 5 μg .

Debido a que no existen referencias a nivel nacional e internacional sobre regulaciones o límites máximos permitidos para el recurso del suelo o agua no se puede afirmar que existe una contaminación como tal, sin embargo, este tipo de estudios son de importancia ya que pudieran servir como referencia en un futuro para la elaboración de dichos límites.

6. REFERENCIAS

Alba, M. A., & CORONEL, N. C. (2014). Estandarización y validación del método por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa (GC-MS), para el análisis de tres benzodiazepinas y sus metabolitos en Muestras biológicas de interés forense en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses (Doctoral dissertation, Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Química Industrial).

Albero Romano, M. B. Determinación de residuos de contaminantes orgánicos en miel y zumos (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones).

Amador, S., & Gerardo, E. (2017). *Evaluación de la acumulación de metales pesados en sedimento versus los bioíndices ecológicos dentro de un gradiente fluvial a lo largo de la cuenca del río Daule* (Master's thesis).

Aparicio, V., De Gerónimo, E., Hernández Guijarro, K., Pérez, D., Portocarrero, R., & Vidal, C. (2015). Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. *INTA Ediciones, Argentina*, 1-74.

Badii, M. H., & Varela, S. (2015). Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *CULCyT*, (28).

Balcinde, Y., Rosa Hung, B., Marrero, A., Tirado, S., Pérez, C., Falero, A., ... & Lightbourne, E. (2005). Comparación de diferentes métodos de extracción para la obtención de una fracción rica en fitosteroles a partir de la cachaza de caña de azúcar. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 36(1).

Bedmar, F. (2010). Informe especial sobre plaguicidas agrícolas. *Universidad Nacional de Mar del Plata*.

Benítez, R. (2012). Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: un estado del arte. *Recuperado del sitio web: <http://www.serpajpy.org.py/wpcontent/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>*.

Cardona, J. E., carrillo, M. P., Mosquera, D. M., Gutierrez, R. H., & Hernandez, m. S. (2012). Evaluación de métodos de extracción del aceite de milpesillos (*oenocarpus mapora*). *Vitae*, 19(1), s183-s185.

Chaparro-Narváez, P., & Castañeda-Orjuela, C. (2015). Mortalidad debida a intoxicación por plaguicidas en Colombia entre 1998 y 2011. *Biomédica*, 35(2).

Corredor, D. D., & Guerrero, J. A. (2005). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación de plaguicidas en café verde por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de Química*, 34(2), 175-188.

Dallos, J. A. G., & Rodriguez, N. Y. V. (2014). Comparación de dos metodologías para la determinación de residuos de plaguicidas en agua potable. *Revista Colombiana de Química*, 43(1), 1-26.

Dawson, A. H., Eddleston, M., Senarathna, L., Mohamed, F., Gawarammana, I., Bowe, S. J., ... & Buckley, N. A. (2010). Acute human lethal toxicity of agricultural pesticides: a prospective cohort study. *PLoS medicine*, 7(10), e1000357.

Díaz, T. M. (2007). Estudio del sistema suelosurfactante-plaguicida en los procesos de adsorción y desorción de atrazina, MBT y clorpirifos. *Universidad de Chile*.

del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.

Domínguez Galera, M. A. (2003). Evaluación del Piretroide Bifentrina, sobre cambios conductuales de *Anopheles albimanus* Wiedeman Diptera (Culcidae), mediante el rociado intradomiciliario en el sur del Estado de Quintana Roo México (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Dosal, M. A., & Llano, M. G. (2014). El papel de la química analítica en las ciencias ambientales. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 5(3), 103-108.

Eraso, M. A. J., Melo, J. M. B., & Ortiz, A. Y. G. (2017). Estudio piloto de la toxicidad de los sedimentos del río Pasto en el tramo La Playita-Puente La Carolina, asociada al uso de pesticidas. *AVANCES: Investigación En Ingeniería*, 14(1), 194-210.

Esteve-Turrillas, F. (2006). *Preparación de muestras para el análisis de plaguicidas mediante microondas y fluidos presurizados* (Doctoral dissertation, Universitat de València).

Fernández, D. G., Mancipe, L. C., & Fernández, D. C. (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista Med*, 18(1), 84-92.

Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (Vol. 26, pp. 155-171). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.

Gil Castañeda, R., & Bojacá Aldana, C. R. (2017). Validación de un modelo de agua libre sobre el follaje, como herramienta para el manejo racional de plaguicidas en cultivos de tomate bajo invernadero (Master's thesis, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano).

Goldman, L., Hopkins, J., Wahlstrintom, B., & Pronczuk, J. (2004). Intoxicación por Plaguicidas en Niños. *FAO, Pnuma, OMS*.

González, G. (2011). Intoxicación por plaguicidas: Casuística del Hospital Universitario del Caribe y de la Clínica Universitaria San Juan de Dios de Cartagena. *Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Toxicología*. pág, 15, 36.

GONZÁLEZ-MÁRQUEZ, L. C., & Hansen, A. M. (2014). Efecto de la salinidad en la adsorción de un herbicida en suelos agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(2), 191-199.

Guzmán-Plazola, P., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olgún-López, J. L., & Mancilla-Villa, O. R. (2016). Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia (Arica)*, 34(3), 69-80.

Hernández, A. R., & Silva, M. T. R. (2009). La investigación en Química Analítica en México en los albores del siglo xxi: Una visión desde el Área de Química Analítica de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. *Bol Soc Quím Méx*, 3(1), 58-68.

Hernández-Ruiz, G. M., Álvarez-Orozco, N. A., & Ríos-Osorio, L. A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(1), 138-159.

Herrero Martínez, D. (2015). Determinación analítica de pesticidas: determinación electroquímica de imidacloprid.

Kumar, V., Upadhyay, N., Kumar, V., & Sharma, S. (2015). A review on sample preparation and chromatographic determination of acephate and methamidophos in different samples. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(5), 624-631.

Langley, R. L., & Mort, S. A. (2012). Human exposures to pesticides in the United States. *Journal of agromedicine*, 17(3), 300-315.

Lavalle, M. I. H., & Valeta, M. E. O. (2014). Exposición laboral por plaguicidas en cultivadores de algodón: Valle del Sinú medio. *REVISTA ECONÓMICAS CUC*, 35(2), 65-74.

Leal Soto, S. D., Valenzuela Quintanar, A. I., Gutiérrez Coronado, M. D. L., Bermúdez Almada, M. D. C., García Hernández, J., Aldana Madrid, M. L., ... & Palma Durán, S. A. (2014). Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agrícolas. *Terra latinoamericana*, 32(1), 1-11.

López, O. (2005). Influencia de la exposición crónica a plaguicidas sobre diversos marcadores bioquímicos (esterasas y enzimas antioxidantes) en trabajadores de invernadero en la costa oriental de Andalucía. *Granada (ESP): Universidad de Granada*.

Mojica, A., & Guerrero, J. A. (2013). Evaluación del movimiento de plaguicidas hacia la cuenca del lago de tota, Colombia. *Revista Colombiana de Química*, 42(2), 29-38.

Montaña, M., Montilla, J., Perdomo, V., Valera, Y., & Valenzuela, J. A. (2009). Causas y efectos del mal manejo de los insecticidas sobre la salud del agricultor. *Creando*, 183-188.

Moral, M. P. M. (2015). *Métodos analíticos para la determinación de compuestos disruptores endocrinos* (Doctoral dissertation, Universidad de La Rioja).

Moreno Marí, J., Oltra Moscardó, M. T., Falcó Garí, J. V., & Jiménez Peydró, R. (2007). El control de plagas en ambientes urbanos: criterios básicos para un diseño racional de los programas de control. *Revista española de salud pública*, 81(1), 15-24.

Ortiz Rojas, L. Y., & Chaves Bedoya, G. Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agronómica; Vol. 62, núm. 1 (2013); 66-72 2323-0118 0120-2812*.

Pérez, M. A., Navarro, H., & Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgo en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 45-64.

Pinilla-Monsalve, G. D., Manrique-Hernández, E. F., Caballero-Carvajal, A. J., Gómez-Rodríguez, E., Marín-Hernández, L. R., Portilla-Portilla, Á., ... & Gamboa-Tolosa, N. (2014). Neurotoxicología de plaguicidas prevalentes en la región Andina Colombiana. *Revista Médicas UIS*, 27(3), 57-67.

Plenge-Tellechea, F., Sierra-Fonseca, J. A., & Castillo-Sosa, Y. A. (2007). Riesgos a la salud humana causados por plaguicidas. *Tecnociencia chihuahua*, 1(3), 4-6.

Pohanka, M., Hrabínova, M., Kuca, K., & Simonato, J. P. (2011). Assessment of acetylcholinesterase activity using indoxylacetate and comparison with the standard Ellman's method. *International journal of molecular sciences*, 12(4), 2631-2640.

Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.

Ramírez, M. A. Y., García, A. G., & Barrera, J. (2003). El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México. *Gaceta Ecológica*, (69), 7-28.

Rodríguez-Leyes, E. A., Marrero Delange, D., González Canavaciolo, V. L., Sierra Pérez, R., & Adames Fajardo, Y. (2009). Validación de un método por Cromatografía de Gases para la determinación de los ácidos grasos que componen el D-004 ingrediente activo. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 40(1).

Román, P., Darío, A., De Ben Elomnzantal, S. M., Delfino Tedesco, N. G., & Burger Fernández, M. (2000). Intoxicación aguda por organofosforados. Factores de riesgo. *Rev. Méd. Urug*, 5-13.

Romero-Blanco, E., Meza-Núñez, H., & Poveda-Calvo, V. (2005). Metodología para la determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en leche de consumo nacional mediante cromatografía de gases y extracción en fase sólida. *Revista Tecnología en Marcha*, 18(2), 103.

Salazar Loaiza, J. M. (2014). *Uso de plaguicidas y su relación con intoxicaciones en los habitantes de la parroquia Nambacola del cantón Gonzanamá* (Bachelor's thesis).

Sánchez, A. B. (2001). *Nuevos métodos luminiscentes para la determinación de pesticidas en aguas* (Doctoral dissertation, Universidad de Extremadura).

Sánchez Martín, M. J., & Sánchez Camazano, M. (1985). *Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España).

Tecles, F., & Cerón, J. J. (2003). Determinación espectrofotométrica de colinesterasa en sangre entera de animales domésticos: factores pre y analíticos. In *Anales de Veterinaria de Murcia* (Vol. 19, pp. 61-76).

Verhulst, N., Francois, I. M., Grahmann, K., Cox, R., & Govaerts, B. (2015). Eficiencia del uso de nitrógeno y optimización de la fertilización nitrogenada en la agricultura de conservación.

Villavicencio-Nieto, M. Á., Pérez-Escandón, B. E., & Gordillo-Martínez, A. J. (2010). Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. *Polibotánica*, (30), 193-238.

Wood-Duque, M., Hernández-Caso, N., Delgado-Martínez, I., Montañez-Valdez, M., & Sánchez-García, J. C. (2014). Validación del método de Ellman para la determinación de la concentración de grupos sulfhidrilosa muestras de la producción de la vacuna sintética contra el *Haemophilus influenzae* tipo b G de caballo antitoxina tetánica. *Vaccimonitor*, 23(2), 73-80.

Yuste, E. G. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL PLOMO EN SANGRE.