



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE PARAQUAT EN MATRICES ACUOSAS
AMBIENTALES POR MEDIO DE EFS-UV**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA**

**PRESENTA
RUTH SILVANA CORTÉS LAGUNES**

CIUDAD DE MÉXICO

AÑO 2022





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar

VOCAL: Profesora: Olivia Zamora Martínez

SECRETARIO: Profesora: Carolina Flores Ávila

1er. SUPLENTE: Profesora: Minerva Monroy Barreto

2° SUPLENTE: Profesor: Zurisadai Padilla Gómez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Cromatografía de Líquidos, Depto. de Ciencias Ambientales y del Suelo, planta baja, Instituto de Geología, UNAM. Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM).

Circuito de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C. P. 04510, Ciudad de México, México.

Asesora del Tema: Dra. Olivia Zamora Martínez

Supervisor Técnico: M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

Sustentante: Ruth Silvana Cortés Lagunes

AGRADECIMIENTOS

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

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) a través del proyecto **PE210820** del Programa de Apoyo a Proyectos de Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), por la beca otorgada.

Al **CONACyT** por el apoyo otorgado a través de las convocatorias 2019 y 2020 para **Laboratorios Nacionales**.

Al **Instituto de Geología** y al **Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM)** sede Ciudad Universitaria de la UNAM, por el uso de sus instalaciones, equipos y materiales.

Al **Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental (LUNA)** del **Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT)** de la UNAM, por el uso de sus instalaciones, equipos y materiales.

Mis agradecimientos más profundos a mi asesora la **Dra. Olivia Zamora Martínez** por su paciencia, tiempo, dedicación, apoyo, consejos y sus valiosos conocimientos a lo largo de la elaboración de esta tesis y durante el tiempo que pude trabajar en su laboratorio.

Al **M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela** por su asesoría técnica durante el desarrollo experimental y su apoyo en el muestreo del agua residual.

Al **Dr. Juan Carlos Durán Álvarez** por su apoyo durante el desarrollo experimental.

CONTENIDO

GLOSARIO	IV
INDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE ECUACIONES	X
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. ANTECEDENTES	4
1.1 <i>Plaguicidas</i>	4
1.1.1 Clasificación de los pesticidas	4
1.2 <i>Paraquat</i>	6
1.2.1 Toxicidad	9
1.2.2 Métodos de remoción de paraquat en agua	10
1.2.3 Métodos de determinación de paraquat	22
1.3 <i>Métodos de preparación de muestra</i>	28
1.4 <i>Extracción en fase sólida (EFS)</i>	32
1.4.1 Tipos de sorbente en extracción en fase sólida (EFS)	34
1.4.2 Parámetros de extracción en fase sólida (EFS)	36
1.4.2.1 Acondicionamiento y equilibramiento	37
1.4.2.2 Carga	37
1.4.2.3 Lavado	37
1.4.2.4 Elución y regeneración del adsorbente	38
1.5 <i>Espectrofotometría UV</i>	38
1.6 <i>Agua residual de la Zona Metropolitana del Valle de México</i>	44

2. OBJETIVOS	46
2.1 Objetivo general	46
2.2 Objetivos particulares	46
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	47
3.1 Material y equipo	47
3.2 Reactivos y disolventes	47
3.3 Metodología	48
3.3.1 Condiciones analíticas para la determinación de paraquat mediante espectrofotometría UV	48
3.3.2 Preparación de la disolución de cloruro de amonio al 2.5 % (m/V)	48
3.3.3 Preparación de la disolución de cloruro de amonio saturada	48
3.3.4 Preparación de la disolución patrón de paraquat	49
3.3.5 Evaluación de la estabilidad de la disolución patrón de paraquat	49
3.3.5 Determinación del intervalo lineal medición directa espectrofotometría UV	49
3.4 Optimización del protocolo de Extracción en Fase Sólida (EFS)	50
3.4.1 Evaluación de la disolución de lavado del cartucho	52
3.4.2 Determinación de la composición del eluyente	53
3.4.3 Evaluación del volumen de elución	54
3.4.4 Determinación del volumen de carga de la muestra	56
3.4.5 Evaluación del flujo de carga	57
3.5 Aplicación en muestras de origen ambiental	58
3.5.1 Muestras	58
3.5.2 Caracterización de muestras ambientales	59
3.5.3 Cuantificación de paraquat en muestra ambientales	60
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1 Espectro de absorción del paraquat	61

4.2 Evaluación de la estabilidad de la disolución patrón de paraquat	61
4.3 Intervalo lineal medición directa espectrofotometría UV	64
4.4 Optimización del protocolo de extracción en fase sólida (EFS)	68
4.4.1 Evaluación de la disolución de lavado	68
4.4.2 Determinación de la disolución eluyente	69
4.4.3 Determinación del volumen de elución	71
4.4.4 Determinación del volumen de carga	72
4.4.5 Evaluación de la velocidad de carga de la muestra	80
4.5 Ejemplos de aplicación en muestras de origen ambiental	82
4.5.1 Caracterización de las muestras	82
4.5.2 Cuantificación de paraquat en muestra ambientales	84
5. CONCLUSIONES	86
5.1 Conclusiones particulares	86
ANEXOS	87
REFERENCIAS	96

GLOSARIO

- Colorímetro de resistencia dependiente de diodo emisor de luz simple: Simple light diode-light dependent resistor (LED-LDR) colorimeter.
- Cromatografía líquida de alta resolución: High Performance Liquid Chromatography (HPLC).
- Cromatografía de líquidos de ultra alta eficiencia: Ultra High Performance Liquid Chromatography (UHPLC).
- Dispersión de matriz en fase sólida: Solid Phase Matrix Dispersion (SPMD).
- Espectroscopía Raman de superficie mejorada: Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS).
- Extracción acelerada por disolvente: Accelerated Solvent Extraction (ASE).
- Extracción asistida por barra: Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE).
- Extracción en fase sólida: Solid Phase Extraction (SPE).
- Extracción líquido líquido: Liquid-Liquid Extraction (CLE).
- Extracción por fluido supercrítico: Supercritical Fluid Extraction (SFE).
- Microextracción en fase sólida: Solid Phase Micro Extraction (SPME).
- Paraquat (PQ).

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas considerando el tipo de plaga al que se aplica de acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.	4
Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según su grupo funcional de acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.	5
Tabla 1.3. Clasificación de los plaguicidas según su grado de toxicidad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.	6
Tabla 1.4. Características fisicoquímicas del paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-dicloro bipyridina) (ChemSpider , 2021).	7
Tabla 1.5 Adsorbentes utilizados para la remediación de paraquat y otros contaminantes en soluciones acuosas.	12
Tabla 1.6. Métodos para la determinación y cuantificación de paraquat en distintas matrices.	24
Tabla 1.7. Características de algunas técnicas de preparación de muestras.	29
Tabla 1.8. Tipos de adsorbentes utilizados para EFS.	34
Tabla 1.9. Características de los principales componentes de un espectrofotómetro.	42
Tabla 3.1. Condiciones de trabajo para las etapas de acondicionamiento, equilibramiento y regeneración del protocolo de extracción en fase sólida (EFS) para el cartucho Oasis® MCX 6 cc de Waters.	51
Tabla 3.2. Parámetros optimizados en cada etapa del protocolo de EFS.	51
Tabla 3.3. Eluyentes evaluados para la recuperación de paraquat en el protocolo de EFS.	53
Tabla 3.4. Volúmenes de NH ₄ Cl saturado evaluados para la elución de paraquat en el protocolo de EFS.	54
Tabla 3.5. Concentraciones y volúmenes de los blancos de muestra de paraquat preparados para determinar el factor de contracción del protocolo del EFS.	57
Tabla 4.1. Absorbancias medidas a una solución estándar de paraquat de 20 mg/L preparado en distintas fechas.	62
Tabla 4.2. Valores de absorbancias obtenidos a 258 nm para los estándares de paraquat comprendidos en el intervalo de 0.2 a 40 mg/L.	64

Tabla 4.3. Parámetros estadísticos de la regresión lineal de la curva de calibración de paraquat mediante el empleo directo de la espectrofotometría UV.	66
Tabla 4.4. Resultados de los análisis de paraquat de las disoluciones resultantes de las etapas de carga (500.0 mL) y lavado (5.0 mL) del protocolo de EFS (Flujo: 2 mL/min).	69
Tabla 3.5. Evaluación de dos composiciones de eluyente para la recuperación de 200 µg de paraquat de un cartucho de EFS a un flujo de 2 mL/min.	70
Tabla 4.6. Efecto del volumen de NH ₄ Cl saturado para la elución de 200 µg de paraquat contenidos en un volumen de carga de 500.0 mL.	71
Tabla 4.7. Resultados de cantidad de paraquat recuperada (µg) y % recuperación las disoluciones de paraquat tras el procedimiento de EFS con 250.0 mL como volumen de carga. Elución con 10.0 mL de NH ₄ Cl saturado.	73
Tabla 4.8. Resultados de cantidad de paraquat recuperada (µg) y % recuperación las disoluciones de paraquat tras el procedimiento de EFS con 500.0 mL como volumen de carga. Elución con 10.0 mL de NH ₄ Cl saturado.	74
Tabla 4.9. Determinación del factor de concentración experimental para los volúmenes de 250.0 y 500.0 mL de muestra, tras el protocolo de EFS.	76
Tabla 4.10 Concentración de paraquat cargada (C _{Inicial} , mg/L) y la concentración de paraquat (mg/L) recuperada tras el procedimiento de EFS con 250.0 y 500.0 ML como volumen de carga. Elución: 10.0 mL de NH ₄ Cl Saturado.	77
Tabla 4.11. Porcentajes de recuperación determinado para la metodología de extracción en fase sólida.	80
Tabla 4.12. Efecto de la velocidad de flujo de carga, para un volumen de carga de 500.0 mL de una disolución 0.4 mg/L de paraquat eluidos con 10.0 mL de NH ₄ Cl saturado.	81
Tabla 4.13. Condiciones óptimas del protocolo de extracción en fase sólida para la cuantificación de paraquat por espectrofotometría UV.	82
Tabla 4.14 Resultados de cromatografía catiónica para las muestras de agua residual del canal Tlamaco-Juandhó.	83
Tabla 4.15. Resultados de, pH, conductividad y TDS, para las muestras de agua residual del canal Tlamaco-Juandhó.	83

Tabla 4.16. Resultados obtenidos de la cuantificación de paraquat en una muestra de agua residual	84
Tabla 0.1 Absorbancia, media y desviación estándar de los estándares de paraquat agrupados.	87
Tabla 0.2 Factor de concentración para cada una de las rectas (250.0 y 500.0 mL de muestra) tras el protocolo de EFS	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1. Estructura química del paraquat (Environmental Protection Agency, 2019).	7
Fig. 1.2. Ciclo Redox del paraquat (PQ) (Blanco-Ayala, Andérica-Romero, & Pedraza-Chaverri, 2014)	8
Fig. 1.3. Reacción de derivatización de paraquat con Na ₂ S ₂ O ₄ en medio básico (Colín, 2017).	23
Fig. 1.4. Balance hidrofílico-lipofílico para la adecuada selección del cartucho de extracción en fase sólida (Waters Corporation, 2010).	33
Fig. 1.5. Secuencia típica de extracción en fase sólida (EFS).	36
Fig. 1.6. Regiones del espectro electromagnético (Khan Academy , s.f.).	39
Fig. 1.7. Interacción de la radiación con la materia (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).	39
Fig. 1.8. Diagrama de los principales componentes de un espectrofotómetro (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).	41
Fig. 1.9 Mapa de la Ciudad de México y los distritos de riego del estado de Hidalgo (Chávez, Maya, Gibson, & Jiménez, 2011; Rodríguez Varela, 2019)	45
Fig. 3.1. Sistema de extracción en fase sólida (EFS) utilizando una bomba auxiliar de HPLC.	52
Fig. 3.2. Sistema de extracción en fase sólida (EFS) utilizando un sistema de extracción colectiva, Waters® con cuatro cartuchos Oasis® MCX 6 cc de Waters®.	55
Fig. 3.3. Imagen satelital del canal Tlamaco-Juandhó, lugar de muestreo (Google Earth, 2021).	58
Fig. 3.4. Fotografía del canal de agua residual Tlamaco-Juandhó (Rodríguez Varela, 2019).	59
Fig. 3.5. Sistema de filtración con una membrana de poliamida de 0.45 µm	60
Fig. 4.1. Espectro de absorción de una solución estándar de paraquat de 20 mg/L en el intervalo de 200 a 400 nm.	61
Fig. 4.2. Absorbancias medidas a una solución estándar de paraquat de 20 mg/L agrupadas por meses.	63

Fig. 4.3. Curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 40.0 mg/L por espectrofotometría ultravioleta ($\lambda = 258 \text{ nm}$).	65
Fig. 4.4. Curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentración de 0.2 a 30 mg/L obtenido por espectrofotometría ultravioleta ($\lambda = 258 \text{ nm}$).	65
Fig. 4.5. Gráfico de residuales para la curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 30.0 mg/L.	67
Fig. 4.6. Estructura de la resina del cartucho Oasis MCX de Waters®.	68
Fig. 4.7. Determinación del factor de preconcentración del protocolo de EFS para paraquat propuesto para los volúmenes de 250.0 mL (●) y 500.0 mL (●).	75
Fig. 4.8. Cantidad recuperada de paraquat ($C_{\text{EFS PQ}}$, μg) en función de la cantidad inicial ($C_{\text{Inicial PQ}}$, μg) para (a) 250.0 mL y (b) 500.0 mL como volúmenes de carga.	78

ÍNDICE DE ECUACIONES

$A = \varepsilon bc$ (Ec. 1.1)	40
$A = \log I_0 I$ (Ec. 1.2)	40
$T = I I_0$ (Ec. 1.3)	40
$A = -\log T$ (Ec. 1.4)	40
$\% \text{ Recuperación} = \text{masa de paraquat eluido} / \text{masa de paraquat cargada} \times 100$ (Ec. 3.1).....	53
$\text{Factor de concentración} = m E F S m$ (Ec. 3.2)	56
$\text{Absorbancia } uA = 0.0878 uA \cdot \text{Lmg} + 0.0069 (uA)$ (Ec. 4.1)....	66
$CEFSPQ = 0.8156 CPQ \mu g - 3.2282 (\mu g)$ (Ec. 4.2).....	79
$CEFSPQ = 0.8541 CPQ \mu g - 3.4552 (\mu g)$ (Ec. 4.3).....	79
$\text{Error} = t \cdot sn$ Ec. 4.4).....	79
$\% DER = sx \cdot 100 \%$ (Ec. 4.5)	80
$s = xi - x2n - 1$ (Ec. 0.1).....	88
$F0 = s12s22$ (Ec. 0.2).....	88
$s2 = n1 - 1s12 + n2 - 1s22n1 - 1 + n2 - 1$ (Ec. 0.3).....	88
$\tau = n1 - 1 + n2 - 1 = n1 + n2 - 2$ (Ec. 0.4)	88
$t0 = x1 - x2s21n1 + 1n21/2$ (Ec. 0.5)	88
$t0 = (x - \mu)ns$ (Ec. 0.6)	89
$\text{Factor de concentración} = m E F S m$ (Ec. 0.7)	92
$\text{Absorbancia } (uA) = 1.7727uA \cdot \text{Lmg} + 0.0236mgL$ (Ec. 0.8).....	93
$\text{Absorbancia } uA = 3.7713uA \cdot \text{Lmg} + 0.0365 mgL$ (Ec. 0.9).....	93

RESUMEN

Se desarrolló y optimizó el protocolo de extracción en fase sólida como método de preparación de muestra, para la cuantificación del herbicida paraquat en muestras acuosas mediante espectrofotometría ultravioleta. El acoplamiento de EFS a la espectrofotometría ultravioleta permitió ampliar el intervalo de concentraciones en el que es aplicable la determinación de paraquat, el cual se encuentra comprendido entre 0.005 y 30.0 mg/L, debido a que es capaz de concentrar el analito contenido en la muestra 42.7 veces. Si bien los valores de recuperación calculados por medio de un balance de masa del procedimiento de extracción en fase sólida se encuentran entre 78.5 y 85.1 %, se observó que la cantidad recuperada de paraquat al término del protocolo de EFS, es proporcional a la concentración del analito presente en la matriz acuosa utilizada durante la etapa de carga. El método de EFS propuesto, acoplado a la determinación por espectrofotometría UV, se aplicó a tres muestras de agua residual procedentes del canal Tlamaco-Juandhó obteniendo concentraciones de paraquat entre 0.12 y 0.14 mg/L. La metodología de extracción en fase sólida permitió determinar concentraciones más bajas de paraquat y libres de interferencias en el tipo de matriz de trabajo, en comparación con el empleo de la espectrofotometría ultravioleta de manera directa.

INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) estima que para el año 2050 la población mundial pasará de 7,700 a 9,600 millones de personas (United Nations, 2019), lo que implica una mayor demanda de alimentos. Además, de considerar la explosión demográfica, el cambio climático, la contaminación y la degradación de las tierras de cultivo como algunos de los retos para la producción alimentaria. México es el 12° productor mundial de alimentos, donde se han detectado más de 200 especies de plagas agrícolas que amenazan con la productividad del campo (SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

Los pesticidas funcionan como elementos fundamentales en la producción alimentaria, pues permiten controlar malezas en los cultivos, evitando así, la proliferación de plagas y enfermedades, reduciendo pérdidas en la producción.

A pesar de sus beneficios, su toxicidad y la persistencia de sus ingredientes activos y metabolitos hacen que el uso de este tipo de sustancias puede resultar sumamente riesgoso, tanto para los agricultores, como para el medio ambiente (Barbash, Thelin, Kolpin, & Gilliom, 2001). Por estas razones, el monitoreo constante de la concentración de los pesticidas en diferentes matrices ambientales resulta ser de vital importancia, siendo necesario el desarrollo de métodos analíticos para analizar y evaluar este tipo de muestras.

El paraquat es un herbicida importante para controlar maleza en muchos entornos agrícolas, silvestres y urbanos; está clasificado como moderadamente tóxico (Clase II) por la OMS (WHO. World Health Organization, 2020), además, es uno de los más utilizados en México (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, Martínez-Arroyo, Gavilán-García, & Mendoza-Cantú, 2019).

Debido a su estructura química la determinación puede realizarse mediante espectrofotometría ultravioleta, pero al ser una técnica analítica no selectiva, con bajos límites de detección y sensible a variaciones ocasionadas por la complejidad de la muestra (Harris, 2006), es necesario hacer un tratamiento previo con el fin de purificar y preconcentrar el analito.

Dicho objetivo puede ser alcanzado de forma satisfactoria mediante la aplicación de un protocolo de extracción en fase sólida (EFS). Este protocolo, debe garantizar que la extracción del analito sea cuantitativa y preferentemente libre de interferentes de matriz, para ello es fundamental optimizar cada una de las etapas del proceso, a través sus parámetros esenciales, a saber: 1. Acondicionamiento, 2. Equilibramiento, 3. Carga, 4. Lavado, 5. Elución y 6. Regeneración (Berrueta, Gallo, & Vicente, 1995).

1. ANTECEDENTES

1.1 Plaguicidas

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), se entiende por plaguicida “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos” (Codex Secretariat (FAO/WHO), 2018).

1.1.1 Clasificación de los pesticidas

La correcta clasificación de los plaguicidas auxilia en el empleo correcto de estos, pudiéndose clasificar de acuerdo con su uso, por la plaga que controlan (ver tabla 1.1) (SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020), de acuerdo con su formulación, por su grupo químico funcional (ver tabla 1.2) (SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020) y por su modo de acción o según su grado de toxicidad (Tabla 1.3) (WHO. World Health Organization, 2020), donde en cada una se encuentra resaltada la clasificación a la cual pertenece el paraquat.

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas considerando el tipo de plaga al que se aplica de acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

Tipo	<i>Plaga objetivo</i>
Acaricidas	<i>Ácaros</i>
Bactericidas	<i>Bacterias</i>
Defoliantes	<i>Hojas de plantas</i>
Funguicidas	<i>Hongos</i>

Tipo	<i>Plaga objetivo</i>
Herbicidas	<i>Hierbas, plantas</i>
Insecticidas	<i>Insectos</i>
Molusquicidas	<i>Moluscos</i>
Nematicidas	<i>Nematodos</i>
Rodenticidas	<i>Roedores</i>

Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según su grupo funcional de acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

Grupo funcional	Características
Bipiridílicos	Son irritantes, suelen ser sólidos, insípidos e inodoros y muy solubles en agua
Biológicos	Pueden incluir al microorganismo o sus metabolitos, siendo capaz de controlar una plaga en particular
Carbamatos	Tienen un amplio rango de niveles de toxicidad a mamíferos y de propiedades biológicas
Organoclorados	Actúan por contacto, se acumulan en el tejido adiposo, persistiendo en la cadena alimenticia.
Organofosforados	Pueden ser de contacto, sistémicos, fumigantes o estomacales, tienen mayor toxicidad a mamíferos.
Piretroides	Son más tóxicos para los peces que, para los mamíferos, reducen el apetito en los insectos

Tabla 1.3. Clasificación de los plaguicidas según su grado de toxicidad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.

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

El paraquat se encuentra clasificado, de acuerdo con su plaga objetivo, como un herbicida dentro del grupo bipyridílico debido a su grupo funcional y está dentro de la *clase II* (moderadamente peligroso) debido a su toxicidad.

1.2 Paraquat

EL paraquat es un herbicida de amonio cuaternario, refiriéndose específicamente al catión 1,1'-dimetil-4,4'-bipyridilo. Generalmente, suele encontrarse como sales de bromuro, cloruro o metasulfonato como sólido cristalino o en disolución acuosa (Aramendía , et al., 2006). El paraquat se sintetizó por primera vez en 1882, pero su función como pesticida se descubrió hasta 1955 y fue introducido al mercado, junto con el diquat, compuesto de la misma familia, a partir de 1962 por la empresa Imperial Chemical Industries (Kolberg, et al., 2012; Huang, Zhan, Bhatt, & Chen, 2019). En la tabla 1.4 se resumen sus principales características fisicoquímicas (ChemSpider , 2021) y en la Figura 1.1 se puede ver su estructura química.

Tabla 1.4. Características fisicoquímicas del paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-dicloro bipyridina) (ChemSpider , 2021).

Concepto	Característica
Fórmula molecular	$C_{12}H_{14}N_2^{2+}$
Peso molar	257.2 g/mol
Estado físico	Sólido (cristales higroscópicos)
Temperatura de descomposición	> 340 °C
Solubilidad en agua	700 g/L
Solubilidad en metanol	143 g/L
Densidad	1.24 g/mL
Hidrólisis	Hidroliza bajo condiciones alcalinas
Log K _{ow}	- 4.5
Metabolitos de descomposición	Monoquat, paraquat monopiridina, 4-carboxi-1-metilpiridino

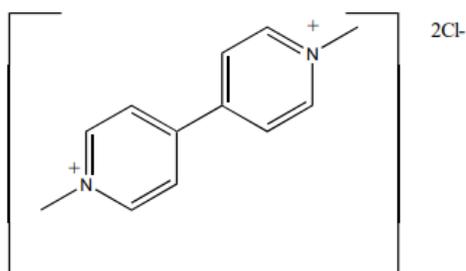


Fig. 1.1. Estructura química del paraquat (Environmental Protection Agency, 2019).

Es un herbicida no selectivo de rápida acción, usado para el control de malas hierbas en la agricultura (Watts, 2010). Es un herbicida de contacto, de amplio espectro, el cual afecta únicamente las partes verdes y no los tallos leñosos de la planta (Lott, Lott, & Doms, 1978). Presenta una rápida acción tanto en plantas terrestres como acuáticas y debido a su naturaleza catiónica se queda retenido en los coloides de suelo cargados negativamente, sin embargo, puede ser lixiviado hacia los mantos acuíferos (Pateiro-Moure, Martínez-Carballo, Arias-Estévez, & Simal-Gándara, 2008).

Su bajo costo y su eficiencia lo convirtieron en una opción muy popular para su utilización en cultivos de cereales, forrajes, frutales, flores y hortalizas (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CDRSSA), 2020). El paraquat (PQ) desvía el flujo de electrones del fotosistema por lo que inhibe la reducción del NADP^+ , produciendo el radical $\text{PQ}^{\bullet+}$, el cual es reoxidado por el O_2 producido en los cloroplastos. Durante esta reoxidación se generan especies reactivas de oxígeno (ROS), como superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), el peroxinitrito (ONOO^-), radicales peróxido (ROO^{\bullet}) y el radical hidroxilo (OH^{\bullet}), las cuales reaccionan con la membrana celular causando peroxidación lipídica y finalmente la muerte celular (Blanco-Ayala, Andérica-Romero, & Pedraza-Chaverri, 2014)

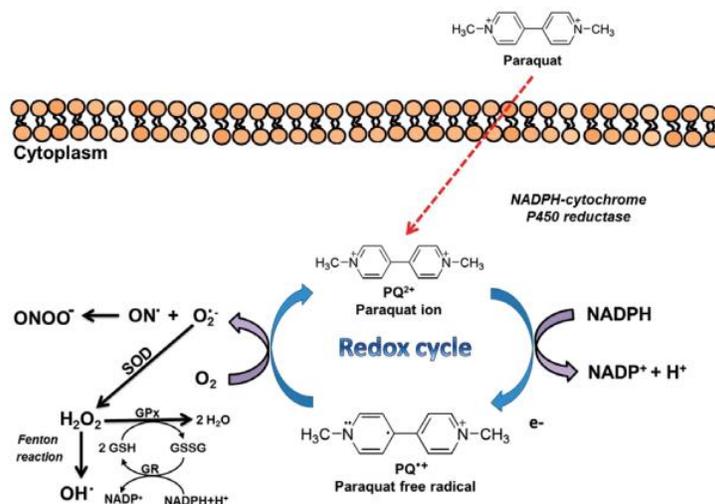


Fig. 1.2. Ciclo Redox del paraquat (PQ) (Blanco-Ayala, Andérica-Romero, & Pedraza-Chaverri, 2014)

El paraquat es ampliamente usado como desecante, defoliante y regulador de crecimiento de las plantas, pero debido a su toxicidad este herbicida se ha prohibido en 38 países, incluyendo los 27 que conforman la Unión Europea desde 2007, Sri Lanka, Siria, Emiratos Árabes Unidos (Watts, 2010), Corea del sur (2012) (Bang, Kim, & Lee, 2016), entre otros.

México cuenta con 90 registros sanitarios para productos con paraquat en su formulación (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CDRSSA), 2020), además, entre 2010 y 2017 las importaciones de paraquat en el país alcanzaron un valor total de 78,988,391 y 91.179,834 ton, de acuerdo con lo reportado por el SIAVI (Sistema de Información Arancelaria Vía Internet) y la base de aduanas, respectivamente (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, Martínez-Arroyo, Gavilán-García, & Mendoza-Cantú, 2019).

1.2.1 Toxicidad

La inhalación es la vía de exposición más común para los seres humanos, debido al modo de aplicación, sin embargo, puede ingresar de manera tópica u ocular, provocando intoxicación debido a la acumulación de radicales libres (Dinis-Oliveira, Duarte, Sánchez-Navarro, Remiao, & Carvalho, 2008), siendo los pulmones el órgano diana (órgano a aquel al que van dirigidos los efectos de una sustancia) causando fibrosis, inflamación y falla respiratoria (Blanco-Ayala, Andérica-Romero, & Pedraza-Chaverri, 2014). Otros efectos al organismo pueden ser daños al corazón, falla renal, daños al sistema nervioso central, hígado y músculos (Watts, 2010).

La ingesta de paraquat es fatal ya que no existe un antídoto efectivo, generando inmediatamente una sensación de ardor en el tracto respiratorio, provocando vómitos, náuseas, diarrea, fibrosis pulmonar, pérdida de electrolitos y líquido de manera inmediata, lo que deriva en la muerte (Tsai, Satatys of herbicide use, regulatory management and case study of paraquat in Taiwan, 2018). La dosis letal media de paraquat en humanos (LD_{50}) es de 25 mg/kg y para animales de 110 - 150 mg/kg de peso corporal. En pacientes de intoxicación, se reporta que una concentración en plasma menor a 2 $\mu\text{g/mL}$ tras 4 horas de haberse ingerido y una

concentración menor a 1 µg/mL después de 24 horas, indican altas probabilidades de supervivencia (Luna, Di Bernardo, García, Ovalles, & Calderón, 2008).

También, se ha reportado que el paraquat tiene efectos neurotóxicos, pues puede causar lesiones irreversibles en neuronas, generando un mayor riesgo en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer (Li, Liu, Kuang, & Xu, 2019). Además, algunos estudios sugieren que puede afectar el complejo mitocondrial, debido a la interrupción del transporte de electrones, derivando en problemas degenerativos, motrices y de desarrollo en peces (Wang, Souders, Zhao, & Martynuik, 2018).

La Autoridad de Gestión del Riesgo Ambiental de Nueva Zelanda describe a este herbicida como “muy tóxico para el medio ambiente acuático” y la US EPA como “extremadamente activo y tóxico para las plantas y animales” (Watts, 2010). La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA, 2014) no muestra los niveles máximos de paraquat en agua potable, esto debido a que este herbicida es de uso restringido, sin embargo, muestra la del diquat cuyo nivel máximo es 0.02 mg/L (EPA US. Environmental Protection Agency, 2014). Asimismo, el gobierno de Canadá establece como máxima concentración aceptable (MAC) 0.01 mg/L (10 µg/L), de dicloruro de paraquat o 0.007 mg/L (7 µg/L) del catión (Government of Canada, 1986). La cuantificación del herbicida se realiza por cromatografía de líquidos con detección UV (EPA US. Environmental Protection Agency, 1997).

1.2.2 Métodos de remoción de paraquat en agua

Debido a los efectos nocivos mencionados con antelación, la comunidad científica ha dirigido sus investigaciones en el desarrollo e implementación de diferentes mecanismos que permitan la remoción y/o eliminación de forma parcial o total del paraquat en el ambiente. Dentro de los mecanismos que han sido diseñados se puede considerar: 1) los procesos de oxidación avanzada tales como la fotocatalisis, y el proceso Fenton, 3) la fitorremediación, 4) la ósmosis inversa y 5) la adsorción, que utiliza diversas matrices porosas para la fijación de estos (Kamga, 2019; Ahmad, et al., 2010).

La adsorción en materiales porosos se ha investigado ampliamente debido a su simplicidad, alta eficiencia y bajo costo operativo; evaluando y desarrollando una extensa cantidad de materiales para este fin (Shetty, et al., 2020). Particularmente, cuando se habla de biosorción, se hace referencia al uso de biomasa viva o muerta para la recuperación de especies iónicas disueltas en agua. Un claro ejemplo es lo señalado por Mehmandost et al., 2020, quienes utilizando tallos de plantas *Heracleum Persicum*, cuya lignocelulosa (materia seca vegetal) posee grupos funcionales cargados negativamente, lograron remover el paraquat en agua hasta en un 82.2 % (Mehmandost, et al., 2020). Asimismo, este tipo de materiales macroporosos cuentan con áreas superficiales específicas de 50 m²/g promedio, lo que les confiere una mayor capacidad adsortiva. En cuanto al tipo de biomasa a escala de laboratorio, se ha evaluado la capacidad adsortiva de una vasta gama de biosorbentes, principalmente: plantas, algas, hongos, artrópodos, bacterias y levaduras; (Ramirez Lemus, 2002; Kamga, 2019)

En la tabla siguiente se enlistan diferentes sorbentes utilizados para la remediación de paraquat, así como investigaciones sobre el empleo de distintos bioadsorbentes para la remediación de otros contaminantes (tabla 1.5).

Tabla 1.5 Adsorbentes utilizados para la remediación de paraquat y otros contaminantes en soluciones acuosas.

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Nanoabsorbentes magnéticos de núcleos de magnetite funcionalizado con conchas silíceas biohíbridas,	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	257 mg/g	30 -90 µg/mL	78 -95 %	(Fernandes, Soares, Trindade, & Daniel-da-Silva, 2017)
2,2,6,6-Tetrametilpiperidina 1-oxil (TEMPO) nanofibras de celulosa oxidadas	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	100 mg/g	0.5 – 2.5 mg/mL	-	(Tu, et al., 2019)
Membranas de alginato y quitosano	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	37.79 µmol/L/g	5 – 200 µmol/L	-	(Cocenza, A. de Moraes, Beppu, & Fraceto, 2012)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Resinas de amberlita XAD-2 y XAD-4	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	20 mg/g	2.5 – 10 mg/L	--	(Leite, T. dos Reis, Robaina, Pacheco, & Cassella, 2013)
Textil recubierto con polímero de ciclodextrina aniónico	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	4.5 - 23.7 mg/g	10 – 250 mg/L	-	(Junthip, Jumrernsuk, Klongklaw, Promma, & Sonsupap, 2018)
calix[n]arenas (n = 4, 6, 8)	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	411 - 419 mg/g	0.05 – 2 mmol/L	-	(Shetty, et al., 2020)
Láminas de óxido de grafeno de doble oxidación (GO)	Soluciones acuosas sintéticas	Azul de Nilo y Paraquat	131,58 y 101,01 mg/g (respectivamente)	10 – 20 mg/L	-	(Alipour & Namazi, 2007)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
recubiertas por polidopamina						
Polímero de ciclodextrina reticulado con ácido cítrico	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	20.8 mg/g	25 -200 mg/L	78.3 %	(Junthip, Jatupol, 2019)
Carbón de piedra de dátil activado (Phoenix dactylifera)	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	34.48 – 55.56 mg/g	75 - 125 mg/L	-	(Danish, Sulaiman, Rafatullah, Hashim, & Ahmad, 2010)
Cáscara de arroz modificada con ácido metacrílico	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	317.7 mg/g	36 – 120 mg/L	99 %	(Hsu & Pan, 2007)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Aserrín de Ayous (Triplochiton schleroxylon)	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat	9.47 mg/g	1 - 6 g/L	-	(Nanseu-Njiki, Dedzo, & Ngameni, 2010)
Tallos de Heracleum Persicum	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat y diquat	347.8 y 275.4 mg/g (respectivamente)	24 y 19 mg/L (respectivamente)	82.2 y 93.2 % (respectivamente)	(Mehmandost, et al., 2020)
Carbón activado de Ayous (Triplochiton schleroxylon)	Agua potable	Paraquat	60 mg/g	100 – 400 µg/L	87 %	(Sielinchi & Thue, 2014)
Carbón activado de Sapelli (Entandrophragma cylindricum)	Agua potable	Paraquat	88 mg/g	100 – 400 µg/L	90 %	(Sielinchi & Thue, 2014)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Cianobacterias filamentosas termófilas Letolyngbya 7M	Soluciones acuosas sintéticas	Paraquat y Bromacil	24.4 y 66.8 mg/g (respectivamente)	30 – 300 y 100 -500 mg/L (respectivamente)	-	(Brenes-Guillén, Fuentes-Schweizer, García-Piñeres, & Uribe-Lorío, 2019)
Sustrato de lignocelulosa (salvado de trigo)	Agua residual	Pesticidas: Terbumetrón, Desetil terbumetrón, Dimetomorfo e Isoproturón.	1 – 8 g/kg	2×10^{-7} - 3×10^{-4} mol/L.	-	(Boudesocque, Guillon, & Aplincourt, 2008)
Carbón de fibra de coco	Soluciones acuosas sintéticas	Atrazina	-	50 – 100 µg/L	90 %	(Sharma, Kumar, & Joseph, 2008)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Carbón de aserrín	Soluciones acuosas sintéticas	Atrazina	-	50 – 100 µg/L	85.9 - 86.3 %	(Sharma, Kumar , & Joseph, 2008)
Salvado de arroz (Oryza sativa)	Soluciones acuosas sintéticas	Triazofos	0.0082 ± 0.1 mmol/g	(3.2–32) × 10 ⁻⁵ mol/L	98 ± 1.3 %	(Akhtar, Iqbal, Bhanger, & Moazzam, 2009)
Cáscara de arroz (Oryza sativa)	Soluciones acuosas sintéticas	Triazofos	0.025 ± 0.1 mmol/g	(3.2–32) × 10 ⁻⁵ mol/L	94 ± 1.2 %	(Akhtar, Iqbal, Bhanger, & Moazzam, 2009)
Cenizas volantes de azúcar	Agua residual	Pesticidas: DDD y DDE	(7.5-7.7) × 10 ⁻³ y (6.5–6.7) × 10 ⁻³ mg/g (respectivamente)	2.0 ± 30.0 µg/L	93 %	(Gupta & Ali, 2001)
Macro hongos (sojar caju)	Agua residual	Pesticidas: 2,4-D y atrazina	0.08 y 0.087 mg/g (respectivamente)	0.5–7.5 mg/L	-	(Alam, Dikshit, & Bandyipadhyay, 2000)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Macro hongos (sojar caju)	Agua residual	Endosulfán	1.575 mg/g	5 -50 mg/L	90.4 %	(Sudhakar & Dikshit, 1999)
Membranas de Sargazo Spp (S. natans y S. fluitans)	Soluciones acuosas sintéticas	Azul de metilo, naranja de metilo, rojo de metilo y Pb (II).	-	4, 3, 6 y 50 mg/L (respectivamente)	100, 65, 25 y 95 % (respectivamente)	(López-Mirando, et al., 2020)
Algas Sargassum filipendula	Soluciones acuosas sintéticas	clorhidrato de propranolol	-	0.1 – 3.5 mmol/L	93 %	(Coelho, Resende de Andrade, Carlos da Silva, & Adeodato Vieira, 2019)
Sargassum glaucescens	Soluciones acuosas sintéticas	As (III) y As(V)	116.6 y 207.3 mg/g (respectivamente)	50–200 mg/L	-	(Tabaraki & Heidarizadi, 2018)

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
Biomasa de Sargassum glaucescens	Soluciones acuosas sintéticas	Hg (II)	147.05 mg/g	7 -1000 ng/L	95.1 %	(Esmaeili, Saremnia, & Kalantari, 2015)
Biomasa de Gracilaria corticata	Soluciones acuosas sintéticas	Hg (II)	3.503 mg/g-	7 -1000 ng/L	90 %	(Esmaeili, Saremnia, & Kalantari, 2015)
Alga café (Sargassum muticum)	Soluciones acuosas sintéticas	Cr (VI)	196.10 mg/g	10 -50 mg/L	84 %	(Bermúdez-González, Rodríguez-Rico, Guibal, Calero de Hoces, & Martín-Lara, 2012)
Alga café (Sargassum sp) cargado con 0.1	Soluciones acuosas sintéticas	Co (II)	80.27 mg/g	300 mg/L	-	(Soleymani, Khani, Pahlavanzadeh, &

Adsorbente	Matriz	Contaminantes	Capacidad de adsorción	Intervalo de concentración	Porcentaje de adsorción	Referencia
mol/L Mg(NO₃)₂·6H₂O						Manteghian, 2015)
Sargassum sp.	Soluciones acuosas sintéticas	Ni (II)	71.66 mg/g	0.5 – 7 mol/L	70 %	(Barquilha, Cossich, Tavares, & Silva, 2018)
Sargassum filipendula	Soluciones acuosas sintéticas	Pb (II), Cd (II) y Ni (II)	367.94, 103.5 y 34.3 mg/g,	-	-	(Verma, Kumar, Balomajumder, & Kumar, 2018)
Sargassum horneri	Soluciones acuosas sintéticas	⁹⁰Sr, ⁶⁰Co y ⁵⁴Mn	-	10 – 50 mg/L, 10 – 1000 y 10 – 1000 µg/L (respectivamente)	81.2%, 81.7% y 84.2% (respectivamente)	(Wang, Shan, & Pang, 2021)

Tal como se puede ver en la tabla, se han realizado diferentes esfuerzos por encontrar mejores materiales, capaces de remover paraquat de matrices acuosas, como los Calix [n] areno (Shetty, et al., 2020), textiles recubiertos con polímero de ciclodextrina aniónico (Junthip, Jumrernsuk, Klongklaw, Promma, & Sonsupap, 2018), carbón activado preparado de residuos de madera (Sielinchi & Thue, 2014), Membranas de alginato y quitosano (Cocenza, A. de Moraes, Beppu, & Fraceto, 2012), entre otros. Aunque también se pueden encontrar el uso de algunos biosorbentes para la remoción de paraquat, como el aserrín de madera de samba o Ayous (Kamga, 2019; Nanseu-Njiki, Dedzo, & Ngameni, 2010) o Cianobacterias filamentosas termófilas *Letolyngbya* 7M con capacidad de adsorción de 24.4 mg/g (Brenes-Guillén, Fuentes-Schweizer, García-Piñeres, & Uribe-Lorío, 2019).

Se han reportado algunos otros biosorbentes utilizados para la remoción de otros herbicidas como Macro hongos (sojar caju) para en 2, 4-D y atrazina en agua residual con una capacidad de adsorción para cada uno de 0.08 y 0.087 mg/g, respectivamente (Alam, Dikshit, & Bandyopadhyay, 2000), otro ejemplo son las membranas de Sargazo Spp (*S. natans* y *S. fluitans*) utilizadas para la remoción colorantes tóxicos (azul de metileno, naranja de metilo y rojo de metilo) y metales como el plomo (Pb^{2+}) (López-Mirando, et al., 2020), como se puede notar en años recientes se ha estudiado la capacidad bioadsorbente del sargazo para contaminantes específicos como clorhidrato de propranolol (Coelho, Resende de Andrade, Carlos da Silva, & Adeodato Vieira, 2019), estroncio (^{90}Sr), cobalto (^{60}Co), manganeso (^{54}Mn) (Wang, Shan, & Pang, 2021) y zinc (Zn^{2+}) (Zhou, et al., 2012), por mencionar algunas investigaciones.

En la biomasa de algas pardas, como lo es el sargazo, el principal mecanismo de biosorción reportado es el intercambio iónico que implica unión química y atracciones electrostáticas a través de varios grupos funcionales presentes en su superficie (Verma, Tewari, & Rai, 2008). En estos casos, la unión de metales catiónicos depende directamente de la presencia de grupos hidroxilo, carboxilo, amino y sulfato, que son grupos superficiales predominantes de las algas pardas (Ungureanu, Santos, Boaventura, & Botelho, 2018). Estos grupos funcionales están

presentes principalmente en lípidos, polisacáridos y proteínas en su superficie celular (He & Chen, 2014). Los ácidos carboxílicos son los grupos de sitios de unión más abundantes en las algas pardas porque la pared celular está formada principalmente por ácido algínico (alginato) un copolímero lineal de ácido manurónico y ácido gulurónico residuos, que son responsables de la quelación de iones de metales (por ejemplo, Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , etc.) (R. Santos, Ungureanu, Volf, R. Boaventura, & S. Botelho, 2018). En general, los mecanismos de biosorción son complejos, y están sujetos a diferentes factores que pueden interferir con la eficiencia del proceso en términos de cinética y equilibrio, entre ellos: pH, concentración de iones, temperatura y tiempo de contacto (Ahmad, Bhat, & Buang, 2018; Bilal, y otros, 2018).

Debido a la naturaleza catiónica del paraquat (figura 1.1) y considerando las investigaciones previamente mencionados, como un análogo a un catión metálico, se propone la evaluación de la remoción de paraquat de matrices acuosas empleando como biosorbente al sargazo. Y evaluando su efectividad mediante el método de extracción en fase sólida acoplado a su determinación por espectrofotometría UV, propuesto en el presente trabajo.

1.2.3 Métodos de determinación de paraquat

Considerando la importancia de cuantificar el paraquat ya sea para diagnosticar su toxicidad, el destino ambiental o bien la eficiencia de remoción de diversos materiales, la determinación del herbicida en diferentes matrices es imprescindible. Los herbicidas de bipyridilo (quats) se suelen determinar por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en fase reversa, sin embargo, debido al carácter catiónico de estos compuestos es posible su cuantificación por medio electroforesis capilar (EC), aunque también se ha reportado el uso de cromatografía de líquidos acoplado a masas (CL-MS), electrodos selectivos, espectrofotometría UV y visible, entre otras técnicas (Carneiro, Puignou, & Galceran, 2000; Lara Sandoval, García Colmenares, & Chaparro Acuña, 2015; Colín, 2017; Pateiro-Moure, Martínez-Carballo, Arias-Estévez, & Simal-Gándara, 2008).

La US EPA para la determinación de paraquat y diquat en agua potable recomienda el método 549.2 de cromatografía de líquidos de alta eficiencia de pares iónicos en fase reversa con detector de arreglo de diodos, absorbiendo en 257 y 308 nm respectivamente, la extracción se hace utilizando cartuchos C8 (EPA US. Environmental Protection Agency, 1997).

La determinación de paraquat puede hacerse mediante espectrofotometría visible, esto al hacer reaccionar al catión con un agente reductor como ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), borohidruro de sodio (NaBH_4), entre otros, produciendo así una especie radical color azul, la cual absorbe a 394 nm. Aunque estas reacciones son cuantitativas, esta técnica presenta algunos inconvenientes como la inestabilidad del radical en presencia del oxígeno, perdiendo intensidad en el color, mayores tiempos de preparación de muestra y el uso de mayor cantidad de reactivos (Colín, 2017; Chuntib & Jakmunee, 2015).

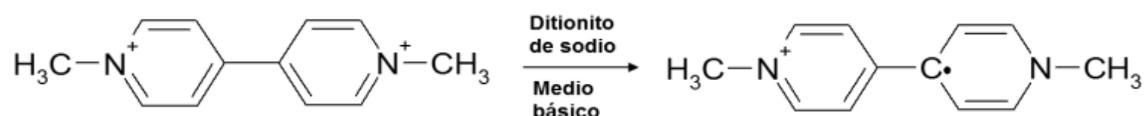


Fig. 1.3. Reacción de derivatización de paraquat con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ en medio básico (Colín, 2017).

El paraquat también absorbe en la región ultravioleta a 258 nm, por lo que su determinación puede hacerse de manera directa por espectrofotometría ultravioleta, reduciendo así los tiempos de análisis y los costos al usar menor cantidad de reactivos. En la siguiente tabla se hace un recuento de algunos métodos reportados para la determinación y cuantificación del paraquat en diferentes matrices.

Tabla 1.6. Métodos para la determinación y cuantificación de paraquat en distintas matrices.

Técnica	Matriz	Preparación de muestra	Recobro (%)	LD	LC	Referencia
Cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-MS)	Tejido cerebral	Extracción asistida por microondas.	90	2 ng/mL	-	(Winnik, et al., 2009)
Electroforesis capilar con detección ultravioleta (EC-UV) a 214 nm	Agua de río	Sistema automatizado de extracción en fase sólida (ASPEC XL) con cartuchos de Sílica 60.	80 - 85	0.3 µg/L	-	(Mallat, Barzen, Abuknesha, Gauglitz, & Barceló, 2001)
Inmunosensor óptico (River ANALyzer, RIANA)		Fluoroinmunoensayo, la muestra se coloca con anticuerpos anti-paraquat marcados con Cy5.5 y ovoalbúmina.	-	0.06 µg/L	-	
Cromatografía de líquidos con detección UV (258 nm)	Suelo	Digestión MeOH/5% EDTA (70/30).	98 – 108	10 µg/kg	20 µg/kg	(Pateiro-Moure , Martínez-

Técnica	Matriz	Preparación de muestra	Recobro (%)	LD	LC	Referencia
		Extracción asistida por microondas.	102 – 112	50 µg/kg	100 µg/kg	Carballo, Arias-Estévez, & Simalgándara, 2008)
Cromatografía de líquidos acoplada a masas	Suelo	Digestión MeOH/5% EDTA (70/30).	98 – 108	1.0 µg/kg	2.0 µg/kg	(Pateiro-Moure, Martínez-Carballo, Arias-Estévez, & Simalgándara, 2008)
		Extracción asistida por microondas.	102 – 112	3.0 µg/kg	7.5 µg/kg	
Sistema de inyección en flujo continuo con detección espectrofotométrica (600 nm)	Orina	Derivatización: Se realiza la reducción del paraquat en medio básico con glucosa, formando un producto coloreado, determinable por espectrofotometría visible.	97.9 – 102.1	0.4 µg/mL	1.0 µg/mL	(Luna, Di Bernardo, García, Ovalles, & Calderón, 2008)
Voltamperometría de onda cuadrada, electrodo de trabajo de carbón vítreo, Ag/AgCl como electrodo de	Papa	Extracción sólido-líquido con acetona y diclorometano (CH ₂ Cl ₂) y posteriormente extracción sohxlet con CH ₂ Cl ₂ .	93	50 µg/g	150 µg/g	(Lara Sandoval, García Colmenares, &

Técnica	Matriz	Preparación de muestra	Recobro (%)	LD	LC	Referencia
referencia y como electrodo auxiliar uno de platino						Chaparro Acuña, 2015)
Cromatografía de gases acoplada a masas	Plasma sanguíneo	Precipitación de las proteínas con ácido tricloroacético y después la reducción del paraquat con borohidruro de sodio.	70	0.03 mg/L	-	(Van Dijk, Ebberink, de Groot, & Maes, 1977)
Cromatografía de líquidos acoplada a masas	Sangre	Se precipitan las proteínas con acetonitrilo para posteriormente hacer	87.3 – 94.9	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	(Tsao, Lai, Liu, Liu, & Lin, 2016)
	Orina	extracción líquido-líquido con CH ₂ Cl ₂ .	88.9 – 108.4	0.1 mg/mL	0.2 mg/mL	
Espectroscopía Raman de superficie mejorada combinado con nanopartículas de oro	Jugo de manzana	Extracción en fase sólida (CNWBOND WCX).	94.7 – 114.8	0.02 µg/mL	0.1 µg/mL	(Luo, et al., 2018)

Técnica	Matriz	Preparación de muestra	Recobro (%)	LD	LC	Referencia
Cromatografía de líquidos de ultra alta eficiencia acoplado a un espectrómetro de masas	Frijol (Vigna unguiculata)	Tras moler y homogeneizar la muestra con agua, se hizo extracción sólido-líquido con MeOH/HCl 0.5 mol/L (6:4).	70 – 103	0.02 mg/kg	-	(Pizzutti, et al., 2016)
Cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a masas	Aceite de oliva	Extracción con N-Hexano/HFBA 10 mmol/L.	96 - 112	4 µg/kg	-	(Aramendía , et al., 2006)
Sistema colorimétrico de inyección de flujo simple detectado por un colorímetro de resistencia dependiente de diodo emisor de luz simple	Agua natural	Extracción sólido líquido cartucho con resina de intercambio iónico Dowex 50WX8-100 y la reducción de paraquat con Na ₂ S ₂ O ₄ .	72 – 85	0.5 mg/L	-	(Chuntib & Jakmune, 2015)

1.3 Métodos de preparación de muestra

Cuando se desea analizar muestras de origen ambiental, farmacéutico, biomédico o alimentos, es necesario realizar algún tipo de preparación de muestra, resultado de que los analitos de interés se encuentren en muy pequeñas cantidades y/o a la complejidad de la matriz (Picó, Fernández, Ruiz, & Font, 2007). Actualmente, se han desarrollado numerosas técnicas de preparación de muestra, las cuales pueden ser usadas de manera individual o en forma secuencial, considerando la complejidad de la muestra, su naturaleza, la de los analitos y las técnicas instrumentales disponibles para su análisis (Berrueta, Gallo, & Vicente, 1995).

El concepto principal de un método de preparación de muestras es convertir una matriz real a un formato de muestra que sea adecuado para su análisis, los objetivos de estos métodos son (Smith, 2003; Buszewski & Szultka, 2012):

- La eliminación de las interferencias graves de la muestra para aumentar la selectividad de las etapas de separación y detección.
- El aumento de la concentración y la sensibilidad del analito (preconcentración).
- Convertir el analito en una forma más adecuada para detectar, determinar y/o separar (derivatización).
- Aplicar técnicas más reproducibles que no dependan de las variaciones de la matriz de la muestra.
- Reducir el tamaño de muestra necesaria.
- Reducir las operaciones manuales y mejorar el potencial de automatización o técnicas en línea.
- Trabajar con metodologías amigables con el ambiente (química verde), con menor o nulo uso de disolventes orgánicos y menor generación de residuos.

En la siguiente tabla (Tabla 1.7) se presenta la descripción y algunas de las características más importantes de ciertos métodos utilizados para la preparación de muestras.

Tabla 1.7. Características de algunas técnicas de preparación de muestras.

Método de preparación	Descripción	Características
Derivatización	El analito en la muestra se hace reaccionar con un agente (derivatizante) para producir una especie química que presenta una propiedad más adecuada para su análisis. Las reacciones de derivatización suelen ser reacciones químicas simples de rendimiento cuantitativo (Falaki, 2019).	Se suele usar mayormente en cromatografía de gases para aumentar la volatilidad y disminuir la polaridad de los compuestos, estabilizar compuestos inestables a altas temperaturas, mejorar la separación o mejorar el comportamiento de los compuestos frente a detectores selectivos (Falaki, 2019).
Extracción líquido-líquido (ELL)	El soluto es repartido entre dos fases inmiscibles, generalmente, una fase acuosa y la otra un disolvente orgánico, la separación se basa en la distribución del analito entre las fases y depende principalmente de su afinidad por una de ellas (Harvey, 2000).	Su eficiencia se determina por la constante de equilibrio de distribución del soluto entre las dos fases (Harvey, 2000). Requiere grandes volúmenes de disolvente orgánico y muestra, generando gran cantidad de residuos y es posible la formación de emulsiones (Mitra, 2003).
Extracción en fase sólida (EFS)	La muestra líquida se hace pasar a través de un sorbente sólido, el cual se encuentra confinado dentro de una columna, donde queda retenido el analito, que posteriormente es eluído con el disolvente o la disolución apropiado (Özdemir, Yalçın, & Kiliç, 2021).	Se puede acoplar en línea a un sistema de cromatografía de líquidos o gases (Picó, Fernández, Ruiz, & Font, 2007). Proporciona mayores factores de concentración que ELL y se es utilizada para almacenar analitos sorbidos o como vehículo para su derivatización química (Mitra, 2003).

Método de preparación	Descripción	Características
Micro-extracción en fase sólida (MEFS)	Los analitos se extraen de manera directa con el uso de una fibra de sílice fundida de diámetro pequeño recubierta con una fase estacionaria polimérica adecuada o en la superficie interna de un tubo capilar, que después se extraen con un disolvente adecuado (CL) o mediante calor (CG) (Falaki, 2019).	Se puede acoplar a sistemas cromatográficos facilitando la automatización, con alta capacidad de concentración, selectividad y realizar análisis de trazas. Es utilizada para extraer compuestos orgánicos semivolátiles, siempre que la muestra esté relativamente limpia (Mitra, 2003).
Extracción asistida por barra	Se utiliza una barra de agitación recubierta con una fase sorbente, se coloca en la muestra (líquida) para separar al analito, durante un período de tiempo considerando el volumen de muestra y la velocidad de agitación, hasta llegar al equilibrio (Mitra, 2003).	La barra de agitación se desorbe térmicamente en CG o usando disolventes en CL (Picó, Fernández, Ruiz, & Font, 2007), puede ser acoplada a la extracción por sorción de espacio de cabeza (Head Space), tiene menores factores de preconcentración con la MEFS o la EFS (Falaki, 2019).
Extracción ultrasónica (Sonicación)	Utiliza vibración ultrasónica para asegurar un contacto más eficiente entre la muestra y el disolvente (Falaki, 2019). El disolvente utilizado debe ser adecuado para los analitos en la muestra (Mitra, 2003).	Es una técnica rápida, pero la eficiencia de extracción no es tan efectiva como con otras técnicas. Además, la irradiación ultrasónica puede descomponer compuestos volátiles (Falaki, 2019).
Extracción por fluido	Los fluidos supercríticos son sustancias que se encuentran por encima de su temperatura y presión	Debido a las propiedades de los fluidos supercríticos como su alta difusividad y baja viscosidad, extraen de

Método de preparación	Descripción	Características
supercrítico (EFSC)	críticas, son una interfaz entre gas y líquido, poseen propiedades que facilitan la extracción de orgánicos de muestras sólidas (Mitra, 2003).	manera selectiva distintos analitos sin pasos de limpieza adicionales utilizando pequeñas cantidades de muestra (Rissato, Galhiane, Knoll, & Apon, 2004).
Extracción acelerada por disolventes	Utiliza disolventes a altas temperaturas, 100 - 180 °C y presiones, 1500 - 2000 psi, para aumentar el porcentaje de extracción de compuestos orgánicos en muestras sólidas (Falaki, 2019).	Es más efectiva que EFSC, a presiones más altas aumenta la penetración del disolvente en la muestra, a temperaturas más altas se mejora la transferencia de masa y la solubilidad del analito (Mitra, 2003).
Dispersión de matriz en fase sólida	La muestra es dispersada sobre un soporte sólido, tras un paso de limpieza para eliminar los interferentes de matriz. Se eluye con mínimos volúmenes de disolvente o disolución (Picó, Fernández, Ruiz, & Font, 2007).	Implica un menor consumo de disolventes y generación de residuos. Es utilizado en matrices con alto contenido de grasas (Picó, Fernández, Ruiz, & Font, 2007).
QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)	Proceso de dos etapas: extracción y limpieza. En la primera se usa MgSO ₄ para reducir el contenido de agua en la muestra o NaCl o NaC ₂ H ₃ O ₂ anhidro. En la segunda se utiliza PSA (amina primaria/secundaria) para la eliminación de ácidos orgánicos y de pigmentos polares (González-Curbelo, et al., 2015).	Es utilizado para el análisis multi-residuo de pesticidas en alimentos y productos agrarios. Es un método robusto que ofrece altas recuperaciones, resultados precisos, rapidez de tratamiento, pequeños volúmenes de disolvente. Se encuentran a la venta kits especializados para analitos y matrices específicas (González-Curbelo, et al., 2015).

1.4 Extracción en fase sólida (EFS)

Debido a las características fisicoquímicas del paraquat la extracción en fase sólida (EFS) resulta ser un método adecuado para su extracción, purificación y preconcentración.

La EFS fue introducida en 1970 como una solución para los inconvenientes que se presentaban durante la extracción líquido-líquido, reduciendo los tiempos de preparación, sobre todo cuando se tienen métodos automatizados, se pueden manipular muestras pequeñas (50 – 100 μL), resultando en menores volúmenes de disolvente, además de que se evita la formación de emulsiones (Berrueta, Gallo, & Vicente, 1995).

La extracción en fase sólida se refiere a la disminución de los constituyentes químicos de una muestra líquida que fluye a través de un adsorbente sólido, quedando retenidos el analito o un conjunto de analitos en su superficie, para su posterior recuperación mediante su elución (desorción), con una disolución o disolvente adecuado. (Mitra, 2003). Generalmente, este adsorbente se coloca en un pequeño cartucho de plástico, similar al de una jeringa, donde posteriormente se hace pasar un volumen conocido de la muestra, aplicando presión, por vacío o por centrifugación. Los adsorbentes utilizados son sustancias porosas, por los cuales los analitos seguirán la ruta de difusión a través los poros hasta alcanzar su superficie y reaccionar por un mecanismo específico (Buszewski & Szultka, 2012; Christian, 2009). Este adsorbente debe ser elegido de acuerdo con las características fisicoquímicas del analito. Tal como lo reportan las guías de extracción en fase sólida de Waters, donde indica que se debe realizar un balance hidrofílico-lipofílico para la selección del cartucho, así como considerar el área superficial específica, el tamaño promedio de poro, el volumen total y el tamaño de partícula promedio, además de la funcionalización del copolímero orgánico (Waters Corporation, 2010).

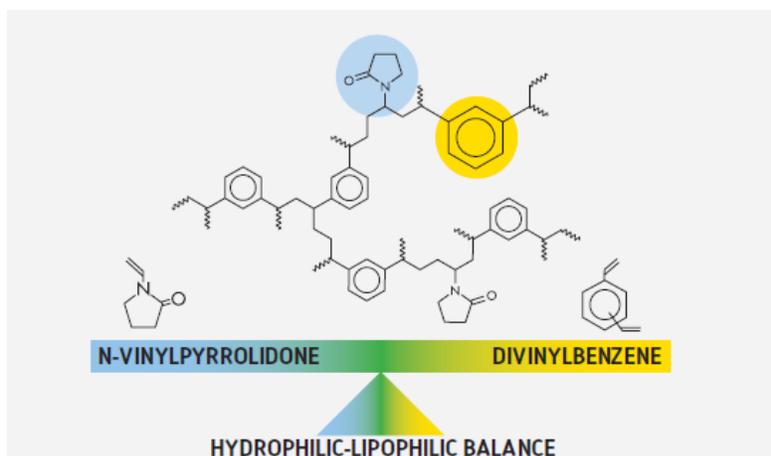


Fig. 1.4. Balance hidrofílico-lipofílico para la adecuada selección del cartucho de extracción en fase sólida (Waters Corporation, 2010).

Una de las ventajas de esta metodología es que se puede trabajar en diferentes formatos, dependiendo de las necesidades del método analítico. A continuación, se enlistan algunas de las maneras en las que se puede operar.

- Cartuchos para EFS: se trata de una jeringa de polipropileno o de vidrio de entre 1 a 6 mL, en donde se encuentra empacado el adsorbente, este se encuentra dentro de dos fritas con un tamaño de poro de 20 μm , las cuales pueden ser de teflón, polietileno o acero inoxidable (Buszewski & Szultka, 2012).
- Discos: el extrayente se encuentra dentro de discos de PTFE (poli(tetrafluoroetileno)) o de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro. La menor área transversal y la disminución de la profundidad, permite mayores flujos para manejar muestras grandes con bajas concentraciones de analito (Christian, 2009).
- Precolumnas: de acero inoxidable para resistir altas presiones, se llaman sistemas en línea porque suelen estar conectados a un sistema de cromatografía de líquidos, tanto como para preconcentración o limpieza de la muestra previo al análisis. Su diámetro está entre 2 y 4.6 mm y longitudes de 2 a 15 mm (Berrueta, Gallo, & Vicente, 1995; Buszewski & Szultka, 2012).

- Microcolumnas: Suelen tener flujos entre 1 a 10 $\mu\text{L}/\text{min}$, debido a que el caudal se ve muy limitado debido a su reducido diámetro interno (Zwir-Ferenc & Biziuk, 2006).

1.4.1 Tipos de sorbente en extracción en fase sólida (EFS)

La selección adecuada del adsorbente es fundamental para obtener una EFS eficiente, este debe ser elegido tomando en cuenta las características fisicoquímicas del analito y la naturaleza de la matriz. El proceso de sorción debe ser reversible, es decir que los analitos después de ser adsorbidos puedan eluirse fácil y completamente de las partículas sólidas. Los adsorbentes para extracción en fase sólida también debe ser porosos, con una gran superficie de contacto, estar libres de impurezas lixiviables, tener gran estabilidad frente a la matriz de la muestra, a los disolventes o disoluciones de lavado y a la elución y regeneración, además de tener buen contacto superficial con la solución de muestra (Mitra, 2003).

En la siguiente tabla se resumen algunos tipos de sorbentes utilizados en extracción en fase sólida.

Tabla 1.8. Tipos de adsorbentes utilizados para EFS.

Tipo de sorbente	Características	Interacción
Polares: Sílica (SiO_2) _x , alúmina (Al_2O_3), silicato de magnesio (MgSiO_3)	Fase normal (fase estacionaria polar-fase móvil no polar) para analitos de alta polaridad contenidos en matrices no polares (Mitra, 2003).	Interacciones polares, como puentes de hidrógeno, dipolo - dipolo, $\pi - \pi$, dipolo -dipolo inducido (Mitra, 2003).
No polares: C8, C18 o fases poliméricas mixtas	Fase reversa (fase estacionaria no polar-fase móvil polar) para analitos de baja polaridad, hidrofóbicos,	Fuerzas de Van der Waals o fuerzas de dispersión (Mitra, 2003).

Tipo de sorbente	Características	Interacción
	disueltos en matrices de acuosas (Mitra, 2003).	
<p align="center">Carbono grafitizado</p> <p>Graphitized carbon blacks (GCBs) y porous graphitic carbons (PGCs)</p>	Compuestos orgánicos muy polares y solubles en agua de muestras acuosas (Mitra, 2003).	En los GCB los sitios de adsorción polar surgen de complejos de oxígeno. Los PGC poseen una superficie plana y homogénea, en capas de carbonos donde los electrones p deslocalizados seleccionan entre analitos planos y no planos (Mitra, 2003).
<p align="center">Resinas de intercambio iónico</p> <p>RCO_2^-, RNH_3^+, SO_3^-, NR_4^+</p>	Para analitos de naturaleza iónica (Mitra, 2003).	El grupo funcional cargado en el sorbente se asocia con el contraión con carga opuesta mediante interacciones electrostáticas (Mitra, 2003).
<p align="center">Molecular imprinted polymers (MIPs)</p>	Polímeros sintéticos con sitios de reconocimiento generados artificialmente que se unen de forma específica a una molécula plantilla. Muestras muy complejas. (Tamayo, Turiel, & Martín-Esteban, 2007).	Puede ser por reconocimiento de la forma o mediante enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas e hidrófobas (Tamayo, Turiel, & Martín-Esteban, 2007).

Considerando lo anterior, debido a la naturaleza catiónica del paraquat, es posible utilizar resinas de intercambio iónico para el protocolo de extracción en fase sólida, que contengan ácido sulfónico o grupos funcionales de ácidos carboxílicos unidos a sílice. La resina de intercambio catiónico más comúnmente utilizada es Dowex 50-X8, la cual es un intercambiador de ácido fuerte con un poliestireno divinilbenceno,

con la que se han reportado resultados positivos para la recuperación y preconcentración de paraquat (Colín, 2017; Waters Corporation, 2010).

Las fases de intercambio iónico dependen más del pH, la fuerza iónica y la fuerza contraiónica que de la fuerza del disolvente. (Waters Corporation, 2010; Agilent Technologies, 2018). A pesar de su selectividad para compuesto orgánicas dotada por el por el co-polímero de la resina, puede existir interferencia en matrices con una composición compleja y alto contenido de iones (Divjak, Goessler, Haddad, & Novic, 2003). Una caracterización de las muestras explicaría problemas en la retención del analito en el cartucho debido a la naturaleza de esta.

1.4.2 Parámetros de extracción en fase sólida (EFS)

Tras determinar el modo en que se realizará la extracción en fase sólida y haber seleccionado el adsorbente adecuado considerando las propiedades fisicoquímicas del analito y la naturaleza de la matriz, se deben seguir las siguientes etapas en un experimento de EFS: 1. Acondicionamiento, 2. Equilibramiento, 3. Carga, 4. Lavado, 5. Elución y 6. Regeneración (Berrueta, Gallo, & Vicente, 1995). En el proceso de extracción en fase sólida se debe optimizar cada uno de estos parámetros considerando el sistema que se trabajará.

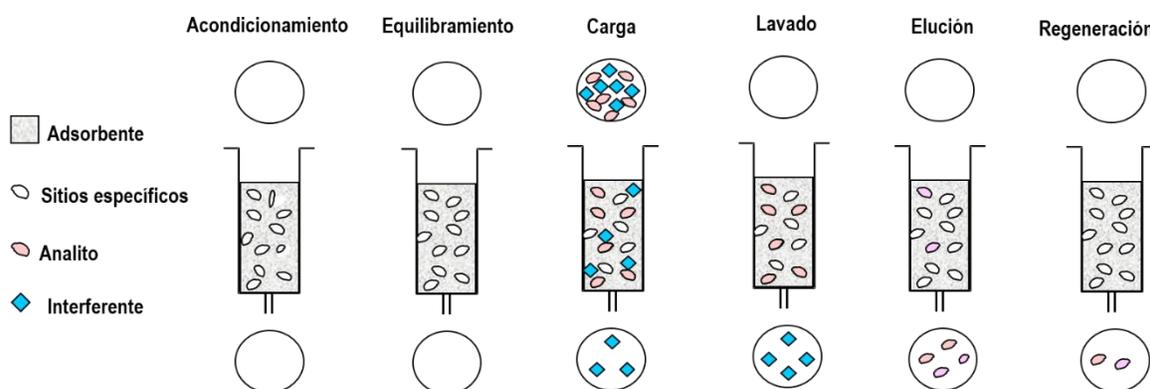


Fig. 1.5. Secuencia típica de extracción en fase sólida (EFS).

1.4.2.1 Acondicionamiento y equilibramiento

En el acondicionamiento se hace pasar un disolvente por el cartucho, comúnmente un disolvente orgánico, el cual acondiciona la superficie del sorbente, que permite que se la resina se hinche, ya que los grupos funcionales del sorbente se solvatan y eliminan las impurezas, lo que resulta en un mayor número de sitios disponibles donde pueda realizarse la retención.

En el equilibramiento, se hace pasar un líquido similar a la matriz de la muestra, esto con el fin de eliminar del sorbente el disolvente utilizado para la activación del sorbente.

1.4.2.2 Carga

En esta etapa se hace pasar por el cartucho la muestra ya sea por gravedad, por centrifugación o con ayuda de un sistema de vacío o bomba de flujo peristáltico. Con esto se espera que los analitos queden retenidos en el sorbente, propiciando la separación, es importante señalar que muchos otros componentes de la muestra pueden quedar atrapados en la resina.

Es necesario que el volumen de carga se optimice considerando las características de la muestra, sobre todo en el caso de muestras de origen ambiental donde la concentración del analito es baja, pues si el volumen es excesivo, el analito de interés puede comenzar a fugarse debido a que la capacidad del sorbente ha sido saturado.

1.4.2.3 Lavado

Tras hacer pasar la muestra en el cartucho y considerando que no solo el analito puede estar retenido en el cartucho, es necesario hacer pasar un disolvente o una disolución con la capacidad de eluir del cartucho solo estas sustancias indeseables, sin remover el analito o los analitos de interés.

1.4.2.4 Elución y regeneración del adsorbente

En la etapa de elución o recuperación del analito, se hace pasar una disolución acuosa o algún disolvente orgánico apropiado, que sea afín al analito, en un volumen conocido mucho menor al volumen inicial de muestra, esto con el fin de desorberlo de manera cuantitativa de la resina y garantizar el mayor factor de concentración posible para su posterior cuantificación.

Generalmente para la extracción de paraquat se eligen eluyentes disoluciones salinas de ácido, con el fin de lograr que el coeficiente de reparto del sistema fase sólida/disolvente o disolución favorezca la elución (por ejemplo, $\text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+$). El cloruro de amonio se indica en algunas fuentes como el disolvente más adecuado para la elución de herbicidas de tipo cuaternarios (Colín, 2017; Picó, Font, Moltó, & Mañes, 2000).

La regeneración es el paso final de la metodología de extracción en fase sólida, en éste, mediante un disolvente adecuado se busca restablecer las características iniciales del sorbente.

1.5 Espectrofotometría UV

La espectrofotometría ultravioleta-visible, es una técnica de análisis cuantitativo fundamentada en la interacción de la energía electromagnética con la materia (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008). La radiación electromagnética se puede explicar como una forma de energía radiante que se propaga en forma de ondas transversales, la cual se puede describir en términos de longitud de onda (λ), que es la distancia que ocupa un ciclo completo, o en términos de frecuencia (ν), que se explica como la cantidad de ciclos que pasan por un punto fijo por unidad de tiempo. La unidad de longitud de onda de la radiación electromagnética varía desde algunos angstroms hasta metros (Christian, 2009).

En la figura 2.3 se pueden observar las diversas regiones del espectro electromagnético. La región ultravioleta (UV) se extiende desde los 10 hasta los 380 nm, dentro la región UV se encuentra el ultravioleta cercano de 200 a 380 nm y por debajo de 200 nm se conoce como la región del ultravioleta al vacío, pues en estas

longitudes de onda el aire absorbe radiación en manera considerable, por lo que los instrumentos deben trabajar en condiciones de vacío. La región visible (Vis) comprende la región del espectro que es visible por el ojo humano y ésta abarca de 380 a 780 nm (Christian, 2009).

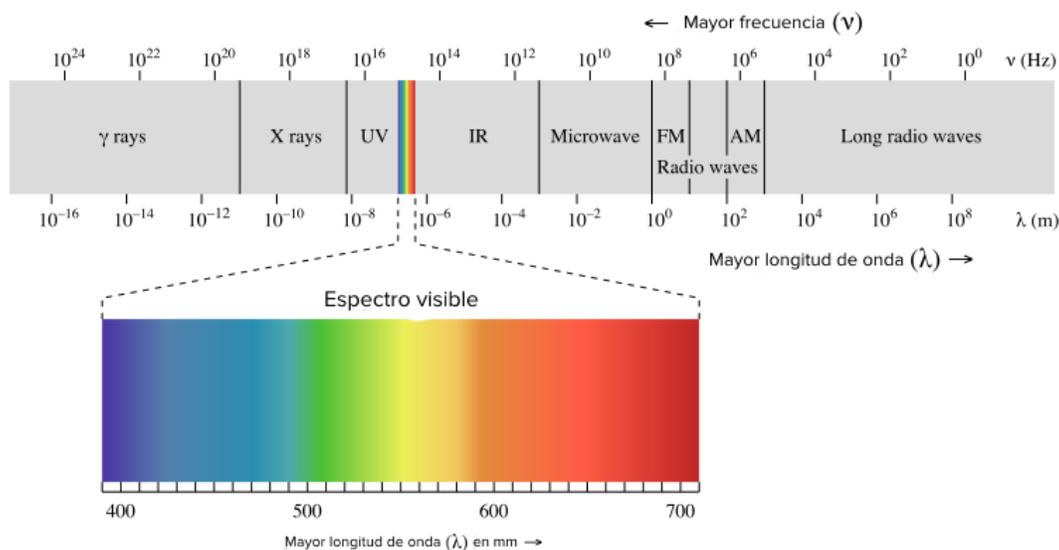


Fig. 1.6. Regiones del espectro electromagnético (Khan Academy , s.f.).

Cuando una molécula absorbe un fotón, la energía de la molécula aumenta, entonces, de este modo la radiación visible y UV hacen que los electrones pasen a orbitales de mayor energía, por lo que se dice que ha pasado a un estado excitado. (Harris, 2006). La espectrofotometría UV-Vis se fundamenta en medir la radiación monocromática absorbida por un elemento o molécula responsable de dichas transiciones (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).

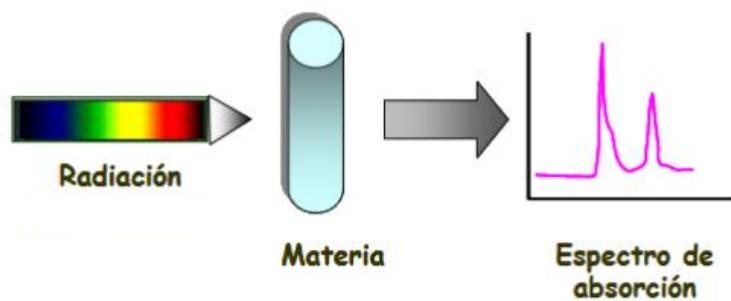


Fig. 1.7. Interacción de la radiación con la materia (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).

La cantidad de radiación monocromática que absorbe una muestra obedece a la ley de Beer-Bouguer-Lambert, conocida como ley de Beer (Christian, 2009), ésta establece que, bajo ciertas condiciones, la cantidad de energía electromagnética monocromática absorbida por un elemento, es directamente proporcional a la concentración de la(s) especie(s) que absorbe(n) y a la longitud de la trayectoria de la muestra para un conjunto de condiciones instrumentales establecidas (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).

$$A = \epsilon bc \quad (\text{Ec. 1.1})$$

Donde; A es la absorbancia, también conocido como densidad óptica, es un parámetro adimensional. El coeficiente de absorción molar o coeficiente de extinción, ϵ , es una característica de la sustancia que nos dice cuanta luz absorbe a una longitud de onda determinada y se expresa en unidades de (L/mol*cm), la longitud de paso óptico o espesor de la celda b , se expresa en cm, mientras que c , la concentración de la muestra, c , cuyas unidades son (mol/L) (Harris, 2006).

La ley de Beer se aplica a la radiación monocromática, funcionando mejor con disoluciones diluidas, de concentraciones menores o iguales a 0.01 mol/L. También puede explicarse a través de la relación entre la intensidad de la luz transmitida o energía radiante I y la energía radiante incidente I_0 , la cual es una función del espesor de la celda b a través del medio absorbente (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008);

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad (\text{Ec. 1.2})$$

Entonces, la transmitancia (Ec. 2.3) es la fracción de luz incidente que pasa a través de la muestra (Harris, 2006);

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (\text{Ec. 1.3})$$

Por lo qué, la absorbancia se puede definir como;

$$A = -\log T \quad (\text{Ec. 1.4})$$

Los compuestos aromáticos y heterocíclicos, debido a sus enlaces conjugados, absorben fuertemente la radiación ultravioleta. En ocasiones, cuando un compuesto no absorbe en la región del UV-Vis, se puede emplear una reacción de derivatización, que dé lugar a un compuesto que sí absorba en esta región (Christian, 2009).

Los espectrofotómetros son instrumentos que descomponen la radiación policromática en distintas longitudes de onda, estos tienen en su sistema un monocromador que permite la selección de la longitud de onda con una alta resolución. Por otro lado, un fotocolorímetro utiliza sólo sistemas de filtros para seleccionar un intervalo de longitudes de onda con una menor resolución que el espectrofotómetro (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).

En la siguiente figura se presenta un diagrama de bloques de espectrofotómetro.

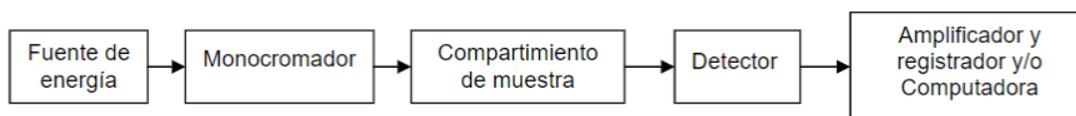


Fig. 1.8. Diagrama de los principales componentes de un espectrofotómetro (Centro Nacional de Metrología. CENAM, 2008).

Estos instrumentos necesitan de: 1) una fuente de radiación continua en las longitudes de onda de interés; 2) un seleccionador de una banda angosta de longitudes de onda del espectro de la fuente (un monocromador); 3) una celda para contener la muestra durante el análisis; 4) un detector que convierta la energía radiante en energía eléctrica y 5) un amplificador o registrador que pueda interpretar la respuesta del detector (Christian, 2009). En la siguiente tabla se profundiza un poco más sobre las características de estos componentes.

Tabla 1.9. Características de los principales componentes de un espectrofotómetro.

Componente	Características
Fuente	Para la región visible se utiliza la lámpara incandescente de filamento de tungsteno, es una fuente continua de 320 a 240 nm. Para UV, se utiliza un tubo de descarga de H ₂ o de D ₂ a baja presión, es continua de 160 nm a 380 nm (Christian, 2009).
Seleccionador	Los filtros de absorción absorben de manera selectiva la radiación dentro de la región visible del espectro, tienen anchuras de banda de entre 30 y 250 nm, el más común es una pieza de vidrio coloreado. Los filtros de interferencia usan interferencia constructiva y destructiva para aislar un intervalo estrecho de longitudes de onda. Tienen anchos de banda de entre 10 a 20 nm (Skoog, Holler, & Nieman, 2001).
	Los monocromadores realizan barridos espectrales, son lentes o espejos que enfocan la radiación por medio de redes de difracción (rejillas), prismas o filtros que producen la separación angular de las longitudes de onda de la radiación policromática (Christian, 2009). Una vez que la radiación de la fuente incide sobre la rendijilla de entrada, se convierte en un haz de rayos paralelos, mediante un espejo cóncavo, que inciden sobre una rejilla o prisma que dispersa la luz en las longitudes que la componen, incidiendo en un segundo espejo que enfoca solo una banda estrecha de longitudes de onda a la rendija de salida del monocromador (Harris, 2006). Para la región UV-Visible las rejillas tienen entre 15 000 y 30 000 líneas por pulgada (Skoog, Holler, & Nieman, 2001).
Contenedores para la muestra	Para la región UV se utilizan celdas de cuarzo o sílice fundido (SiO ₂), mientras que en el visible se usan de vidrios de silicato o de plástico (Skoog, Holler, & Nieman, 2001). Generalmente se utilizan prismas rectangulares huecos de 1 cm de ancho entre sus paredes internas (Christian, 2009).

Componente	Características
Transductor o detector	<p>Su respuesta es una función de la longitud de onda de los fotones incidentes (Skoog, Holler, & Nieman, 2001). Los fototubos, emiten electrones hasta un colector con carga positiva, produciendo una corriente proporcional a la intensidad de la radiación. Los de tubo fotomultiplicador, son más sensibles y requieren radiación de menor intensidad, se componen de un cátodo fotoemisor y una serie de dinodos, cada uno de potencial más positivo, se libera un electrón primario que choca con el primer dinodo, causando la liberación de electrones secundarios que se aceleran al siguiente electrodo liberando más electrones, hasta alcanzar 10 etapas de amplificación, los electrones se colectan en el ánodo. Los de grupo de diodos, consisten en cientos de fotodiodos de silicio, sobre un chip o cristal de silicio, su lectura es por descarga periódica y tardan entre 5 y 100 ms en leer todo el conjunto, pueden registrar todo el espectro simultáneamente, desde UV hasta IR cercano (Christian, 2009) (Christian, 2009).</p>
Amplificador	<p>La señal eléctrica, generada por el transductor se envía a un procesador de señal el cual es un computador que muestra la señal del transductor en forma que pueda ser fácilmente interpretable por el analista (Harvey, 2000).</p>

1.6 Agua residual de la Zona Metropolitana del Valle de México

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) está conformada por 59 municipios del Estado de México, 1 del Hidalgo y 16 alcaldías de la Ciudad de México cuenta con una extensión territorial de 7 866 km² (OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development, 2015) y según el Censo nacional en la zona habitan más de 21 millones de personas (INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2020). Esta pequeña extensión y la alta tasa de habitantes hacen que la ZMVM sea una de la cuarta metrópolis con mayor densidad poblacional a nivel mundial de acuerdo con la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development, 2015).

En la ZMVM, la generación de aguas residuales diarias es de aproximadamente 52 m³ s⁻¹ (Chávez, Maya, Gibson, & Jiménez, 2011) y de acuerdo con la SEMARNAT la generación anual asciende a los 1, 255.8 millones de m³ año⁻¹ (SEMARNAT. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2014) y está directamente relacionada con la población. Las aguas residuales se dividen en dos: 1) Las Municipales/Domésticas procedentes de comercios, escuelas y hogares de localidades tanto urbanas como rurales, cuya agua se recolecta en el sistema de alcantarillado y 2) las aguas residuales industriales, que son generadas, captadas y distribuidas a través de procesos industriales de cualquier índole.

El sistema de drenaje profundo de la ciudad de México está compuesto por un túnel de drenaje profundo principal (Emisor Central) conformado por 9 interceptos adyacentes, que en conjunto son los encargados de conducir las aguas residuales de la zona centro y poniente de la metrópoli a lo largo de 150 km de longitud, transportando hasta 120 m³ s⁻¹ de agua residual (CONAGUA Comisión Nacional del agua, 2018; Breña, 2003).

Las aguas residuales han sido utilizadas para irrigar (vía inundación) más de 80,000 ha de cultivos, de maíz, alfalfa, cebada y sorgo, entre otros por más de 100 años; dentro del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo (Figura 1.8), el cual, está situado a 80 km al Norte de la ZMVM, siendo el esquema de reúso de agua más

longevo en el país y probablemente en el mundo (Siebe & Cifuentes, 2015). El Valle del Mezquital está catalogado como una zona semiárida con una temperatura media anual de 17 °C y una precipitación promedio variable de 700 mm en el sureste a 400 mm en el norte, durante de la época de lluvias (junio-septiembre). Motivo por el cual, el riego con agua residual es indispensable para mantener los altos rendimientos de producción agrícola en la zona centro del país (INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía , 2020; Siebe & Cifuentes, 2015; Chávez, Maya, Gibson, & Jiménez, 2011).

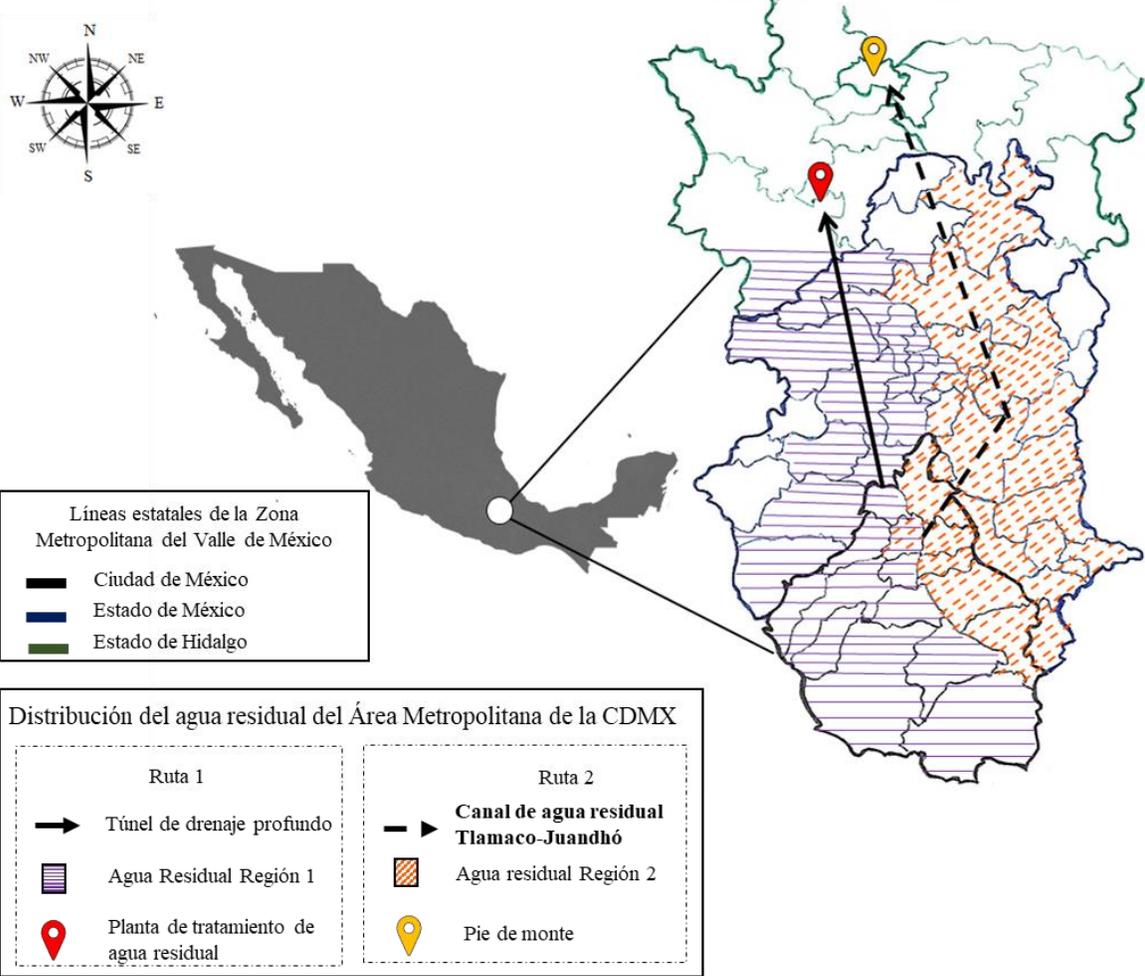


Fig. 1.9 Mapa de la Ciudad de México y los distritos de riego del estado de Hidalgo (Chávez, Maya, Gibson, & Jiménez, 2011; Rodríguez Varela, 2019)

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general Desarrollar una metodología extracción en fase sólida para la determinación y cuantificación de concentraciones a niveles de traza de paraquat en muestras de agua de origen ambiental mediante espectrofotometría UV.

2.2 Objetivos particulares

- Revisión bibliográfica sobre los métodos de recuperación de paraquat en muestras de agua, así como métodos de bio-remediación con sargazo como biosorbente.
- Evaluar la estabilidad del estándar de paraquat en disolución acuosa durante un periodo de cinco meses.
- Desarrollar y optimizar una metodología de extracción en fase sólida (EFS) para la extracción, purificación y preconcentración de paraquat en muestras de agua residual cruda. Aplicar la metodología de extracción en fase sólida en muestras de agua residual provenientes del canal Tlamaco-Juandhó.
- Evaluar el impacto de la adsorción del paraquat en el protocolo de extracción en fase sólida al percolar agua residual con un elevado contenido de cationes mayoritarios.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Material y equipo

1. Espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution®, modelo 201.
2. Celda cuadrada de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
3. Purificador y desionizador de agua Mili-Q marca Millipore®, modelo 185.
4. Balanza analítica con capacidad de 210 g y precisión de 1 mg, marca OHAUS®, modelo Explorer.
5. Para la determinación de aniones y cationes mayores, en las muestras de estudio, se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución constituido de dos bombas binarias modelo 1525, un automuestreador modelo 717 plus y un detector de conductividad modelo 432, todos ellos de la marca Waters®, una columna catiónica metroSep C6 250 de 250 x 4.0 mm de Metrohm®, empacada con partículas de diámetro de 5 μm y una columna aniónica IC-Pak Anion HR marca Waters®, de 4.6 x 75 mm, empacada con partículas de 5 μm de diámetro.
6. Extraction Manifold, marca Waters®.
7. Bomba de vacío, Marca Pall, 115 V, 60 HZ de una fase.
8. Bomba auxiliar HPLC, Scientific Systems®, Serie I.
9. Cartuchos Oasis® MCX 6 cc Marca Waters® con 150 mg de adsorbente.
10. Micropipetas, Thermo Scientific™, modelo Finn timer™ F1, de 10 - 100 μL , 100 - 1000 μL y 1 - 10 mL.
11. Matraces volumétricos de 10.0 y 500.0 mL, clase A marca PYREX®.
12. Filtros de nylon de 0.45 μm de tamaño de poro Millipore®.

3.2 Reactivos y disolventes

1. Cloruro de amonio (NH_4Cl), estándar analítico, Sigma Aldrich®.
2. Dicloruro de paraquat, PESTANAL grado analítico, Sigma Aldrich®,
3. Agua ultrapura de resistividad 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ a 25 °C.
4. Ácido clorhídrico, grado reactivo analítico, Sigma Aldrich®.
5. Metanol CHROMASOLV® Plus, grado HPLC ($\geq 99.9\%$), Sigma Aldrich®.
6. Acetonitrilo CHROMASOLV® Plus, grado HPLC ($\geq 99.9\%$), Sigma Aldrich®.

7. Butanol grado HPLC ($\geq 99.9\%$), Sigma Aldrich®.
8. Disolución 0.02 M de ácido dipiridin carboxílico Sigma Aldrich®.
9. Ácido bórico, grado reactivo analítico, Sigma Aldrich®.
10. Tetraborato de sodio, grado reactivo analítico, Sigma Aldrich®.
11. Gluconato de sodio, grado reactivo analítico, Sigma Aldrich®.
12. Ácido nítrico, grado reactivo analítico, Sigma Aldrich®.

3.3 Metodología

3.3.1 Condiciones analíticas para la determinación de paraquat mediante espectrofotometría UV

Para la determinación de paraquat por medio de espectrofotometría UV se seleccionó la longitud de onda en donde el analito presentó la máxima absorbancia. Para ello, se realizó un barrido de longitudes de onda en el espectrofotómetro en el intervalo comprendido entre 200 y 400 nm, empleando una disolución de 20 mg/L de paraquat en NH_4Cl al 2.5 % (m/v), haciendo uso de una celda de cuarzo para el análisis.

3.3.2 Preparación de la disolución de cloruro de amonio al 2.5 % (m/V)

Las disoluciones patrón de paraquat se prepararon utilizando como disolvente una disolución 2.5 % (m/v) de NH_4Cl . Para esta, se pesaron 12.5 ± 0.2 g de NH_4Cl , se disolvieron en agua desionizada y se llevaron a un volumen final de 500.0 mL.

3.3.3 Preparación de la disolución de cloruro de amonio saturada

Dentro de los eluyentes utilizados para el protocolo de extracción en fase sólida, se utilizó una disolución de cloruro de amonio saturada, considerando que la solubilidad del NH_4Cl es de 39.5 g por 100 g de agua (20 °C) (National Library of Medicine (National Center for Biotechnology Information), 2021), se pesaron aproximadamente 97.5 g de NH_4Cl , se disolvieron en agua desionizada y se llevaron a un volumen final de 250 mL (≈ 7.3 mol/L), se colocó una barra magnética y se mantuvo agitación en una parrilla sin calentamiento, de manera gradual se fueron

adicionando pequeñas cantidades de la sal, hasta observar que la formación de cristales la disolución.

3.3.4 Preparación de la disolución patrón de paraquat

Se preparó una disolución patrón de paraquat de concentración aproximada a 500 mg/L, en NH_4Cl 2.5 % m/V, a partir de dicloruro de paraquat, PESTANAL grado analítico. Con esta disolución se prepararon todos los estándares y las muestras utilizadas en el presente trabajo.

La disolución anterior, se almacenó en un frasco de vidrio ámbar bajo refrigeración (4 °C), por no más de dos meses contados a partir de su fecha de preparación.

3.3.5 Evaluación de la estabilidad de la disolución patrón de paraquat

Con el objetivo de evaluar la estabilidad del paraquat en la disolución patrón preparada en el laboratorio, aproximadamente, cada dos semanas a partir de su elaboración se preparó un estándar de 20 mg/L del analito en cloruro de amonio saturado. Se determinó su absorbancia a 258 nm, utilizando como blanco la disolución de NH_4Cl saturado. Posteriormente, mediante el uso de pruebas de significancia (F-Fisher y t-Student para varianzas homocedásticas), se realizó la comparación de los valores medios de absorbancia obtenidos.

La selección de fechas de preparación de los estándares se realizó de forma aleatoria a lo largo de un periodo de cuatro meses, procurando obtener al menos tres mediciones del estándar por cada mes evaluado.

3.3.5 Determinación del intervalo lineal medición directa espectrofotometría UV

Se determinó el intervalo de concentraciones en el que el analito presenta una respuesta lineal de absorbancia en función de la concentración, esto a través de la elaboración de curvas de calibración preparadas por triplicado y de manera independiente, considerando 7 niveles de concentración en el intervalo que

comprendido entre 0.2 mg/L a 40 mg/L, en cloruro de amonio saturado, debido a que es el eluyente del procedimiento de extracción en fase sólida.

La medición de dichos estándares se realizó utilizando el método descrito en el apartado 3.3.1, siendo el blanco la disolución de cloruro de amonio saturado y midiendo las disoluciones estándar en orden creciente de concentración. Previo a la medición se enjuagaba la celda con el blanco y posteriormente con un poco del estándar a medir.

Una vez obtenidos los valores de absorbancia para cada uno de los estándares de paraquat se graficaron en función de la concentración, se realizó la regresión lineal para generar la ecuación de la recta y el valor de su coeficiente de correlación (r), con la anterior y mediante su inspección visual se determinó el intervalo lineal. Posteriormente se obtuvo el gráfico de residuales para verificar que no existía alguna tendencia y garantizar su linealidad. Por último, se realizaron pruebas de significancia, prueba t-Student, a la pendiente y la ordenada al origen de la ecuación de la recta.

3.4 Optimización del protocolo de Extracción en Fase Sólida (EFS)

Establecidas las condiciones experimentales óptimas para la cuantificación de paraquat por espectrofotometría UV, como método de preparación de muestra se optimizó el protocolo de extracción en fase sólida.

Para las etapas de acondicionamiento, equilibramiento del protocolo de extracción en fase sólida, se consideraron las condiciones establecidas por el fabricante y lo reportado por Colín, A. en 2017. Adicionando un paso de regeneración con ácido clorhídrico de concentración 1 mol/L y agua desionizada para restaurar los sitios activos de la resina catiónica del cartucho y asegurar la extracción de los residuos de disolventes utilizados durante el protocolo de EFS, para de esta forma hacer más eficiente el uso y el rendimiento de cada cartucho.

En la tabla 3.1 se muestran los volúmenes y las disoluciones que se utilizaron para estos pasos durante todos los experimentos de extracción en fase sólida (EFS) realizados en el presente trabajo.

Tabla 3.1. Condiciones de trabajo para las etapas de acondicionamiento, equilibramiento y regeneración del protocolo de extracción en fase sólida (EFS) para el cartucho Oasis® MCX 6 cc de Waters.

Etapa		Volumen	Disolución
Acondicionamiento		10 mL	Metanol grado HPLC (MeOH)
Equilibramiento		3 mL	Agua desionizada
Regeneración	1°	50 mL	Agua desionizada
	2°	20 mL	Ácido Clorhídrico 1 mol/L
	3°	35 mL	Agua desionizada

En la tabla 3.2 se presentan los parámetros del protocolo de extracción en fase sólida que se optimizaron en el presente trabajo, donde también, se consideró lo reportado por Colín, A. en 2017 como antecedente.

Tabla 3.2. Parámetros optimizados en cada etapa del protocolo de EFS.

Etapa	Parámetros evaluados
Lavado	Disolución de lavado
Elución	Composición del eluyente
	Volumen de elución
Carga	Volumen de carga
	Velocidad de flujo

La optimización de los parámetros en cada una de las etapas descritas en la tabla 3.2 se realizaron utilizando el sistema presentado en la figura 3.1, percolando como disolución de carga, a un flujo de 2 mL/min, 500.0 mL de una disolución de paraquat en agua desionizada de concentración 0.4 mg/L.



Fig. 3.1. Sistema de extracción en fase sólida (EFS) utilizando una bomba auxiliar de HPLC.

3.4.1 Evaluación de la disolución de lavado del cartucho

Para verificar que el disolvente de lavado no tuviera la fuerza elutrópica necesaria para movilizar al paraquat retenido en el cartucho de extracción. Se evaluó una disolución de ácido clorhídrico 0.1 mol/L como disolvente de lavado. Para ello, se adicionaron 5 mL de HCl (0.1 mol/L) al cartucho con un flujo de 2 mL/min. Una vez percolada por el cartucho, se tomó una alícuota de 2 mL y se analizó espectrofotométricamente UV ($\lambda = 258$ nm) con base en la metodología descrita en el apartado 3.3.1. Análogamente, las condiciones de acondicionamiento, equilibramiento y regeneración se muestran en la Tabla 3.1. Esta evaluación se realizó para tres ciclos del protocolo de extracción.

3.4.2 Determinación de la composición del eluyente

Con el fin de determinar el mejor eluyente para el protocolo de extracción en fase sólida, se tomó en consideración lo reportado por Picó et al. 2000, y por Colín A. 2017. Donde se utiliza al cloruro de amonio como el principal componente de las disoluciones.

Con las condiciones reportadas en la tabla 3.1 y como disolución de carga 500.0 mL de concentración 0.4 mg/L de paraquat en agua desionizada, equivalente a 200 µg de paraquat y 5.0 mL de HCl 0.1 mol/L para el lavado del cartucho, se procedió con la evaluación de dos disoluciones de NH₄Cl de diferente composición (tabla 3.3) para obtener la elución cuantitativa del analito. Se empleó un volumen de eluyente de 10.0 mL y una velocidad de flujo de 2 mL/min. Al igual que para las etapas de carga y lavado, los efluentes recolectados a la salida del cartucho provenientes de la etapa de elución también fueron analizados por espectrofotometría UV, bajo las condiciones descritas en el apartado 3.3.1. Con la concentración de paraquat determinada en el efluente proveniente de etapa de elución, se calcularon los µg de paraquat al final del proceso y finalmente, al considerar la masa de paraquat inicialmente cargada se determinó el porcentaje de recuperación del protocolo de EFS de acuerdo con la ecuación 3.1. Se tomaron los resultados de tres experimentos de EFS independientes.

Tabla 3.3. Eluyentes evaluados para la recuperación de paraquat en el protocolo de EFS.

Eluyente	Composición
NH ₄ Cl	2.5 % m/v
	Disolución saturada (≈ 7.3 mol/L),

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{masa de paraquat eluida}}{\text{masa de paraquat cargada}} \times 100 \quad (\text{Ec. 3.1})$$

3.4.3 Evaluación del volumen de elución

Para determinar el volumen de la disolución de NH_4Cl saturado necesario para extraer la mayor cantidad de paraquat retenido en el cartucho, se decidió eluirlo con diferentes volúmenes indicados en la tabla 3.4, manteniendo como volumen de carga 500.0 mL de agua desionizada con 200 μg de paraquat. Para estos experimentos se consideraron las condiciones descritas en los puntos 3.4.2 y 3.4.3 para las etapas de acondicionamiento, equilibramiento, lavado y regeneración del cartucho de EFS.

Tabla 3.4. Volúmenes de NH_4Cl saturado evaluados para la elución de paraquat en el protocolo de EFS.

Volumen de carga (mL)	Cantidad de paraquat (μg)	Volumen de NH_4Cl saturado (mL)
500.0	200	10.0
		12.0
		13.0
		15.0

La elución con los diferentes volúmenes se realizó de manera consecutiva, es decir se inició percolando 10.0 mL de cloruro de amonio saturado a través del cartucho, el efluente recuperado (efluente 1) se analizó de acuerdo con lo descrito en el punto 3.3.1, a continuación, se percolaron 2.0 mL más de cloruro de amonio saturado a través del mismo cartucho, el efluente resultante (efluente 2) se mezcló y homogeneizó con el efluente 1, la mezcla resultante también fue analizada. Posteriormente se percolaron, de manera independiente, 1.0 y 2.0 mL más de la disolución saturada de NH_4Cl , para generar el efluente 3 (13.0 mL) y el efluente 4 (15.0 mL), los cuales también fueron analizados por espectrofotometría UV. Cada uno de los experimentos anteriores fue realizado por triplicado.

Cabe señalar que para trabajar los protocolos de EFS en este momento del desarrollo experimental se implementó el uso de un sistema de extracción colectiva (extraction manifold) y una bomba de vacío (Fig. 3.2), con el cual se pueden cargar de manera simultánea hasta 20 cartuchos de extracción en fase sólida, agilizando así el tiempo de preparación de las muestras. Con el sistema manifold se realizaron las etapas de carga y regeneración del cartucho, mientras que las de acondicionamiento, equilibramiento, lavado y elución se continuaron haciendo con la bomba auxiliar de HPLC (Fig. 3.1).

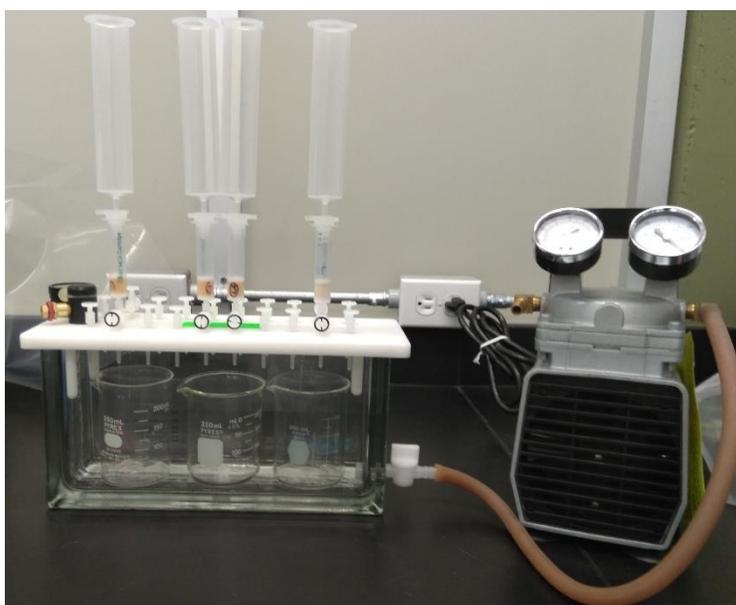


Fig. 3.2. Sistema de extracción en fase sólida (EFS) utilizando un sistema de extracción colectiva, Waters® con cuatro cartuchos Oasis® MCX 6 cc de Waters®.

3.4.4 Determinación del volumen de carga de la muestra

Se evaluó el volumen de carga para optimizar el protocolo de extracción en fase sólida, promoviendo tres condiciones principales: 1) determinar menores concentraciones de paraquat, 2) evitar la fuga del analito durante la etapa de carga y 3) obtener el mayor factor de concentración posible. Para ello, se propusieron 250.0 y 500.0 mL como volumen de carga, los cuales se prepararon a 7 niveles de concentración por triplicado y de forma independiente (Tabla 3.5). Las disoluciones se sometieron al proceso de extracción en fase sólida y se cuantificaron por espectrofotometría UV ($\lambda = 258$ nm).

Con los resultados obtenidos de absorbancia para cada uno de los niveles de concentraciones evaluados en ambos volúmenes, se determinaron los porcentajes de recuperación (Ec. 3.1), su error asociado y su desviación estándar relativa. También, se obtuvieron los gráficos de concentración de paraquat recuperada tras el protocolo de extracción en fase sólida (mg/L) en función de la concentración de paraquat inicial (mg/L) y mediante regresión lineal se estableció la ecuación de la recta para cada volumen donde, el valor de la pendiente obtenida corresponde al factor de concentración del método de EFS. El factor de concentración obtenido del gráfico se comparó con el factor de concentración obtenido con la ecuación 3.2 (Waters Coporation, 2008), donde m , corresponde al valor de la pendiente de la recta del intervalo lineal de la medición directa espectrofotometría UV y m_{EFS} , al valor de la pendiente de la recta obtenido tras graficar la correlación entre la carga inicial y la absorbancia medida tras el proceso de extracción en fase sólida.

$$\text{Factor de concentración} = \frac{m_{EFS}}{m} \quad (\text{Ec. 3.2})$$

Además, se obtuvieron los gráficos de cantidad recuperada de paraquat tras el protocolo de EFS (μg), en función de la cantidad inicial (μg), para cada uno de los volúmenes evaluados, así como, la ecuación de la recta, mediante regresión lineal. Donde: el valor de la pendiente corresponde a un factor representativo del porcentaje de recuperación del método dentro del intervalo de concentraciones evaluado.

Tabla 3.5. Concentraciones y volúmenes de los blancos de muestra de paraquat preparados para determinar el factor de contracción del protocolo del EFS.

Volumen de carga (mL)	Concentración inicial (mg/L)	Cantidad en masa (µg)	Volumen de carga (mL)	Concentración inicial (mg/L)	Cantidad en masa (µg)
250.0	0.005	1.25	500.0	0.005	2.5
	0.01	2.5		0.01	5.0
	0.025	6.25		0.025	12.5
	0.05	12.5		0.05	25.0
	0.1	25.0		0.1	50.0
	0.4	100.0		0.4	200.0
	0.8	200.0		0.8	400.0

3.4.5 Evaluación del flujo de carga

Con la finalidad de optimizar la velocidad de flujo para realizar la carga de la muestra del protocolo de EFS se evaluaron las siguientes velocidades de flujo: 2 mL/min, 3 mL/min y 5 mL/min. Se consideraron las condiciones de trabajo descritas previamente, para las etapas de acondicionamiento, equilibramiento, lavado (5.0 mL de HCL 0.1 mol/L) y regeneración del cartucho de EFS (Tabla 3.1). Se empleó como volumen de muestra para la carga del cartucho 500.0 mL de agua desionizada fortificada con 200 µg de paraquat y como eluyente 10.0 mL de la disolución de cloruro de amonio saturada.

Los efluentes provenientes de la etapa de elución fueron analizados por espectrofotometría UV, bajo las condiciones descritas en el apartado 3.3.1, utilizando como blanco la disolución de NH₄Cl saturado. Con la concentración de paraquat determinada en el efluente proveniente de etapa de elución y

considerando el volumen de 10.0 mL, se calcularon los μg de paraquat al final del proceso y finalmente, al considerar los 200 μg de paraquat inicialmente cargados se determinó el porcentaje de recuperación del protocolo de EFS de acuerdo con la ecuación 3.1. Se trabajó por triplicado cada protocolo de EFS en cada una de las tres velocidades de carga de la muestra.

3.5 Aplicación en muestras de origen ambiental

3.5.1 Muestras

Las muestras fueron recolectadas entre los meses de abril-octubre del año 2019 en el canal de irrigación Tlamaco-Juandhó, derivado del Túnel Emisor Central, en el pueblo de Tlahuelilpan, dentro del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, México. El protocolo de toma de muestra se basó en lo señalado en la norma mexicana NMX-AA-003-1980-Aguas Residuales. Muestreo (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, 2021) y con los procedimientos para recolección de muestras de aguas residuales de la US EPA (U. S. Environmental Protection Agency, 2021).



Fig. 3.3. Imagen satelital del canal Tlamaco-Juandhó, lugar de muestreo (Google Earth, 2021).

Las muestras se tomaron arrojando al canal de irrigación una cubeta de acero amarrada a una soga en tres puntos de muestra a lo largo del canal. Posteriormente se tomó y transfirió 1 L de muestra a una de las botellas de vidrio. Finalmente, las muestras fueron transportados hasta el laboratorio en una hielera, donde se refrigeraron a 4 °C para su posterior análisis. Antes de tomar la muestra representativa, la cubeta se lavó 10 veces con la matriz correspondiente al punto de toma de muestra.



Fig. 3.4. Fotografía del canal de agua residual Tlamaco-Juandhó (Rodríguez Varela, 2019).

3.5.2 Caracterización de muestras ambientales

A las muestras ambientales utilizadas para el presente trabajo se les determinaron los siguientes parámetros: conductividad (Λ), pH, sólidos totales disueltos (TDS), además de la concentración de cationes mayores por medio de cromatografía iónica, lo anterior con el fin de determinar si la naturaleza de la muestra representaba un interferente en la retención del analito en el cartucho de EFS.

3.5.3 Cuantificación de paraquat en muestra ambientales

Previo al protocolo de extracción en fase sólida las muestras de agua residual deben ser filtradas, para evitar que los sólidos suspendidos en la muestra tapen el cartucho de extracción en fase sólida, haciendo difícil percolar la muestra a través de estos. Se utilizó un equipo de microfiltración de vidrio al vacío de la marca MFS (Micro Filtration Systems), con una membrana de poliamida de tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y un área de filtrado de $9.6\ \text{cm}^2$ marca Sartorius®, mostrado en la figura 3.5.



Fig. 3.5. Sistema de filtración con una membrana de poliamida de $0.45\ \mu\text{m}$

Debido a que para el procedimiento de extracción en fase sólida se necesitan 500.0 mL de muestra, es necesario filtrar aproximadamente 2 L de cada muestra. Una vez filtrada la muestra, se inicia el protocolo de EFS, para esto es necesario acondicionar y equilibrar el cartucho (tabla 3.2), posteriormente, se cargaron 500.0 mL de la muestra filtrada, se percolaron 5.0 mL de HCl 0.1 mol/L para lavar el cartucho y se eluyó con 10.0 mL de cloruro de amonio saturado. Esta disolución se analizó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.3.1. Antes de cargar otra muestra en el cartucho este se reacondicionó con las condiciones descritas en la tabla 3.1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Espectro de absorción del paraquat

Con el objetivo de determinar el máximo de absorción del paraquat en la región del ultravioleta, a una disolución de paraquat de 20 mg/L se le realizó un barrido de longitudes de onda en el intervalo de 200 a 400 nm.

En la figura 4.1 se presenta el gráfico obtenido, en este se pueden observar dos máximos de absorción, uno en 204 nm y el otro en 258 nm. Se decidió desarrollar la metodología de cuantificación midiendo en la longitud de onda del pico de mayor absorbancia, que es el de 258 nm, debido a que esta longitud de onda es 0.4 unidades de absorbancia más sensible que la de 204 nm.

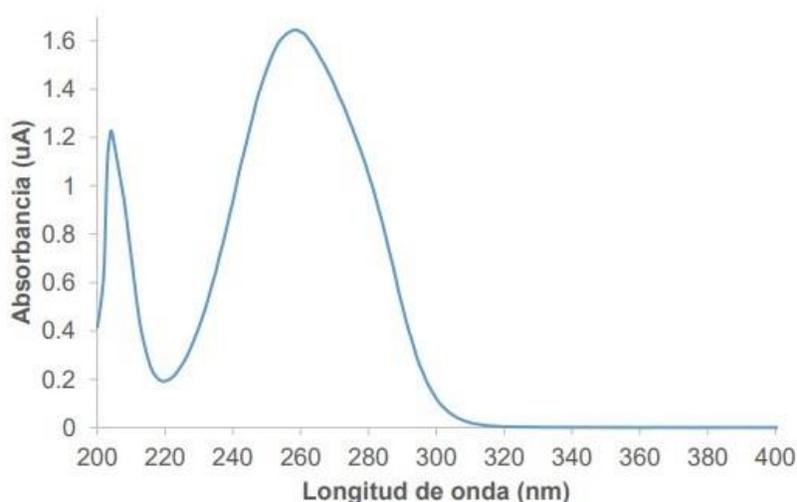


Fig. 4.1. Espectro de absorción de una solución estándar de paraquat de 20 mg/L en el intervalo de 200 a 400 nm.

4.2 Evaluación de la estabilidad de la disolución patrón de paraquat

A continuación, se presentan los resultados de la absorbancia obtenida para las soluciones estándar de 20 mg/L de paraquat en NH_4Cl saturado (tabla 4.1), preparados a partir de una disolución patrón del analito, durante un periodo de aproximadamente cinco meses a partir de su fecha de elaboración (03/07/2019), periodo en que se realizó la parte experimental.

Tabla 4.1. Absorbancias medidas a una solución estándar de paraquat de 20 mg/L preparado en distintas fechas.

Fecha	Absorbancia	Fecha	Absorbancia
25/07/2019	1.776	27/09/2019	1.689
30/07/2019	1.752	30/09/2019	1.655
12/08/2019	1.747	02/10/2019	1.725
14/08/2019	1.773	07/10/2019	1.673
19/08/2019	1.806	16/10/2019	1.649
22/08/2019	1.823	07/11/2019	1.698
30/08/2019	1.773	11/11/2019	1.706

Considerando los datos de la tabla anterior se graficaron las absorbancias agrupadas por el mes de su elaboración (Fig. 4.2), en el cual se puede observar la presencia de dos grupos en los valores de las absorbancias medidas, el primero entre los meses 7 y 8 (grupo 1), que corresponden a julio y agosto, mientras que el otro entre los meses 9, 10 y 11 (grupo 2), correspondientes a septiembre, octubre y noviembre.

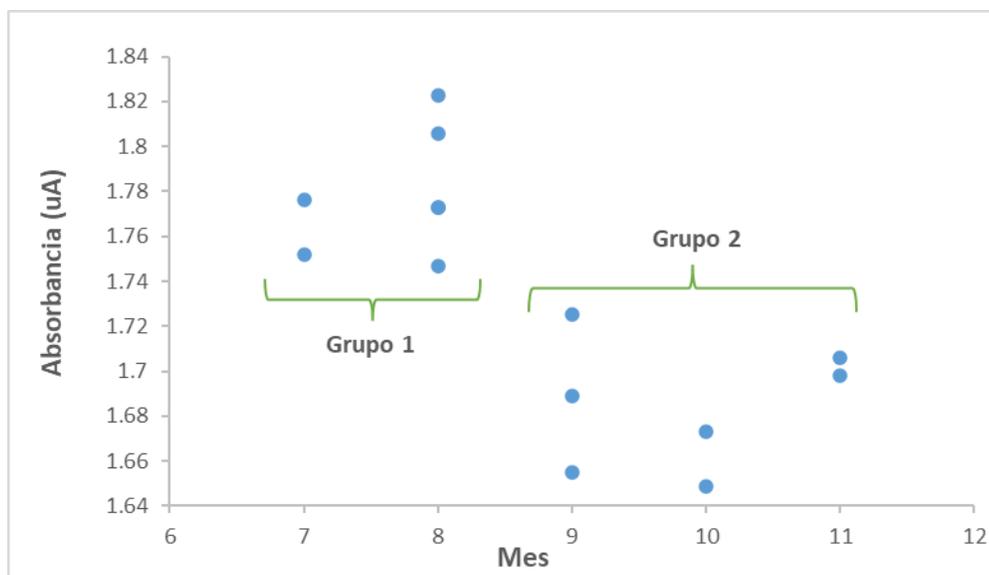


Fig. 4.2. Absorbancias medidas a una solución estándar de paraquat de 20 mg/L agrupadas por meses.

A partir de la figura 4.2 no se puede determinar una tendencia clara que indique la degradación del analito, por lo que, se obtuvo la media grupal de cada grupo y se decidió evaluar la diferencia entre ambos mediante pruebas de significancia usando, la prueba f-Fisher (anexo 1.1) para establecer la homocedasticidad o heterocedasticidad de las varianzas y posteriormente, la prueba t-Student para comparar las medias entre grupos (anexo 1.2).

Con las pruebas de significancia se determinaron diferencias estadísticamente significativas entre el valor medio de las absorbancias de los grupos 1 y 2. Además, se compararon los valores de la media de cada uno de los grupos con el valor de la primera medición del estándar de 20 mg/L, mediante una prueba t-Student, correspondiente al 25/07/2019 (anexo 1.3 y 1.4). Los resultados obtenidos indican que sólo la media del grupo 1 ($t_0 = 0.2510 < t_c = 2.4469$, al 95 % de confianza) es estadísticamente igual a la absorbancia del estándar preparado el 25/07/2019, mientras que para los meses del grupo 2 ($t_0 = - 8.7233 < t_c = - 2.4469$) existe diferencia estadística entre las medias. Esto indica que la concentración del analito en la disolución patrón cambió, considerando lo anterior no es recomendable el uso

de la disolución patrón una vez que ésta cumpla más de dos meses de haber sido preparada.

4.3 Intervalo lineal medición directa espectrofotometría UV

Los resultados utilizados para la elaboración de las curvas de calibración en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 40.0 mg/L de paraquat se presentan en la tabla 4.2, la concentración se encuentra corregida considerando la pureza del estándar de paraquat y el volumen medido con las pipetas.

Tabla 4.2. Valores de absorbancias obtenidos a 258 nm para los estándares de paraquat comprendidos en el intervalo de 0.2 a 40 mg/L.

Concentración de paraquat (mg/L)	Absorbancia (uA) $\lambda = 258 \text{ nm}$				
	1	2	3	Media	s
0.20	0.018	0.018	0.022	0.019	0.0023
0.40	0.031	0.031	0.034	0.032	0.0017
1.00	0.091	0.092	0.122	0.102	0.0176
10.04	0.898	0.908	0.891	0.899	0.0085
19.99	1.776	1.798	1.736	1.770	0.0314
30.04	2.639	2.68	2.594	2.638	0.0430
40.00	3.199	3.223	3.180	3.201	0.0215

Con estos resultados se obtuvo el gráfico de absorbancia en función de la concentración de paraquat (mg/L) (Fig. 4.3).

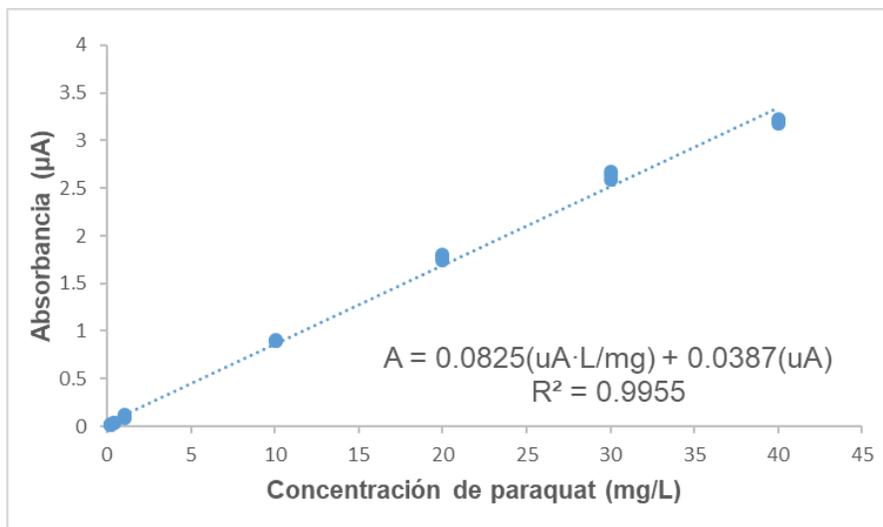


Fig. 4.3. Curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 40.0 mg/L por espectrofotometría ultravioleta ($\lambda = 258 \text{ nm}$).

Una vez realizada la inspección visual del gráfico de calibración, se observó una falta de linealidad del sistema para concentraciones mayores a 30 mg/L, por lo que se decidió establecer el intervalo lineal entre 0.2 y 30.0 mg/L de paraquat.

Al considerar como intervalo lineal, al comprendido entre las concentraciones de 0.2 y 30 mg/L, se obtuvo el gráfico de calibración mostrado en la figura 4.4.

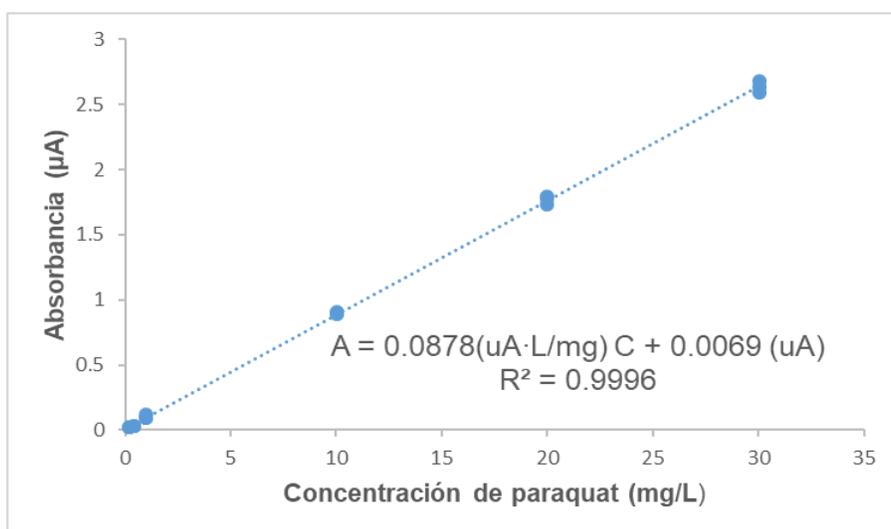


Fig. 4.4. Curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentración de 0.2 a 30 mg/L obtenido por espectrofotometría ultravioleta ($\lambda = 258 \text{ nm}$).

Mediante regresión lineal se determinó la ecuación de la recta (Ec. 4.1), así como el coeficiente de correlación (r) el cual fue de 0.9996, que cumple con lo establecido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAyAC) de la Secretaría de Salud (2011), donde la regresión obtenida se considera lineal cuando este es mayor a 0.98. En la tabla 4.3 se resumen los parámetros de regresión obtenidos.

$$\text{Absorbancia (uA)} = 0.0878 \left(\frac{\text{uA}\cdot\text{L}}{\text{mg}} \right) \text{Concentración} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) + 0.0069 \text{ (uA)} \text{ (Ec. 4.1)}$$

Tabla 4.3. Parámetros estadísticos de la regresión lineal de la curva de calibración de paraquat mediante el empleo directo de la espectrofotometría UV.

Parámetro	Valor
Intervalo lineal	(0.2 – 30.0) mg/L
Pendiente (m)*	(0.0878 ± 0.0009) uA·L/mg
Ordenada al origen (b)*	(0.0069 ± 0.0147) uA
Ecuación de la recta	A (uA) = 0.0878 (uA·L/mg) Concentración (mg/L) + 0.0069 (uA)
Coefficiente de determinación	0.9997
Coefficiente de correlación	0.9996
N	18

*El error asociado a la pendiente y la ordenada al origen se determinó considerando el estadístico t-Student al 95 % de confianza con n-2 grados de libertad.

Con los resultados obtenidos es posible afirmar que el sistema es lineal en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 30.0 mg/L y que en valores de concentración mayores la linealidad se pierde, por lo que, de ser necesario, se deberá realizar una dilución de las muestras con concentraciones mayores de paraquat, mientras que

para concentraciones menores a 0.2 mg/L es preciso realizar la preconcentración para lograr determinarlo.

También, se obtuvo el gráfico de residuales (Fig. 4.5); los residuos parecen aleatorios, lo cual indica que el modelo de regresión se ajusta bien, estos son más pequeño cuando la respuesta analítica, y , es pequeña, lo cual indica que para valores de concentración más altos el residual es mayor.

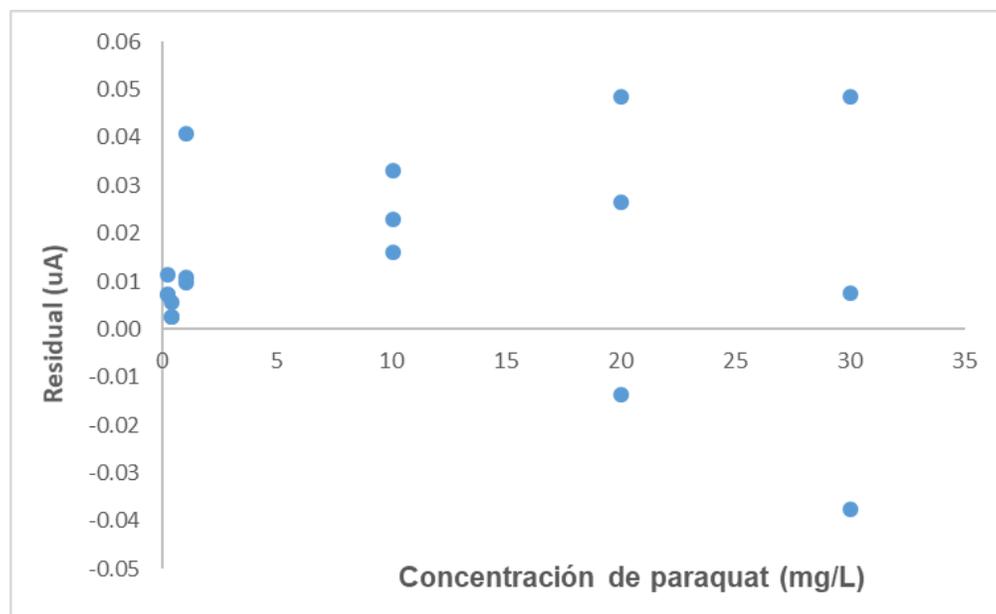


Fig. 4.5. Gráfico de residuales para la curva de calibración de paraquat en el intervalo de concentraciones de 0.2 a 30.0 mg/L.

La sensibilidad del sistema, que equivale a la pendiente de la recta (Ec. 4.1), es de 0.0878 $\mu\text{A}\cdot\text{L}/\text{mg}$. La prueba de hipótesis sobre este parámetro indicó que es estadísticamente diferente de cero, por lo tanto, existe dependencia entre las variables x y y (anexos 2.1 y 2.2). Lo anterior confirma que el sistema es capaz de detectar una respuesta específica para disoluciones de distinta concentración de paraquat comprendidas dentro del intervalo lineal. Con respecto al valor de la ordenada al origen, el cual es de $0.0060 \pm 0.0147 \mu\text{A}$, es posible afirmar que no presenta errores sistemáticos, ya que el intervalo incluye el valor de cero.

4.4 Optimización del protocolo de extracción en fase sólida (EFS)

El paraquat en disolución acuosa se encuentra como una especie catiónica, lo que permite que su retención en adsorbentes en los que la adsorción está conducida principalmente por intercambio catiónico (Calderbank & Yuen, 1965). Tal es el caso del cartucho de extracción en fase sólida Oasis MCX de 6 cc de Waters®. Este adsorbente está compuesto por un copolímero de N – vinilpirrolidona – Divinil Benceno funcionalizado con el anión SO_3^- (Waters Corporation, 2010). Bajo este contexto, este tipo de adsorbente proporciona el mejor medio de retención para purificar y concentrar las trazas de paraquat presentes en muestras ambientales acuosas de elevada complejidad, tal como se muestra en la figura 4.6.

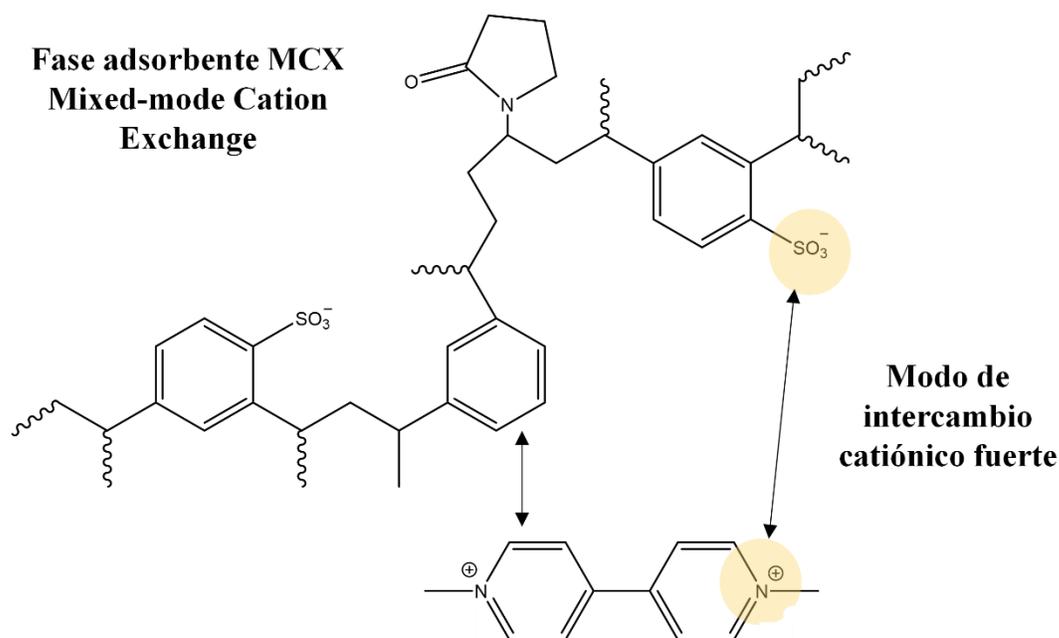


Fig. 4.6. Estructura de la resina del cartucho Oasis MCX de Waters®.

4.4.1 Evaluación de la disolución de lavado

Con el objetivo de determinar la capacidad de retención del cartucho de extracción durante la etapa de carga y lavado, se analizaron mediante espectrofotometría UV a $\lambda = 258 \text{ nm}$ los efluentes recolectados en ambas etapas de extracción, empleando como disolución de lavado HCl 0.1 mol/L. En la Tabla 4.4, se presentan las

absorbancias medidas a cada una de las disoluciones (A), así como la concentración de paraquat asociada y la cantidad en masa, donde se muestra que no fue posible determinar una señal asociada al analito, en ninguno de los efluentes de ambas etapas. Esto indica que todo el paraquat suministrado al cartucho durante la etapa de la carga es retenido cuantitativamente y, además, la disolución de HCl no provoca su extracción durante el lavado.

Tabla 4.4. Resultados de los análisis de paraquat de las disoluciones resultantes de las etapas de carga (500.0 mL) y lavado (5.0 mL) del protocolo de EFS (Flujo: 2 mL/min).

No. experimento	1			2			3		
	A	mg/L	µg	A	mg/L	µg	A	mg/L	µg
Carga (200 µg)	0.002	ND	ND	0.000	ND	ND	0.000	ND	ND
Lavado (HCl 0.1 mol/L)	0.001	ND	ND	0.000	ND	ND	0.003	ND	ND

* ND: No detectado.

4.4.2 Determinación de la disolución eluyente

Como resultado de la fuerte retención de paraquat en cartucho de extracción, es imperativo encontrar una disolución de elución adecuada, que con el menor volumen posible permita extraerlo de forma cuantitativa. Asimismo, esta disolución debe ser compatible con el método instrumental utilizado durante el análisis. Con base en lo reportado por Colin, A. (2017), las disoluciones de cloruro de amonio (NH₄Cl) brindan los mejores porcentajes de extracción, lo cual es congruente con lo reportado por Agudo et al. (1997), quienes encontraron al ion amonio como el catión preferente para eliminar el paraquat de la arcilla con diferentes eficiencias NH₄⁺ > K⁺ > Ca²⁺ > Mg²⁺ > Na⁺ (Agudo, Rios, & Valcárcel, 1993). Con base en lo anterior se decidió evaluar dos disoluciones con diferente composición de NH₄Cl.

Los porcentajes de recuperación obtenidos al evaluar las disoluciones de NH_4Cl al 2.5 % m/v y saturado se muestran en la Tabla 4.5. Como se puede observar, la disolución de cloruro de amonio al 2.5 % m/v no es capaz de extraer el analito de manera cuantitativa, mientras que, la disolución de cloruro de amonio saturado sí, ya que los valores de recuperación obtenidos son superiores al 80 %.

Tabla 4.5. Evaluación de dos composiciones de eluyente para la recuperación de 200 μg de paraquat de un cartucho de EFS a un flujo de 2 mL/min.

Eluyente	Volumen de elución (mL)	Cantidad de paraquat determinada (μg)	Recuperación (%)
NH_4Cl 2.5 % m/v	10.0	0.6	0.3
	10.0	0.5	0.2
	10.0	0.7	0.4
NH_4Cl Saturado	10.0	173.4	86.7
	10.0	162.9	81.4
	10.0	169.9	85.0

*Los porcentajes de recuperación se calcularon utilizando la ecuación 3.1.

De acuerdo con los resultados, es necesario utilizar una disolución extractante altamente salina, que permita aumentar la fuerza de elución para desorber el paraquat del cartucho. El uso de una disolución saturada de NH_4Cl como eluyente permite extraer el paraquat con recuperaciones comprendidas entre 81.4 - 86.7 %, las cuales son consideradas como aceptables para concentraciones entre 0.1 y 1 mg/L, de acuerdo con diferentes guías de validación nacionales y autores i.e., 70-110 % para la CCAYAC (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC), 2011) y 80-110 % para lo recomendado por Taverniers (2004). No obstante, es necesario que en estudios futuros se evalúen diferentes disoluciones que tengan la capacidad de eluir el paraquat del cartucho con porcentajes de recuperación cercanos al 100 %.

4.4.3 Determinación del volumen de elución

Una vez determinada la composición del disolvente de elución, se estableció el volumen de elución. Para ello, se evaluaron de manera aditiva y por triplicado, cuatro volúmenes, mostrando sus resultados en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6. Efecto del volumen de NH₄Cl saturado para la elución de 200 µg de paraquat contenidos en un volumen de carga de 500.0 mL.

Volumen (mL)	1		2		3	
	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Rec. (%)	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Rec. (%)	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Rec. (%)
10.0	165.4	82.7	167.3	83.7	166.0	83.0
12.0	162.5	81.3	166.6	83.3	165.5	82.8
13.0	162.0	81.0	166.0	83.0	162.9	81.4
15.0	159.6	79.8	165.6	82.8	162.3	81.2

*La cantidad de paraquat determinada se calculó con la ecuación 4.1 y el volumen de elución.

**Los porcentajes de recuperación se calcularon utilizando la ecuación 3.1.

De acuerdo con los resultados, la aplicación de un mayor volumen de la disolución de NH₄Cl saturado no promueve una mayor desorción del paraquat del cartucho durante la etapa de elución, ya que los volúmenes de elución evaluados no exhiben una diferencia sustancial entre los porcentajes de recuperación, los cuales están comprendidos entre 79.8 - 83.7 % en todos los casos. A causa de ello, se decidió utilizar 10.0 mL de NH₄Cl saturado como volumen de elución, lo que permitiría, por un lado, reducir el volumen y el tiempo de extracción y por el otro, propicia una mayor concentración del paraquat.

4.4.4 Determinación del volumen de carga

La optimización del volumen de muestra que será cargado a través del cartucho durante el protocolo de extracción en fase sólida debe garantizar: 1) que el paraquat contenido dentro de la muestra sea retenido por el cartucho en su totalidad, es decir, que el analito no se fugue durante la etapa de carga, 2) demostrar que la adsorción del analito al cartucho es independiente de la concentración del volumen cargado, dentro del intervalo lineal de la curva de calibración y 3) debe permitir preferentemente un mayor volumen de carga, de modo que al eluir el analito del cartucho en un volumen menor, este pueda ser concentrado en mayor medida.

En las tablas 4.7 y 4.8 se reportan la cantidad de paraquat recuperada (Cantidad PQ_{EFS}, µg) y los porcentajes de recuperación (% Rec.) para los siete niveles de concentración, en 250.0 y 500.0 mL de carga, después de aplicar el protocolo de extracción en fase sólida y eluir el analito con un volumen constante de 10.0 mL. Los resultados demuestran que el volumen de carga es un factor que influye sustantivamente en la determinación del paraquat en matriz acuosa.

En una primera instancia cuando el volumen de carga es de 250.0 mL (Tabla 4.7) no es posible observar una respuesta analítica en las concentraciones más bajas i.e., 0.005 y 0.01 mg/L, ya que no se observa la señal correspondiente al analito. No obstante, en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.025 - 0.8 mg/L los porcentajes de recuperación oscilan entre 64.0 - 81.1 %, por lo que se consideraron aceptables dentro de los niveles de trazas establecidos por Taverniers, et al. 2004, donde para concentraciones entre 0.001 y 0.1 mg/L el intervalo de % de recobro aceptables se encuentra entre 60 - 115%.

Tabla 4.7. Resultados de cantidad de paraquat recuperada (μg) y % recuperación las disoluciones de paraquat tras el procedimiento de EFS con 250.0 mL como volumen de carga. Elución con 10.0 mL de NH_4Cl saturado.

Conc. $\text{PQ}_{\text{inicial}}$ (mg/L)	Cantidad $\text{PQ}_{\text{inicial}}$ (μg)	1		2		3	
		Cantidad de PQ_{EFS} (μg)	% Rec.	Cantidad de PQ_{EFS} (μg)	% Rec.	Cantidad de PQ_{EFS} (μg)	% Rec.
0.005	1.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0.01	2.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0.025	6.25	4.11	65.8	4.0	64.0	4.23	67.6
0.05	12.5	8.70	69.6	8.9	71.2	8.71	69.7
0.1	25.0	17.89	71.6	18.3	73.2	18.35	73.4
0.4	100.0	75.18	75.2	76.89	76.9	78.19	78.2
0.8	200.0	161.86	80.9	162.21	81.1	157.64	78.8

*Los porcentajes de recuperación se calcularon utilizando la ecuación 3.1.

**ND: No detectado.

Por otro lado, al utilizar un volumen de carga mayor (Tabla 4.8) es posible observar una respuesta del analito para todas las concentraciones evaluadas en el intervalo 0.005 - 0.8 mg/L. Asimismo, los porcentajes de recuperación determinados para todos los niveles de concentración fueron superiores al 75% y estuvieron comprendidos dentro del intervalo 79.4 - 85.1% siendo aceptables para los niveles de concentración de mg/L de acuerdo con lo señalado por Taverniers, et al. 2004. Utilizando este criterio, todos los niveles de concentración evaluados al cargar 500.0 mL muestran porcentajes de recuperación aceptables.

Tabla 4.8. Resultados de cantidad de paraquat recuperada (μg) y % recuperación las disoluciones de paraquat tras el procedimiento de EFS con 500.0 mL como volumen de carga. Elución con 10.0 mL de NH_4Cl saturado.

Conc. PQ _{inicial} (mg/L)	Cantidad PQ _{inicial} (μg)	1		2		3	
		Cantidad de PQ _{EFS} (μg)	% Rec.	Cantidad de PQ _{EFS} (μg)	% Rec.	Cantidad de PQ _{EFS} (μg)	% Rec.
0.005	2.5	2.20	88.0	2.21	88.5	2.19	87.6
0.01	5.0	4.4	87.4	4.3	85.1	4.1	82.9
0.025	12.5	9.9	79.4	9.7	77.5	10.0	80.3
0.05	25.0	20.5	82.1	20.4	81.6	20.4	81.6
0.1	50.0	39.4	78.8	38.1	76.1	40.3	80.7
0.4	200.0	170.2	85.1	167.7	83.8	163.9	82.0
0.8	400.0	340.4	85.1	337.7	84.4	337.1	84.3

* Los porcentajes de recuperación se calcularon utilizando la ecuación 3.1.

Los resultados anteriores denotan que existe una dependencia entre el volumen de carga aplicado y la concentración de paraquat que es posible determinar en los niveles de concentración de 0.005 y 0.01 mg/L. A causa de ello, es fundamental utilizar un mayor volumen de carga para obtener una respuesta analítica en los niveles de concentración más bajos, debido a que el analito se preconcentra de forma más eficiente.

Para corroborar esta observación, se construyó un gráfico de la concentración cargada de paraquat vs la concentración recuperada, a lo largo del intervalo de concentraciones evaluado para ambos volúmenes de carga, en donde la pendiente de la recta representa al factor de concentración experimental FC_{exp} (Fig. 4.7).

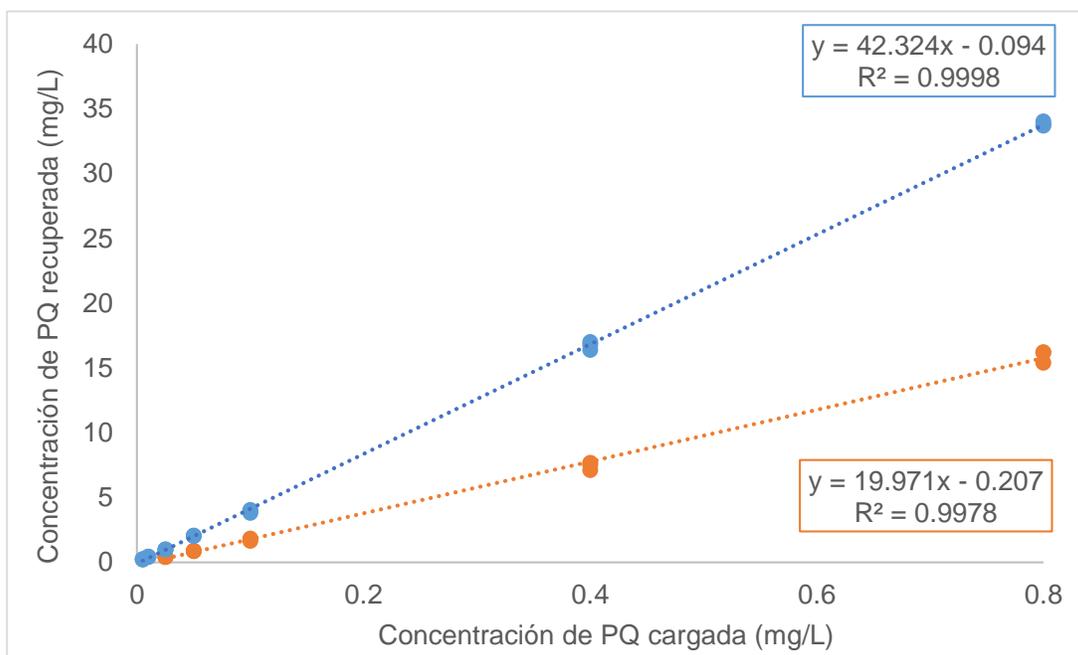


Fig. 4.7. Determinación del factor de preconcentración del protocolo de EFS para paraquat propuesto para los volúmenes de 250.0 mL (●) y 500.0 mL (●).

En este gráfico se aprecia un ajuste lineal de la concentración recuperada en función de la concentración de paraquat cargada, que para el caso de 250.0 mL se observa dicho comportamiento entre los 0.025 - 0.8 mg/L y un factor de concentración experimental (FC_{exp} Recta) de 19.98. Mientras que, en el caso de 500.0 mL este presenta un comportamiento lineal en todo el intervalo analizado (0.005 - 0.8 mg/L) con un factor de concentración experimental (FC_{exp}) de 42.32.

Estos valores coinciden con los obtenidos al utilizar la ecuación 3.2 (ver anexo 3), mostrados en la tabla 4.9. Esto implica que, al cargar un volumen 500.0 mL es posible concentrar al analito 2.1 veces más en comparación con el volumen de 250.0 mL. No obstante, los FC_{exp} para ambos volúmenes son menores a los esperados, es decir; si el volumen de muestra cargado es de 500.0 mL y es eluido con 10.0 mL, se esperaría un factor de concentración para el método de 50, mientras que con 250.0 mL sería de 25, tal como se muestra en la Tabla 4.8.

Tabla 4.9. Determinación del factor de concentración experimental para los volúmenes de 250.0 y 500.0 mL de muestra, tras el protocolo de EFS.

Volumen de carga (mL)	FC _{experimental} Recta	FC _{experimental} Ecuación 3.2	FC _{esperado}
250.0	20.3	20.0	25
500.0	42.7	42.5	50

Los porcentajes de recuperación determinados y los factores de concentración experimentales menores a los esperados, sugieren que existe una pérdida del analito entre el 15 y el 18 % durante el proceso de extracción (Tabla 4.8). Esta pérdida, puede deberse a la elución incompleta del paraquat, ocasionada por la fuerte afinidad del analito con la fase adsorbente del cartucho de extracción.

A pesar de que, en el protocolo de extracción en fase sólida, la elución del paraquat es incompleta; el analito puede ser analizado de forma cuantitativa, ya que los porcentajes de recuperación son repetibles y proporcionales a la concentración de paraquat de la disolución utilizada en la etapa de carga del protocolo de EFS empleado. Esto se puede reafirmar a partir de la construcción de curvas de recuperación, en donde la pendiente de la recta representa el factor de recuperación global del protocolo de extracción dentro de un intervalo lineal evaluado. En este tipo de gráficos está contrastada la concentración de paraquat cargada (variable independiente) contra la concentración de paraquat recuperada después de aplicar el protocolo de extracción (variable dependiente), en la tabla 4.10 se muestran los valores que se graficaron en la figura 4.8, una magnitud de 1.0 representa un porcentaje de recuperación del 100 % dentro del intervalo evaluado.

Tabla 4.10 Concentración de paraquat cargada ($C_{inicial}$, mg/L) y la concentración de paraquat (mg/L) recuperada tras el procedimiento de EFS con 250.0 y 500.0 ML como volumen de carga. Elución: 10.0 mL de NH_4Cl Saturado.

		250.0 mL			500.0 mL		
		1	2	3	1	2	3
	$C_{inicial}$ PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)	C_{EFS} PQ (mg/L)
1	0.005	ND	ND	ND	0.10	0.11	0.12
2	0.01	ND	ND	ND	0.25	0.24	0.24
3	0.025	0.22	0.21	0.22	0.63	0.62	0.59
4	0.05	0.63	0.70	0.65	1.47	1.52	1.46
5	0.1	1.79	1.66	1.83	3.94	3.81	4.03
6	0.4	7.52	7.69	7.11	17.02	16.77	16.39
7	0.8	16.19	16.22	15.76	34.04	33.77	33.71

*ND: No Detectado.

**Los valores de concentración fueron calculados a partir de la ecuación de la recta de la curva de calibración de paraquat para el intervalo de concentraciones entre 0.2-30 mg/L (Ec. 4.1).

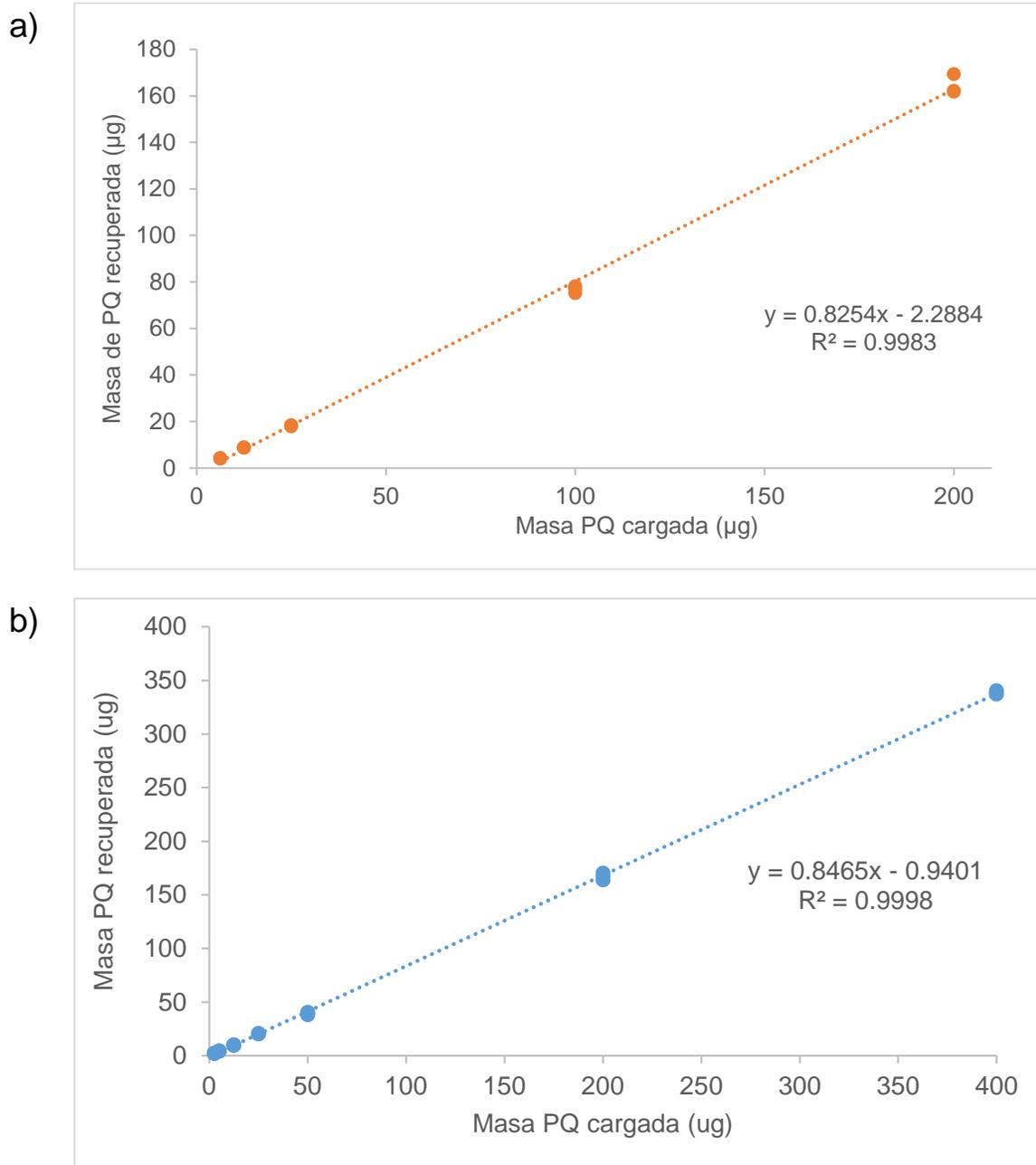


Fig. 4.8. Cantidad recuperada de paraquat (C_{EFS} PQ, μg) en función de la cantidad inicial ($C_{Inicial}$ PQ, μg) para (a) 250.0 mL y (b) 500.0 mL como volúmenes de carga.

A través de la aplicación del método de mínimos cuadrados, se determinaron las magnitudes de la pendiente y la ordenada al origen de cada gráfico para ambos volúmenes de carga; siendo las ecuaciones 4.2 y 4.3 las correspondientes para 250.0 y 500.0 mL de carga, respectivamente.

$$C_{EFS}PQ = 0.8156 C_{PQ}(\mu g) - 3.2282 (\mu g) \quad (\text{Ec. 4.2})$$

$$C_{EFS}PQ = 0.8541 C_{PQ}(\mu g) - 3.4552 (\mu g) \quad (\text{Ec. 4.3})$$

Las pendientes determinadas para ambos volúmenes de carga aplicados (Fig. 4.8) exhiben magnitudes superiores a 0.8 lo cual indica porcentajes de recuperación > 80 % a partir de en el intervalo de concentración de 0.025-0.8 mg/L para un volumen de 250 mL y 0.005-0.8 para un volumen de 500 mL. El porcentaje de recuperación determinado para todo el intervalo es congruente con los porcentajes calculados y reportados para cada nivel en la tabla 4.7. No obstante, la pendiente correspondiente al volumen de carga de 500 mL es estadísticamente superior a la obtenida al utilizar 250.0 mL (Anexo 4, $\alpha = 0.05$ al 95 % de confianza); fortaleciendo la aserción de que al cargar un volumen de 500.0 mL se obtienen mejores porcentajes de recuperación a lo largo del intervalo evaluado.

Con base en los resultados anteriores, se pudieron determinar dos condiciones experimentales fundamentales durante la etapa de carga, las cuales son: 1) el utilizar un mayor volumen de disolución de carga permite concentrar de forma más eficiente al paraquat, sin propiciar la fuga del analito durante la etapa de carga y 2) dentro del intervalo de concentraciones evaluado, el protocolo de extracción desarrollado mostró porcentajes de recuperación constantes y proporcionales a la concentración del analito, motivo por el cual, es posible aplicar la metodología desarrollada para un análisis cuantitativo.

Bajo este contexto, se eligieron 500.0 mL como el volumen de carga más adecuado para implementar el protocolo de extracción en fase sólida. En la Tabla 4.9 se reportan los porcentajes de recuperación promedio (% Rec) con su error asociado (Ec. 4.4), el cual se determinó considerando la t-Student, para n-1 grados de libertad, a dos colas al 95 % de confianza ($t = 4.3$), así como la desviación estándar relativa (% DER, Ec. 4.5), para cada uno de los niveles de concentración evaluados para el método.

$$Error = \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 4.4})$$

$$\% DER = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \% \quad (\text{Ec. 4.5})$$

Tabla 4.11. Porcentajes de recuperación determinado para la metodología de extracción en fase sólida.

Concentración (mg/L)	% Recuperación	% DER
0.005	83.6 ± 11.1	0.51
0.01	85.1 ± 5.6	2.62
0.025	79.1 ± 3.46	1.76
0.05	81.8± 0.7	0.35
0.1	78.5 ± 5.7	2.92
0.4	83.6 ± 3.9	1.89
0.8	84.6 ± 1.1	0.52

*DER: Desviación estándar relativa.

4.4.5 Evaluación de la velocidad de carga de la muestra

Como parte de las condiciones por optimizar en el protocolo de extracción, es indispensable evaluar la velocidad de flujo durante la etapa de carga, pues si la velocidad es muy alta el tiempo de contacto entre el analito y los sitios activos del material adsorbente no será suficiente para favorecer la interacción entre ellos, promoviendo así, la fuga del analito durante esta etapa.

En la tabla 4.10 se presentan los porcentajes de recuperación promedio después de evaluar tres flujos por triplicado. Los porcentajes de recuperación para 2.0 y 3.0 mL/min fueron prácticamente iguales. En contraste, los resultados en ambos flujos fueron ligeramente menores a los obtenidos para 5.0 mL/min, los cuales fueron de alrededor del 88.4 %.

Sin embargo, a pesar de que existen ligeras diferencias entre los flujos evaluados, la retención del analito en la fase adsorbente del cartucho no varía sustancialmente; por lo que se puede considerar que la adsorción del paraquat durante la etapa de carga es independiente de del flujo aplicado. Asimismo, los porcentajes de recuperación fueron aceptables de acuerdo con los criterios establecidos por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC, 2011).

Tabla 4.12. Efecto de la velocidad de flujo de carga, para un volumen de carga de 500.0 mL de una disolución 0.4 mg/L de paraquat eluidos con 10.0 mL de NH₄Cl saturado.

Flujo de carga (mL/min)	Cantidad de paraquat determinada (µg)	Recuperación (%)
2.0	161.5	80.8
3.0	163.4	81.7
5.0	175.1	88.4

* La cantidad de paraquat determinada se calculó con la ecuación 4.1 y el volumen de elución.

** Los porcentajes de recuperación se calcularon utilizando la ecuación 3.1.

Con la finalidad de disminuir el tiempo de preparación de la muestra y considerando que las etapas de carga y regeneración son las que involucran el mayor tiempo del protocolo de EFS, se decidió utilizar un sistema de extracción automatizado, manifold de Waters®, acoplado a una bomba de vacío (Fig. 3.2). Mientras que, para los pasos que requieren una mayor precisión, es decir: lavado, elución, acondicionamiento y equilibramiento se continuará trabajando con la bomba auxiliar de HPLC (Fig. 3.1) con una velocidad de carga de 2 mL/min.

Considerando lo expuesto desde el apartado 4.4.1 hasta el 4.4.5 en tabla 4.11 se resumen las condiciones óptimas para cada una de las etapas involucradas en el

protocolo de extracción en fase sólida para muestras acuosas de paraquat y su posterior determinación mediante espectrofotometría UV.

Tabla 4.13. Condiciones óptimas del protocolo de extracción en fase sólida para la cuantificación de paraquat por espectrofotometría UV.

Etapa EFS		Volumen (mL)	Disolución
Acondicionamiento		3	Metanol, grado HPLC
Equilibramiento		3	Agua desionizada
Carga		500.0	Disolución de análisis
Lavado		5.0	HCl 0.1 mol/L
Elución		10.0	NH ₄ Cl _{Sat}
Regeneración	1	30	Agua desionizada
	2	20	HCl 1 mol/L
	3	20	Agua desionizada

4.5 Ejemplos de aplicación en muestras de origen ambiental

4.5.1 Caracterización de las muestras

Se caracterizaron tres muestras del canal Tlamaco-Juandhó, tomadas con una distancia de 3 Km entre ellos: SC-01 (0 Km), SC-02 (3 Km) y SC-03 (6 Km). Los resultados se muestran en las tablas siguientes, cromatografía catiónica (tabla 4.14), de manera análoga, las magnitudes correspondientes al pH, la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos (TDS) son mostrados en la Tabla 4.15.

Tabla 4.14 Resultados de cromatografía catiónica para las muestras de agua residual del canal Tlamaco-Juandhó.

Muestra	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
	Concentración (mg/L)				
SC-01	177.0	33.8	32.2	37.1	24.3
SC-02	177.5	34.7	32.1	37.8	24.3
SC-03	177.2	32.7	32.5	37.8	24.2
*LD (mg/L)	0.4	0.2	0.3	0.4	0.2

*LD. Límites de detección para cationes (Galindo Zavala, 2016)

Tabla 4.15. Resultados de, pH, conductividad y TDS, para las muestras de agua residual del canal Tlamaco-Juandhó.

Muestra	pH	Λ (μS)	TDS (ppm)
SC-01 (0 Km)	7.4	1553	774
SC-02 (3 Km)	7.3	1539	769
SC-03 (6 Km)	7.4	1535	769

Los resultados de las Tablas 4.14 y 4.15 muestran una homogeneidad en las magnitudes de los parámetros químicos y fisicoquímicos evaluados en los tres puntos de monitoreo seleccionados a lo largo del canal Tlamaco-Juandhó (6 Km totales). En este sentido, se puede considerar que la matriz de agua residual utilizada para evaluar el protocolo de extracción no cambia sustancialmente durante el trayecto evaluado. Aunque las muestras de trabajo presentan valores de conductividad elevados debido a la alta presencia de iones en la muestra, la alta contribución catiónica, principalmente por la presencia de sodio, no afecta la

retención del paraquat, por la competencia por los sitios de adsorción del cartucho de EFS bajo las condiciones de trabajo empleadas, mientras que los valores de pH encontrados en la muestras no afectan la estabilidad del paraquat ya que a este pH el paraquat no se degrada, pues es inestable en condiciones alcalinas (ChemSpider, 2021).

4.5.2 Cuantificación de paraquat en muestra ambientales

Con el objetivo de evaluar la aplicabilidad del protocolo de extracción y cuantificación desarrollado en el presente trabajo, el método se aplicó en una muestra de agua residual cruda proveniente del canal Tlamaco-Juandhó. La muestra fue analizada por triplicado en forma independiente. Se filtró previamente de acuerdo con lo descrito en el apartado 3.5.3. Las concentraciones de paraquat determinadas en las muestras reales son mostradas en la Tabla 4.16.

Tabla 4.16. Resultados obtenidos de la cuantificación de paraquat en una muestra de agua residual

Muestra	Absorbancia ($\lambda = 258 \text{ nm}$)	Concentración (mg/L)
SC-01	0.018	0.13
SC-01	0.017	0.12
SC-01	0.019	0.14
Media	0.018	0.13
s	0.001	0.01

Como es posible observar en tabla anterior en el triplicado de la muestra de agua residual fue posible determinar paraquat en concentraciones 0.13 mg/L. Los valores determinados se encuentran dentro del intervalo lineal determinado tras acoplar el

método de extracción en fase sólida (EFS) con la cuantificación por espectrofotometría UV (0.005 – 30 mg/L).

Aunado a esto, no se observó ningún efecto que provocara un efecto matriz significativo. Es decir, las concentraciones de los cationes mayoritarios (Tabla 4.15) en las aguas residuales no compiten sustancialmente por los sitios activos de adsorción del sorbente polimérico del cartucho de extracción. En este sentido, se demostró que la metodología de extracción en fase sólida desarrollada, acoplada a la determinación mediante espectrofotometría UV, tiene la sensibilidad necesaria para cuantificar al herbicida en condiciones ambientales y con una matriz de elevada complejidad. No obstante, será necesario validar el protocolo experimental con el fin de brindar resultados completamente confiables.

5. CONCLUSIONES

Se desarrolló una metodología de extracción en fase sólida como método de preparación de muestra para la extracción, preconcentración y purificación de paraquat de muestras acuosas. El método fue capaz de concentrar un analito de forma cuantitativa con porcentajes de recuperación superiores al 80 % dentro del intervalo de concentraciones 0.05-0.8 mg/L, en este sentido, el protocolo de extracción desarrollado puede ser aplicado para el análisis cuantitativo del analito mediante espectrofotometría UV en el intervalo de concentraciones de 0.005 – 30 mg/L.

5.1 Conclusiones particulares

- De acuerdo con la información bibliográfica presentada y los resultados experimentales en el presente trabajo, el protocolo analítico desarrollado en este trabajo de investigación servirá como base para optimizar y validar una metodología EFS-espectroscopía UV para determinar paraquat en agua residual. Con el objetivo de evaluar el rendimiento de la remoción de paraquat empleando sargazo como un material biosorbente en muestras de agua residual fortificadas.
- La concentración de la disolución patrón de paraquat no es estable durante largos periodos de tiempo, por lo que no es recomendable el uso de la disolución patrón una vez que ésta cumpla más de dos meses de haberse preparado.
- La metodología (EFS-espectrofotometría UV) propuesta en el presente trabajo fue capaz de determinar la concentración de paraquat de 0.13 ± 0.01 mg/L en una muestra de agua residual proveniente del canal Tlamaco-Juandhó en el pueblo de Tlathuelilpan, dentro del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, México
- El método extracción en fase sólida no exhibió interferencias entre el paraquat y los cationes mayoritarios contenidos en el agua residual cruda, por lo que no se observó fuga de paraquat durante la etapa de carga de muestra.

ANEXOS

1. Pruebas de hipótesis sobre estabilidad de la disolución patrón de paraquat

1.1 Prueba F de Fisher (Verificación de homocedasticidad)

En la tabla A.1 se muestran la absorbancia medida para cada uno de los estándares de paraquat en cloruro de amonio saturado (20 mg/L) evaluados, así como la media y la desviación estándar de los datos agrupados, de acuerdo con el mes de su preparación.

Tabla 0.1 Absorbancia, media y desviación estándar de los estándares de paraquat agrupados.

Grupo 1		Grupo 2	
Fecha	Absorbancia	Fecha	Absorbancia
25/07/2019	1.776	27/09/2019	1.689
30/07/2019	1.752	30/09/2019	1.655
12/08/2019	1.747	02/10/2019	1.725
14/08/2019	1.773	07/10/2019	1.673
19/08/2019	1.806	16/10/2019	1.649
22/08/2019	1.823	07/11/2019	1.698
30/08/2019	1.773	11/11/2019	1.706
Media (x)	1.779	Media (x)	1.685
Desviación estándar	0.027	Desviación estándar	0.028

Mediante la ecuación 0.1, de cada grupo de datos, donde el grupo 1 es de los meses de julio y agosto y el grupo 2 de los meses de septiembre, octubre y noviembre.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{Ec. 0.1})$$

$$H_0: s_1^2 = s_2^2 \qquad H_1: s_1^2 \neq s_2^2$$

Se obtiene mediante la ecuación 0.2 el valor de F_0

$$F_0 = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (\text{Ec. 0.2})$$

Donde $s_1 = 0.0274$ y $s_2 = 0.0276$, se compara con el valor de F_c obtenido de tablas, para los correspondientes grados de libertad y con un factor de cobertura $\alpha = 0.05$.

$$F_0 = \frac{(0.0274)^2}{(0.0276)^2} = 0.9850$$

$$\text{Sí } \tau_1 = 6 \text{ y } \tau_2 = 6; F_c = 5.820 \text{ (Dos colas)}$$

Como $F_0 < F_c$ se acepta H_0 .

La desviación estándar de ambos grupos de datos no es estadísticamente diferente. Por lo tanto, se tiene varianzas homocedásticas.

1.2 Prueba t-Student para varianzas homocedásticas

Para varianzas homocedásticas; se obtiene una varianza para ambos grupos de datos (Ec. 0.3) y un nuevo número de grados de libertad (Ec. 0.4), para obtener t_0 (Ec. 0.5) y buscar el valor crítico en tablas con el valor de α deseado.

$$s^2 = \frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{(n_1-1) + (n_2-1)} \quad (\text{Ec. 0.3})$$

$$\tau = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) = n_1 + n_2 - 2 \quad (\text{Ec. 0.4})$$

$$t_0 = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\left[s^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \right]^{1/2}} \quad (\text{Ec. 0.5})$$

A partir de lo anterior, considerando $\bar{x}_1 = 1.7786$ para el grupo de los meses de julio y agosto, mientras $\bar{x}_2 = 1.6850$ para el grupo de septiembre, octubre y noviembre, entonces;

$$H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$\alpha = 0.05$$

$$H_1: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

$$\tau = 7 + 7 - 2 = 12 \quad t_c = 2.1788 \text{ (Dos colas)}$$

$$s^2 = \frac{(7-1)(0.0274)^2 + (7-1)(0.0276)^2}{(7-1) + (7-1)} = 0.0008$$

$$t_0 = \frac{1.7786 - 1.6850}{\left[0.00075531 \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{7}\right)\right]^{1/2}} = 6.3696$$

Como $t_0 > t_c$, se rechaza H_0 al 95 %

La media de ambos grupos de datos es estadísticamente diferente.

1.3 Prueba t-Student sobre la media del grupo 1

Se buscó determinar que la media del grupo 1 es estadísticamente igual de al valor de la primera absorbancia medida para el estándar de 20 mg/L, por lo que se hace una prueba de t-Student. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 0.6.

$$t_0 = \frac{(\bar{x} - \mu)\sqrt{n}}{s} \quad (\text{Ec. 0.6})$$

Donde $\bar{x} = 1.7786$ es la media del grupo 1, μ la media de referencia, en este caso $\mu = 1.776$, $n = 7$ y $s = 0.0274$. Los valores críticos se obtienen de la tabla de distribución t de Student, con un valor $\alpha = 0.05$ y considerando los grados de libertad, τ .

$$H_0: \bar{x} = \mu$$

$$t_0 = \frac{(1.7786 - 1.776)\sqrt{7}}{0.0274} = 0.2510$$

$$H_1: \bar{x} > \mu$$

$$\text{Sí } \tau = 5 \text{ y } \alpha = 0.05; t_c = 2.4469 \text{ (Dos colas)}$$

Como $t_0 < t_c$ se acepta H_0 ,

No existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias.

1.4 Prueba t-Student sobre la media del grupo 2

Se espera determinar si el valor de la media del grupo 2 es estadísticamente igual de al valor de la primera absorbancia medida para el estándar de 20 mg/L, por lo que se hace una prueba de t-Student. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 0.6. Donde $\bar{x} = 1.6850$ es la media del grupo 2, $\mu = 1.776$, $n = 7$ y $s = 0.0276$.

$$H_0: \bar{x} = \mu \qquad t_0 = \frac{(1.685-1.776)\sqrt{7}}{0.0276} = -8.7233$$

$$H_1: \bar{x} > \mu \qquad \text{Sí } \tau = 6 \text{ y } \alpha = 0.05; t_c = 2.4469 \text{ (Dos colas)}$$

Como $t_0 < -t_c$ se rechaza H_0 ,

La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa.

2. Curva de calibración

2.1 Prueba t-Student sobre la pendiente de la curva de calibración

Se buscó determinar que la pendiente de la recta de la curva de calibración era estadísticamente diferente de cero, por lo que se hace una prueba de t-Student, comparando la pendiente con una media de referencia, en este caso 0. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 0.6.

Donde $\bar{x} = 0.0878$ es la pendiente, $\mu = 0$, $n = 18$ y $s = 0.0004$.

$$H_0: \bar{x} = \mu \quad t_0 = \frac{(0.0878-0)\sqrt{18}}{0.0004} = 931.2596$$

$$H_1: \bar{x} > \mu \quad \text{Sí } \tau = 16 \text{ y } \alpha = 0.05; t_c = 1.7459 \text{ (Una cola)}$$

Como $t_0 > t_c$ se rechaza H_0 ,

La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa.

2.2 Prueba t-Student sobre la ordenada al origen de la curva de calibración

Se buscó determinar que la ordenada al origen de la recta de la curva de calibración era estadísticamente diferente de cero, por lo que se hace una prueba de t-Student, comparando la pendiente con una media de referencia, en este caso 0. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 0.6.

Donde $\bar{x} = 0.0069$ es la ordenada al origen, $\mu = 0$ y $n = 18$ y $s = 0.0069$.

$$H_0: \bar{x} = \mu \quad t_0 = \frac{(0.0069-0)\sqrt{18}}{0.0069} = 4.2426$$

$$H_1: \bar{x} > \mu \quad \text{Sí } \tau = 16 \text{ y } \alpha = 0.05; t_c = 1.7459 \text{ (Una cola)}$$

Como $t_0 > t_c$ se rechaza H_0 ,

La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa.

3. Factor de concentración de la metodología de extracción en fase sólida para 250.0 y 500.0 mL como volumen de carga, eluidos con 10.0 mL de NH₄Cl saturado calculado con la ecuación 3.2

Haciendo uso de la ecuación 3.2, se determinó el factor de concentración para el protocolo de EFS con 250.0 y 500.0 mL como volumen de carga, donde m , corresponde al valor de la pendiente de la recta del intervalo lineal de la medición directa espectrofotometría UV ($m = 0.0878$) y m_{EFS} , corresponde al valor de la pendiente de la recta obtenido tras graficar la correlación entre la carga inicial y la absorbancia medida tras el proceso de extracción en fase sólida, tal como se muestra en la figura 1.

$$\text{Factor de concentración} = \frac{m_{EFS}}{m} \quad (\text{Ec. 0.7})$$

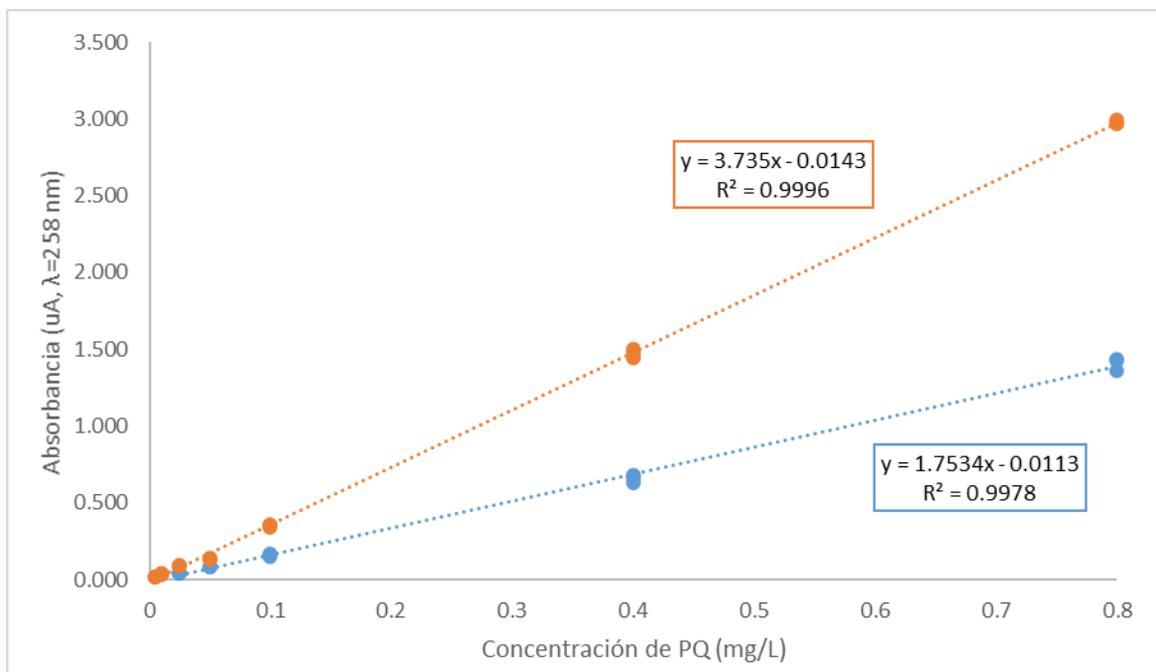


Fig. 0.1 Absorbancia ($\lambda = 258$ nm) medida tras el protocolo de EFS en función de la concentración inicial para los volúmenes de 250.0 mL (●) y 500.0 mL (●).

En la figura anterior se muestran la recta y su ecuación obtenida para ambos volúmenes, 250.0 y 500.0 mL, respectivamente;

$$\text{Absorbancia (uA)} = 1.7727 \left(\frac{\text{uA} \cdot \text{L}}{\text{mg}} \right) + 0.0236 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \quad (\text{Ec. 0.8})$$

$$\text{Absorbancia (uA)} = 3.7713 \left(\frac{\text{uA} \cdot \text{L}}{\text{mg}} \right) + 0.0365 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \quad (\text{Ec. 0.9})$$

Recordando que $m = 0.0878$, el valor obtenido para la pendiente de la recta del intervalo lineal y las pendientes obtenidas previamente es posible obtener el valor del factor de concentración para cada uno de los volúmenes, tal como se muestra en el siguiente ejemplo:

$$\text{Factor de concentración}_{250.0 \text{ mL}} = \frac{m_{EFS}}{m} = \frac{1.7727}{0.0878} = 20.1902$$

Tabla 0.2 Factor de concentración para cada una de las rectas (250.0 y 500.0 mL de muestra) tras el protocolo de EFS

m Intervalo lineal $\left(\frac{\text{uA} \cdot \text{L}}{\text{mg}} \right)$	Volumen de carga (mL)	m_{EFS} $\left(\frac{\text{uA} \cdot \text{L}}{\text{mg}} \right)$	Factor de concentración
0.0878	250.0	1.7534	20.0
	500.0	3.7315	42.5

4. % de recuperación global para la metodología de extracción en fase sólida con volúmenes de carga de 250.0 y 500.0 mL Prueba F de Fisher (Verificación de homocedasticidad)

De la figura 4.8, cantidad de paraquat recuperada en función de la cantidad inicial, para 250.0 y 500.0 mL, se obtienen, mediante regresión lineal los valores para la pendiente y la desviación estándar para cada uno de los casos. Para evaluar la homocedasticidad de las pendientes, se considera lo siguiente;

$$H_0: s_1^2 = s_2^2 \qquad H_1: s_1^2 \neq s_2^2$$

Donde $s_1 = 0.0034$, para el volumen de 500.0 mL y $s_2 = 0.0054$, para el volumen de 250.0 mL, considerando la ecuación 0.1:

$$F_0 = \frac{(0.0034)^2}{(0.0054)^2} = 0.3964$$

$$\text{Si } \tau_1 = 19 \text{ y } \tau_2 = 13; F_c = 2.014 (\alpha = 0.05, \text{ dos colas})$$

Como $F_0 < F_c$ se acepta H_0 .

La desviación estándar de ambos grupos de datos no es estadísticamente diferente. Por lo tanto, se tiene varianzas homocedásticas.

4.2 Prueba t-Student para varianzas homocedásticas

Tras obtener los parámetros de regresión lineal de los gráficos de la figura 4.8 y considerando que se trata de varianzas homocedásticas, considerando las ecuaciones 0.3, 0.4 y 0.5;

$$H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$H_1: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

$$\alpha = 0.05$$

$$\tau = 21 + 15 - 2 = 34 \quad t_c = 2.03 \text{ (Dos colas)}$$

Sí, $\bar{x}_1 = 0.8541$ y $s_1 = 0.0034$, para el volumen de 500.0 mL, además $\bar{x}_2 = 0.8156$, y $s_2 = 0.0054$, para 250.0 mL, entonces;

$$s^2 = \frac{(21 - 1)(0.0034)^2 + (15 - 1)(0.0054)^2}{(21 - 1) + (15 - 1)} = 1.88 \times 10^{-5}$$

$$t_0 = \frac{0.8541 - 0.8156}{\left[1.88 \times 10^{-5} \left(\frac{1}{21} + \frac{1}{15}\right)\right]^{1/2}} = 26.2606$$

Como $t_0 > t_c$, se rechaza H_0 al 95 %

Las medias de ambos grupos de datos son estadísticamente diferentes.

REFERENCIAS

- Agilent Technologies. (2018). *Catálogo fundamental de cromatografía y espectroscopia Agilent*. Retrieved 11 09, 2021, from Agilent Technologies: <https://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.agilent.com%2Fcs%2Flibrary%2Fcatalogs%2Fpublic%2Fcatalog-sample-preparation-5994-0114es-es-agilent.pdf&chunk=true>
- Agudo, M., Rios , A., & Valcárcel, M. (1993). Automatic continuous-flow determination of paraquat at the subnanogram per millilitre level. *Analytica Chimica Acta*, 281, 103-109.
- Ahmad, A., Bhat, A. H., & Buang, A. (2018). Biosorption of transition metals by freely suspended and Ca-alginate immobilised with *Chlorella vulgaris*: kinetic and equilibrium modeling. *J. Clean. Prod.*, 1361-1375.
- Ahmad, T., Rafatullah, M., Ghazali, A., Sulaiman, O., Hashim, R., & Ahmad, A. (2010). Removal of Pesticides from Water and Wastewater by Different Adsorbents: A Review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 231-271.
- Akhtar, M., Iqbal, S., Bhangar, M. I., & Moazzam, M. (2009). Utilization of organic by-products for the removal of organophosphorous pesticide from aqueous media. *Journal of Hazardous Materials*, 703-707.
- Alam, J. B., Dikshit, A. K., & Bandyopadhyay, M. (2000). Efficacy of adsorbents for 2, 4-D and atrazine removal from a waste water environment. *Global Nest: the Int. J.* , 139-148.
- Alipour, N., & Namazi, H. (2007). Removing Paraquat and Nile blue from aqueous solution using double-oxidized graphene oxide coated by polydopamine nanocomposite. *International Journal of Environmental Science and Technology*.
- Aramendía , M. A., Borau, V., Lafont, F., Marinas, A., Marinas, J. M., Moreno, J. M., . . . Urbano, F. J. (2006). Determination of diquat and paraquat in olive oil by

- ion-pair liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrophotometry (MRM). *Food Chemistry*(97), 181-188.
- Bang, Y. J., Kim, J., & Lee, W. J. (2016). Paraquat use among farmers in Korea after the ban. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 72, 231-234.
- Barbash, J. E., Thelin, G. P., Kolpin, D. W., & Gilliom, R. J. (2001). Major herbicides in ground water: results from the National Water-Quality Assessment. *Journal of Environmental Quality*, 30(3), 831-845.
- Barquilha, C. E., Cossich, E. S., Tavares, C. R., & Silva, E. A. (2018). Biosorption of nickel(II) and copper(II) ions by *Sargassum* sp. in nature and alginate extraction products. *BITEB* 120.
- Bermúdez-González, Y., Rodríguez-Rico, I. L., Guibal, E., Calero de Hoces, M., & Martín-Lara, M. (2012). Biosorption of hexavalent chromium from aqueous solution by *Sargassum muticum* brown alga. Application of statistical design for process optimization. *Chemical Engineering Journal*, 68-76.
- Berrueta, L. A., Gallo, B., & Vicente, F. (1995). A review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments. *Chromatographia*(40), 474-483.
- Bilal, M., Rasheed, T., Sosa-Hernández, J., Raza, A., Nabeel, F., & Iqbal, H. (2018). Biosorption: an interplay between marine algae and potentially toxic elements—a review. *Marine Drugs*, 65.
- Blanco-Ayala, T., Andérica-Romero, A. C., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). New insights into antioxidant strategies against paraquat toxicity. *Free Radical Research*, 48, 628-640.
- Boudesocque, S., Guillon, E., & Aplincourt, M. (2008). Use of a Low-Cost Biosorbent to Remove Pesticides from Wastewater. *J. Environ. Qual.*, 631-638.
- Brenes-Guillén, L., Fuentes-Schweizer, P., García-Piñeres, A., & Uribe-Lorío, L. (2019). Tolerance and sorption of Bromacil and Paraquat by thermophilic cyanobacteria *Leptolyngbya* 7M from Costa Rican thermal springs. *Journal of Contaminant Hydrology*, 1035-1040.

- Breña, A. F. (2003). *Hidrología urbana UAM*. Retrieved from <http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/hidrologia/libro2-hidrologia/HU1-2-03.pdf>
- Buszewski, B., & Szultka, M. (2012). Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42 (3), 198-213.
- Calderbank, A., & Yuen, S. H. (1965). An Ion-exchange Method for Determining Paraquat Residues in Food Crops. *The journal: Analyst*, 90, 99-106.
- Carneiro, M. C., Puignou, L., & Galceran, M. T. (2000). Comparison of silica and porous graphitic carbon as solid-phase extraction materials for the analysis of cationic herbicides in water by liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Analytica chimica acta*, 408, 263-269.
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CDRSSA). (2020, Mayo). *Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria*. Retrieved Septiembre 12, 2020, from <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/76Herbicidas.pdf>
- Centro Nacional de Metrología. CENAM. (2008, Abril). *Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de espectrofotometría de Ultravioleta-Visible*. Retrieved Agosto 30, 2020, from <https://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/>
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., & Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution*, 1354-1362.
- ChemSpider . (2021, 09 21). *ChemSpider. Search and share chemistry*. Retrieved from Paraquat: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.15146.html>
- Christian, G. D. (2009). *Química analítica*. CDMX: McGraw Hill.

- Chuntib, P., & Jakmune, J. (2015). Simple flow injection corimetric system for determination of paraquat in natural water. *Talanta*, 144, 432-428.
- Cocenza, D. S., A. de Moraes, M., Beppu, M. M., & Fraceto, L. F. (2012). Use of Biopolymeric Membranes for Adsorption of Paraquat herbicide from water. *Water Air Soil Pollut*, 3093-3104.
- Codex Secretariat (FAO/WHO). (2018). *Procedural Manual of the Codex Alimentarius Commission (26th edition)*. Retrieved Agosto 15, 2020, from <http://www.fao.org/publications/card/es/c/l8608EN>
- Coelho, C. M., Resende de Andrade, J., Carlos da Silva, M. G., & Adeodato Vieira, M. G. (2019). Removal of propranolol hydrochloride by batch biosorption using remaining biomass of alginate extraction from *Sargassum filipendula* algae. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Colín, A. (2017). *Desarrollo y validación de un método analítico para la preconcentración y cuantificación de paraquat en muestras de agua epicontinental (Tesis de maestría)*. CDMX: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC). (2011). *Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos*. México: Secretaría de Salud .
- CONAGUA Comisión Nacional del agua. (2018). *Estadísticas del agua en México* . Retrieved from chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fsina.conagua.gob.mx%2Fpublicaciones%2FEAM_2018.pdf&clen=52857362&chunk=true
- Danish, M., Sulaiman, O., Rafatullah, M., Hashim, R., & Ahmad, A. (2010). Kinetics for the Removal of Paraquat Dichloride from Aqueous Solution by Activated Date (*Phoenix dactylifera*) Stone Carbon. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 248-259.

Diario Oficial de la Federación. (1995, Noviembre 30). *NOM-128-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización*. Retrieved Mayo 01, 2021, from http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2063863&fecha=31/12/1969

Diario Oficial de la Federación. (1996, Febrero 12). *PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-051-FITO-1995, Por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para el manejo de plaguicidas agrícolas cuya adquisición y aplicación está sujeta a la recomendación escrita de un profesional*. Retrieved Septiembre 7, 2020, from http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4870039&fecha=12/02/1996

Diario Oficial de la Federación. (2009, Agosto 18). *NOM-014-CONAGUA-2003, Requisitos para la recarga artificial de acuíferos con agua residual tratada*. Retrieved Mayo 01, 2021, from http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5105753

Dinis-Oliveira, R. J., Duarte, J. A., Sánchez-Navarro, A., Remiao, F., & Carvalho, F. (2008). Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit. Rev. Toxicol*, 38, 13-71.

Divjak, B., Goessler, W., Haddad, P. R., & Novic, M. (2003). Interference of some matrix ions in cation-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A*, 89-96.

Environmental Protection Agency. (2019, Octubre 14). *Preliminary Ecological Risk Assessment for the Registration Review of Paraquat*. Retrieved Agosto 30, 2020, from <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPP-2011-0855-0128>

EPA US. Environmental Protection Agency. (1997, June). *Method 549.2: Determination of diquat and paraquat in drinking water by liquid-solid extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet*

- detection*. Retrieved 10 29, 2020, from [epa.gov/esam/epa-method-5492-determination-diquat-and-paraquat-drinking-water-liquid-solid-extraction-and](https://www.epa.gov/esam/epa-method-5492-determination-diquat-and-paraquat-drinking-water-liquid-solid-extraction-and)
- EPA US. Environmental Protection Agency. (2014). *Drinking water contaminants - standards and regulations*. Retrieved 11 19, 2020, from <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/table-regulated-drinking-water-contaminants#Inorganic>
- Esmaeili, A., Saremnia, B., & Kalantari, M. (2015). Removal of mercury(II) from aqueous solutions by biosorption on the biomass of *Sargassum glaucescens* and *Gracilaria corticata*. *Arabian Journal of Chemistry*, 506-511.
- Falaki, F. (2019). Sample Preparation Techniques for Gas Chromatography. In *Gas Chromatography—Derivatization, Sample Preparation, Application* (pp. 1-30). London, UK: IntechOpen.
- Fernandes, T., Soares, S. F., Trindade, T., & Daniel-da-Silva, A. L. (2017). Magnetic Hybrid Nanosorbents for the Uptake of Paraquat from Water. *Nanomaterials*, 68-83.
- Galindo Zavala, V. B. (2016). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de los iones Na⁺, Nh₄⁺, K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales. CDMX, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Curbelo, M. Á., Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J., & Rodríguez-Delgado, M. Á. (2015). Evolution and applications of the QuEChERS method. *Trends in Analytical Chemistry*(71), 169-185.
- Google Earth. (2021, Julio 28). Retrieved from https://google-earth.gosur.com/?gclid=CjwKCAjwo4mIBhBsEiwAKgzXOBW0LY0V067tTcv3tz6glZGYS46Y6JyMfCZw09PFS7_-mwL-pkqwsxoCVAUQAvD_BwE&il=20.13045873753704,-99.22066745000001&z=12.8370212464412&t=satellite

- Government of Canada. (1986, 02). *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document – Paraquat*. Retrieved 12 18, 2020, from <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidelines-canadian-drinking-water-quality-guideline-technical-document-paraquat.html>
- Gupta, V. K., & Ali, I. (2001). Removal of DDD and DDE from wastewater using vagasse fly ash, a sugat industry waste. *Water Res*, 33-40.
- Harris, D. C. (2006). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona, España: Reverté SA.
- Harvey, D. (2000). *Modern Analytical Chemistry*. EUA: McGraw-Hill.
- He, J., & Chen, J. P. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools. *Bioresour. Technol.*, 67-78.
- Hsu, S.-T., & Pan, T.-C. (2007). Adsorption of paraquat using methacrylic acid-modified rice husk. *Bioresource Technology*, 3617-3621.
- Huang, Y., Zhan, H., Bhatt, P., & Chen, S. (2019). Paraquat Degradation from Contaminated Environments: Current Achievements and Perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 10(1754), 1-9.
- INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía . (2020). *México en Cifras*. Retrieved from Áreas Geográficas: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático , Martínez-Arroyo, A., Gavilán-García, A., & Mendoza-Cantú, A. (2019, Agosto). *Diagnóstico sobre la Contaminación por Plaguicidas en agua superficial, agua subterránea y suelo*. Retrieved Septiembre 18, 2020, from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/495283/Diagno_stico_sobre_la_Contaminacion_por_Plaguicidas_en_Agua_Superficial__Agua_Subter_r_nea_y_Suelo_versi_n_final_s-d.pdf

- IPCS. International Programme on Chemical Safety. (1984). *Environmental Health Criteria No. 39-Paraquat and diquat*. Retrieved 12 01, 2020, from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc39.htm>
- Junthip, J., Jumrernsuk, N., Klongklaw, P., Promma, W., & Sonsupap, S. (2018). Removal of paraquat herbicide from water by textile coated with anionic cyclodextrin polymer. *SN Applied Sciences by Springer Nature*, 106-118.
- Junthip, Jatupol. (2019). Water-insoluble cyclodextrin polymer crosslinked with citric acid for paraquat removal from water. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 1-10.
- Kamga, F. T. (2019). Modeling adsorption mechanism of paraquat onto Ayous (Triplochiton scleroxylon) wood sawdust. *Applied Water Science*, 9(1).
- Khan Academy . (n.d.). *La luz: ondas electromagnéticas, espectro electromagnético y fotones*. Retrieved Octubre 16, 2020, from <https://es.khanacademy.org/science/ap-chemistry/electronic-structure-of-atoms-ap/bohr-model-hydrogen-ap/a/light-and-the-electromagnetic-spectrum>
- Kolberg, D. I., Mack , d., Anastassiades, M., Hetmanski, M. T., Fussell, R. J., Meijer, T., & Mol, H. G. (2012). Development and independent laboratory validation of a simple method for the determination of paraqaur and diquat in potato, cereals and pulses. *Analytical and Bionalytical Chemistry*(404), 2465-2474.
- Lara Sandoval, A. E., García Colmenares, J. M., & Chaparro Acuña, S. P. (2015). Validación del método voltamperométrico para la determinación de residuos paraquat aplicado en cultivos de papa. *Acata Agronómica*, 64(4), 336-341.
- Leite, M. P., T. dos Reis, L. G., Robaina, N. F., Pacheco, W. F., & Cassella, R. J. (2013). Adsorption of paraquat from aqueous medium by Amberlite XAD-2 and XAD-4 resins using dodecylsulfate as counter ion. *Chemical Engineering Journal*, 691-698.

- Leite, M. P., T.dos Reis, L. G., Robaina, N. F., Pacheco, W. F., & Casella, R. J. (2013). Adsorption of paraquat from aqueous medium by Amberlite XAD-2 and XAD-4 resins using dodecylsulfate as counter ion. *Chemical Engineering Journal*, 691-698.
- Li, Y., Liu, L., Kuang, H., & Xu, C. (2019). Preparing monoclonal antibodies and developing immunochromatographic strips for paraquat determination in water. *Food Chemistry*, 311(125897).
- López-Mirando, J., Silva, R., Molina, G. A., Esparza, R., Hernández-Martínez, A. R., Hernández-Carteño, J., & Estévez, M. (2020). Evaluation of a Dynamic Bioremediation System for Removal of Metal Ions and Toxic Dyes Using *Sargassum* Spp. *Journal of Marine Science and Engineering*, 899.
- Lott, P., Lott, J., & Doms, D. (1978). The determination of paraquat. *Journal of Chromatography Science*, 16, 390-395.
- Luna, J. R., Di Bernardo, M. L., García, M. Y., Ovalles, F., & Calderón, L. (2008). Determinación de paraquat en orina utilizando un sistema de inyección de flujo continuo. *Acta de Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 251-259.
- Luo, H., Wang, X., Huan, Y., Lai, K., Rasco, B. A., & Fan, Y. (2018). Rapid and sensitive surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) method combined with gold nanoparticles for determination of paraquat in apple juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10), 3892-3898.
- Maciel, G. M., Marques de Souza, C. G., Vaz de Araújo, C. A., Bona, E., Haminiuk, C., Castoldi, R., . . . Peralta, R. M. (2013). Biosorption of herbicide picloram from aqueous solutions by live and heat-treated biomasses of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Trametes* sp. *Chemical Engineering Journal*, 331-338.
- Mahmood, Z., Zahra, S., Iqbal, M., Raza, M. A., & Nasir, S. (2017). Comparative study of natural and modified biomass of *Sargassum* sp. for removal of Cd²⁺ and Zn²⁺ from wastewater. *Appl Water Sci*, 3469-3481.

- Mallat, E., Barzen, C., Abuknesha, R., Gauglitz, G., & Barceló, D. (2001). Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection. *Analytica Chimica Acta*, 427, 165-171.
- Mehmandost, N., García-Valverde, M. T., Soriano, L. M., Goudarzi, N., Lucena, R., Chamjangali, M. A., & Cardenas, S. (2020). Heracleum Persicum based biosorbent for the removal of paraquat and diquat from waters. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 104481.
- Mitra, S. (2003). *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Nanseu-Njiki, C. P., Dedzo, K. G., & Ngameni, E. (2010). Study of the removal of paraquat from aqueous solution by biosorption onto Ayous (*Triplochiton schleroxylon*) sawdust. *Journal of Hazardous Materials*, 63-71.
- National Library of Medicine (National Center for Biotechnology Information). (2021, Agosto 31). *PubChem*. Retrieved from Ammonium chloride: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ammonium-chloride>
- OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. (14 de 10 de 2015). *OECD Territorial Reviews*. Recuperado el 20 de 08 de 2021, de Territorial Reviews: Valle de México, Mexico: <https://dx.doi.org/10.1787/9789264245174-en>
- Özdemir, S., Yalçın, S. M., & Kiliç, E. (2021). Preconcentrations of Ni(II) and Pb(II) from water and food samples by solid-phase extraction using *Pleurotus ostreatus* immobilized iron oxide nanoparticles. *Food Chemistry* (336), 127-134.
- Pateiro-Moure, M., Martínez-Carballo, E., Arias-Estévez, M., & Simal-Gándara, J. (2008). Determination of quaternary ammonium herbicides in soils: comparison of digestion, shaking and microwave-assisted extractions. *Journal of Chromatography A*, 110(116), 1196-1997.

- Picó, Y., Fernández, M., Ruiz, M. J., & Font, G. (2007). Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. *Journal of biochemical and biophysical methods*(70), 117-131.
- Picó, Y., Font, G., Moltó, J., & Mañes, J. (2000). Solid-phase extraction of quaternary ammonium herbicides. *Journal of Chromatography A*, 885, 251-271.
- Pizzutti, I. R., Vela, G. M., de Kok, A., Scholten, J. M., Dias, J. V., Cardoso, C. D., . . . Vivian, R. (2016). Determination of paraquat and diquat: LC-MS method optimization and validation. *Food Chemistry*, 209, 248-255.
- R. Santos, S. C., Ungureanu, G., Volf, I., R. Boaventura, R. A., & S. Botelho, C. M. (2018). Macroalgae biomass as sorbent for metal ions. *Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value*, 69-112.
- Ramírez Barbosa, I. I. (2018). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación simultánea de aniones mayoritarios por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica en muestras ambientales. CDMX, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ramirez Lemus, L. M. (2002). *Estudio de la biosorción de cadmio por Cymodocea nodosa. (Tesis de Licenciatura)*. Retrieved from Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, UNAM.: <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3448093>
- Rissato, S. R., Galhiane, M. S., Knoll, F. R., & Apon, B. M. (2004). Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*(1048), 153–159.
- Rodríguez Varela, M. R. (2019, Abril). Canal de agua residual Tlamaco-Juandhó. Tlahuelilpan, Hidalgo, México.
- SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020, Agosto 29). *Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo 2019*. Retrieved from

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf

Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. (2021, Septiembre 24). *Norma Mexicana*. Retrieved from NMX-AA-003-1980. Aguas Residuales-Muestreo: chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.gob.mx%2Fcms%2Fuploads%2Fattachment%2Ffile%2F166762%2FNMX-AA-003-1980.pdf&clen=93634&chunk=true

SEMARNAT. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2014). *Medio Ambiente en México (2013-2014)*. Retrieved from Aguas residuales: https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_3.html

Sharma, R. K., Kumar, A., & Joseph, P. E. (2008). Removal of Atrazine from Water by Low Cost Adsorbents Derived from Agricultural and Industrial Wastes. *Bull Environ Contam Toxicol*, 461-464.

Shetty, D., Boutros, S., Skorjanc, T., Garai, B., Asfari, Z., Raya, J., & Trabolssi, A. (2020). Fast and efficient removal of paraquat in water by porous polycalix[n]arenes (n= ¼, 4, 6, and 8). *Journal of Materials Chemistry A*, 8, 13942-1945.

Sidhoum, D. A., Socías-Viciano, M. M., Ureña-Amate, M. D., Derdour, A., Gozález-Pradas, E., & Debbagh-Boutarbouch, N. (2013). Removal of paraquat from water by Algerian bentonite. *Applied Clay Science*, 441-448.

Siebe, C., & Cifuentes, E. (2015). Environmental impact of wastewater irrigation in central México: An overview. *International Journal of Environmental Health Research*, 161-173.

Sielinchi, J. M., & Thue, P. S. (2014). Removal of paraquat from drinking water by activated carbon prepared from waste wood. *Desalination and Water Treatment*, 1-14.

- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001). *Principios de análisis instrumental*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- Smith, R. M. (2003). Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*(1000), 3-27.
- Soleymani, F., Khani, M. H., Pahlavanzadeh, H., & Manteghian, M. (2015). Study of cobalt (II) biosorption on *Sargassum* sp. by experimental design methodology. *International Journal of Environmental Science and TechnoloGY*, 1907-1922.
- Sudhakar, Y., & Dikshit, A. K. (1999). Adsorbent selection for endosulfan removal from water environment. *J. ENVIRON. SCI. HEALTH* , 97-118.
- Tabaraki, R., & Heidarizadi, E. (2018). Simultaneous biosorption of Arsenic (III) and Arsenic (V): Application of multiple response optimizations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35-41.
- Tamayo, F. G., Turiel, E., & Martín-Esteban, A. (2007). Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: Recent developments and future trends. *Journal of Chromatography A*, 1152, 32-40.
- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), 535-552.
- Tsai, W. (2018). Satats of herbicide use, regulatory management and case study of paraquat in Taiwan. *Environment, Development and Sustainibility*, 22, 2673-2683.
- Tsai, W., Hsien, K. J., Chang, Y. M., & Lo, C. C. (2005). Comments on “Removal of herbicide paraquat from an aqueous solution by adsorption onto spent and treated diatomaceous earth. *Bioresour Technol*, 657-663.
- Tsao, Y. C., Lai, Y. C., Liu, H. C., Liu, R. H., & Lin, D. L. (2016). Simultaneous determination and quantitation of paraquat, diquat, glufosinate and

glyphosate in Postmortem blood and Urine by LC-MS-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 1-10.

Tu, C.-W., Huang, C.-F., Lee, R.-H., Yang, C.-H., Hung, W.-C., & Lin, K.-Y. A. (2019). Study of various diameter and functionality of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers on paraquat adsorptions. *Polymer Degradation and Stability*, 206-212.

Tu, C.-W., Lee, R.-H., Yang, C.-H., Hung, W.-C., Andrew Lin, K.-Y., & Chih-Feng, H. (2019). Study of various diameter and functionality of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers on paraquat adsorptions. *Polymer Degradation and Stability*, 206-212.

U. S. Environmental Protection Agency. (2021, 09 21). *EPA United States Environmental Protection Agency*. Retrieved from Procedures for Collecting Wastewater Samples: <https://www.epa.gov/quality/procedures-collecting-wastewater-samples>

Uematsu, Y., Ogata, F., Nagai, N., Saenjum, C., Nakamura, T., & Kawasaki, N. (2021). In vitro removal of paraquat and diquat from aqueous media using raw and calcined basil seed. *Heliyo*, e07644.

Ungureanu, G., Santos, S., Boaventura, R., & Botelho, C. (2018). Biosorption of antimony by brown algae *S. muticum* and *A. nodosum*. *Environ. Eng. Manag. J.*, 455-463.

United Nations. (2019). *Population*. Retrieved 01 20, 2021, from <https://www.un.org/en/sections/issues-depth/population/>

Van Dijk, A., Ebberink, R., de Groot, G., & Maes, R. A. (1977). A rapid and sensitive assay for determination of paraquat in plasma by Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Toxicology*, 1, 151-154.

Verma, A., Kumar, S., Balomajumder, C., & Kumar, S. (2018). Efficacy of *Sargassum filipendula* for the removal of Pb²⁺, Cd²⁺ and Ni²⁺ ions from aqueous solution: a comparative study. *Desalination and Water Treatment*, 216-226.

- Verma, V. K., Tewari, S., & Rai, J. N. (2008). Ion exchange during heavy metal bio-sorption from aqueous solution by dried biomass of macrophytes. *Bioresour. Technol.*, 1932-1938.
- Wang, X. H., Souders, C. L., Zhao, C. L., & Martyniuk, C. J. (2018). Exposure to paraquat affects mitochondrial biogenetics, dopamine system expression, and locomotor activity in zebrafish. *Chemosphere*, 191, 106-117.
- Wang, X., Shan, T., & Pang, S. (2021). Removal of Sr, Co, and Mn from seawater by *Sargassum horneri* in mono- and multi-nuclide contamination scenarios. *Journal of Applied Phycology*.
- Waters Corporation. (2008). *Soluciones para preparación de muestras*. Retrieved 11 10, 2021, from <https://efaidnbmnnnibpcjpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.waters.com%2Fwebassets%2Fcms%2Flibrary%2Fdocs%2F720000848es.pdf&chunk=true>
- Waters Corporation. (2010, Septiembre). *Oasis sample extraction products: Chemistry & formats*. Retrieved Abril 29, 2021, from <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003678en.pdf>
- Watts, M. (2010). PARAQUAT. *Pesticide Action Network Asia and the Pacific (PAN AP)*, 44.
- WHO. World Health Organization. (2020, Agosto 29). *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009*. Retrieved from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44271/9789241547963_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Winnik, B., Barr, D. B., Thiruchelvam, M., Montesano, M. A., Richfield, E. K., & Buckley, B. (2009). Quantification of paraquat, MPTP, and MPP+ in brain tissue using microwave-assisted solvent (MASE) and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 195-201.

- Zhou, Y., Fang, Y., Zeng, G., Zheng, C., Ai, N., Wang, T., . . . Zhou, H. (2012). Adsorption of Zn²⁺ by *Sargassum horneri* and Desorption at Simulated Marine Environment. *Applied Mechanics and Materials*, 1093-1099.
- Zwir-Ferenc, A., & Biziuk, M. (2006). Solid phase extraction technique-trends, opportunities and applications. *Polish Journal of Environmental Stud.*, 15(5), 677-690.