

Universidad Autónoma de Chihuahua
Facultad de Ciencias Químicas
Secretaría de Investigación y Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

TESIS

**DESARROLLO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA DETECTAR LA
PRESENCIA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS Y METALES PESADOS EN EL
AGUA DE UNA ZONA AGRÍCOLA SEMIÁRIDA.**

Que como requisito parcial para la obtención del grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN QUÍMICA

QUE PRESENTA:

Karla Andrea Talamantes Garcia

Chihuahua, Chih., México

Junio 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Asunto: **Liberación Tesis**

Chihuahua, Chih., 28 de noviembre del 2023


**M.A.P. TERESA VIRIDIANA ESPINOZA MOLINA
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
PRESENTE. -**

Los que suscriben, informamos a usted que se llevó a cabo la revisión de la tesis titulada: **“Desarrollo de metodologías analíticas para detectar la presencia de compuestos orgánicos y metales pesados en el agua de una zona agrícola semiárida”** presentada por la estudiante **Karla Andrea Talamantes García** con número de matrícula **308602**, alumna del programa de Maestría en Ciencias en Química.

Se le fueron indicadas al estudiante las correcciones que eran necesarias efectuar, y después de realizarse lo anterior y verificar que las mismas fueron atendidas, manifestamos que el documento en cuestión, cumple con los requisitos de calidad y originalidad señalados por el Comité de Tesis y por la Facultad de Ciencias Químicas, por lo que autorizamos que sea impresa para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

ATENTAMENTE

“LUCHAR PARA LOGRAR, LOGRAR PARA DAR”


Dr. David Chávez Flores
Director


Dra. Beatriz Adriana Rocha Gutiérrez
Codirectora


M.C. Jesús Manuel Ochoa Rivero
Asesor


Dr. Héctor Oswaldo Rubio Arias
Asesora


Dr. Víctor Hugo Ramos Sánchez
Asesor


**FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARIA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**


**Dra. María de Lourdes Ballinas
Casarrubias**
Asesora

Chihuahua, Chih, a 01 de Junio de 2023.

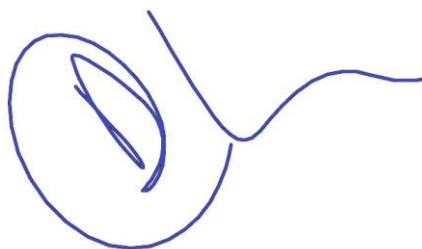
M.A.P. Teresa Viridiana Espinoza Molina
Secretaria de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua.
PRESENTE:

A través de la presente me permito informar a usted que el trabajo de tesis titulado “**Desarrollo de metodologías analíticas para detectar la presencia de compuestos orgánicos y metales pesados en el agua de una zona agrícola semiárida**”, presentado por la **Q. Karla Andrea Talamantes García**, con número de control **308602** y sustentante a la **Maestría en Ciencias en Química** fue revisado y aprobado por su servidor para su envío a revisión por el comité de tesis.

Sin otro particular por el momento, me es grato quedar de usted.

A t e n t a m e n t e

“Por la ciencia para bien del hombre”



Director
Dr. David Chávez Flores

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi director de tesis el Dr. David Chávez Flores, por la dedicación a lo largo de esta maestría y todo el apoyo que ha brindado a este trabajo, por ayudarme a aclarar mis sugerencias e ideas y por la dirección que ha facilitado a las mismas. Gracias por la confianza ofrecida desde que llegué a esta facultad desde la licenciatura. Asimismo, agradezco a todo mi comité de asesores gracias por su amabilidad, tiempo e ideas para terminar este proyecto que empezamos todos juntos hace dos años.

Este trabajo de investigación para la maestría es fruto del reconocimiento y del apoyo que me ofrecieron todas las personas cercanas que nos quieren, sin el cual no tendría la fuerza y energía que me anima a crecer como personas y como profesional. Gracias a mi familia, a mis padres y a mi hermana, porque estuvieron desde mi inicio apoyándome y dándome ánimos de seguir haciendo lo que me gusta. Gracias a mis amigos, compañeros de maestría y más en específico a Andrea y Adriana que siempre me han prestado un gran apoyo necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y en los momentos de diversión. Pero, sobre todo, gracias a Alan Muñoz, iniciamos este camino como novios y lo terminamos como esposos, siempre juntos, gracias tu paciencia y comprensión siempre fuiste mi apoyo en concluir esta maestría.

Sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo es también el suyo. A todos, muchas gracias.



INDICE

INDICE DE FIGURAS	v
INDICE DE TABLAS	vi
1. RESUMEN.....	vii
2. ABSTRACT.....	viii
3. ANTECEDENTES.....	9
3.1 PLAGUICIDAS.....	9
3.2 PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS	12
3.3 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS	14
3.4 PLAGUICIDAS EN MÉXICO	19
3.5 EFECTOS SECUNDARIOS DEL GLIFOSATO.....	20
3.6 METALES	22
4. INTRODUCCIÓN.....	24
5. JUSTIFICACIÓN.....	27
6. HIPÓTESIS.....	27
7. OBJETIVOS.....	28
7.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	28
8. MATERIALES Y METODOS.....	29
8.1 TOMA DE MUESTRA	29
8.2 DERIVATIZACIÓN	30
8.3 DERIVATIZACIÓN DEL GLIFOSATO Y AMPA	31
8.4 DERIVATIZACIÓN ESTÁNDAR.....	32



8.5 CURVA DE CALIBRACIÓN	32
5.6 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS	33
8.7 ANÁLISIS DE GLIFOSATO Y AMPA EN HPLC.....	33
8.8 ANÁLISIS DE METALES Y METALOIDES POR TXRF	34
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
9.1 TOMA DE MUESTRA	35
9.2 DERIVATIZACIÓN	36
9.3 CURVA DE CALIBRACIÓN	38
9.4 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS	40
9.5 ANÁLISIS DE GLIFOSATO Y AMPA EN HPLC.....	41
9.6 ANÁLISIS DE METALES Y METALOIDES POR TXRF	44
10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	50
11. REFERENCIAS	52



INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Formas de propagación de los plaguicidas	12
Figura 2 Representación molecular del dicloro difenil tricloroetano (DDT).....	13
Figura 3 Representación general de los OPs.....	14
Figura 4 representación molecular del glifosato (N-fosfonometilglicina)	15
Figura 5 Parque “La lagunita” Anahuac, Chihuahua. Noticiero “Reporte Cuauhtémoc”.....	25
Figura 6 Distribución del parque “La lagunita” Anahuac, Chihuahua. Noticiero “Reporte Cuauhtémoc”.....	25
Figura 7 Mapa de la lagunita con los cuadrantes de muestreo	30
Figura 8 Disociación acido-base de glifosato y AMPA	31
Figura 9 Reacción de derivatización del glifosato con FMOC-Cl.....	32
Figura 10 Reacción de derivatización del AMPA con FMOC-Cl.....	32
Figura 11 Equipo UltiMate 3000 HPLC	34
Figura 12 Equipo TXRF S2 Picofox, Bruker	35
Figura 13 Recipiente de plástico de 1L	36
Figura 14 Cromatograma de glifosato y AMPA HPLC.....	37
Figura 15 Cromatograma de estándar de AMPA	38
Figura 16 Respuesta de las diferentes concentraciones en el HPLC.....	39
Figura 17 Curva de calibración del glifosato y AMPA.....	40



Figura 18 Cromatograma de muestra de agua..... 41

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 plaguicidas detectados comúnmente en zonas cercanas a lugares donde se practique la agricultura. 17

Tabla 2 Datos curva de calibración **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 3 Concentraciones de glifosato y AMPA por mes de muestreo..... 42

Tabla 4 Concentraciones del mes de septiembre 45

Tabla 5 Concentraciones del mes de noviembre 46

Tabla 6 Concentraciones del mes de febrero..... 46

Tabla 7 Concentraciones del mes de marzo 46

Tabla 8 Concentraciones del mes de abril 47

Tabla 9 Concentraciones del mes de mayo 47



1. RESUMEN

Los plaguicidas organofosforados se utilizaron desde la prohibición de los organoclorados, estos se eligieron en lugar de limitar la contaminación, el más utilizado en el mundo es el glifosato, un herbicida no selectivo, que se deriva en ácido aminometilfosfónico (AMPA) la característica de no afectar los cultivos transgénicos, pero con un uso limitado en la actualidad, ya que se encontraron que podría ser un potenciador a problemas de la salud y más en la población vulnerable.

México es uno de los países donde más se utiliza, destacándose Chihuahua como un importante productor agrícola. Los objetivos de este estudio son analizar, detectar y cuantificar el glifosato en el agua de una laguna ubicada en el centro recreativo “La Lagunita” en Anáhuac Chihuahua México. Algunas de las técnicas más utilizadas son la fluorescencia y una de ellas es la cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC (UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific, USA) en fase inversa, se obtuvieron concentraciones de glifosato 30 veces más a lo establecido por Científica la EPA en 2014, siendo este de 0,7 ppm.

Algunos metales pesados y metaloides fueron identificados con fluorescencia de rayos X de reflexión total (TXRF) (S2 Picofox, Brucker, USA) con resultados inferiores a los establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 con excepción del arsénico, que obtuvo concentraciones 5 veces lo establecido, lo aceptado es de 0.05 ppm.

Palabras clave: Glifosato, análisis de agua y AMPA.



2. ABSTRACT

Organophosphorus pesticides were used since the ban on organochlorines, these were chosen instead of limiting pollution, the most used in the world is glyphosate, a non-selective herbicide, which is derived from aminomethylphosphonic acid (AMPA) with the characteristic of not affect transgenic crops, but with limited use at present, since it was found that it could be an enhancer for health problems and more in the vulnerable population.

Mexico is one of the countries where it is used the most, with Chihuahua standing out as an important agricultural producer. The objectives of this study are to analyze, detect and quantify glyphosate in the water of a lagoon located in the recreational center "La Lagunita" in Anáhuac Chihuahua Mexico. Some of the most used techniques are fluorescence and one of them is high-efficiency liquid chromatography HPLC (UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific, USA) in reverse phase, glyphosate concentrations were obtained 30 times more than that established by the EPA Scientific in 2014, this being 0.7 ppm..

Some heavy metals and metalloids were identified with total reflection X-ray fluorescence (TXRF) (S2 Picofox, Brucker, USA) with results lower than those established by NOM-127-SSA1-1994 with the exception of arsenic, which obtained concentrations 5 times the established, I feel the accepted is 0.05 ppm.

Keywords: Glyphosate, water analysis and AMPA.



3. ANTECEDENTES

3.1 PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son compuestos o combinaciones de compuestos que se emplean para controlar plagas, incluyendo los vectores de dolencias tanto en seres humanos como en animales, así como aquellas especies no deseadas que generen daño o que obstaculicen la producción agropecuaria y forestal. Los plaguicidas se usan para controlar las plagas y las enfermedades que afectan la producción agrícola.

El empleo de plaguicidas químicos en la agricultura mexicana se deriva de la adopción del modelo tecnológico de la modernización capitalista en el campo, conocido como "Revolución Verde", que se originó en Estados Unidos y se extendió desde los años 40. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), basándose en fuentes oficiales, la utilización de los principales tipos de plaguicidas en México alcanzó las 98,814 t en 2014, lo que supone un aumento del 59,2 % respecto al año 2000, cuando se registraron 62,062 t. No obstante, el consumo máximo se registró en 2010, con un total de 113,880 t. (FAO., 2016). En el ámbito regional, México ocupa el tercer lugar en relevancia de comercialización de productos fitosanitarios en Latinoamérica, después de Brasil y Argentina (Bejarano González et al., 2017).

En México, el sector de los plaguicidas destinados a la agricultura está compuesto por 119 compañías que se dedican a la producción, formulación, ensamblaje, importación o exportación de pesticidas, todas ellas certificadas según las regulaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-034-FITO-1995. De estas empresas, solo un 11,76% (14 en total) están registradas como fabricantes de las moléculas químicas que componen los ingredientes activos de grado técnico en cada formulación (SAGARPA, 2016).



La autorización de plaguicidas necesita tres evaluaciones para su uso en agricultura, garantizando que:

- Correspondan a las especificaciones de uso recomendadas (cultivo, plaga, dosificación, frecuencia y tiempo de aplicación) para los que fueron desarrollados.
- Cumplan con los criterios de reducción de riesgos para la salud humana.
- Cumplan con los criterios de minimización de riesgos ambientales.

Al cumplir con estos puntos, además de la Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009, que establece los requisitos para el embalaje, etiquetado y envase de productos grado técnico y para su uso en agricultura, silvicultura, ganadería, jardinería, entorno urbano, industria y hogar. Esta norma establece los requisitos, indicaciones y características que deben cumplirse en el envase, embalaje y etiquetado de plaguicidas, ya sean técnicos o formulados en distintas presentaciones, para reducir los riesgos para la salud de los trabajadores que están expuestos a ellos en su trabajo y de la población en general durante su almacenamiento, transporte, manejo y aplicación (NOM-232-SSA1-2009).

Es crucial destacar que la presencia de los pesticidas no solo tuvo un impacto en el suelo, sino también en las aguas subterráneas. La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 establece los límites admisibles de calidad y los procedimientos de purificación del agua para el uso y consumo humano, que deben cumplir tanto los sistemas de abastecimiento públicos y privados como cualquier entidad física o jurídica que la distribuya en todo el país. En este sentido, podemos identificar pesticidas como el Lindano, DDT, DDD y el hexaclorociclohexano. Siendo esta regulación oficial de México de obligado cumplimiento en todo el país para las entidades que gestionan los sistemas de suministro públicos y privados o cualquier entidad física o jurídica que distribuya agua destinada al uso y consumo humano.



La supervisión del cumplimiento de esta regulación oficial de México es responsabilidad de la Secretaría de Salud y de los gobiernos de las regiones federativas en colaboración con la Comisión Nacional del Agua, en sus respectivas áreas de competencia (NOM-127- SSA1-1994).

Los plaguicidas se pueden clasificar de diversas maneras, una de estas es en naturales y sintéticos. Otra forma común de clasificarlos se basa en el tipo de especie a la que atacan. La nocividad es un criterio sumamente útil para categorizar a los plaguicidas dividiéndolos en dos tipos: nocividad acuática y nocividad crónica. El efecto nocivo agudo es el que se presenta a corto plazo ocasionando síntomas de intoxicación e incluso la muerte. Los efectos crónicos no se manifiestan de manera inmediata sino a largo plazo, semanas, meses o años después del contacto repetido a pequeñas cantidades con los pesticidas, produciendo afecciones del sistema nervioso, cáncer, trastornos hormonales, afectación del sistema inmunológico y daños reproductivos (Augusto & Rivera, 2019).

Estos plaguicidas pueden pasar por más de un proceso a través de la atmósfera llamado “efecto saltamontes” ya que la presión de vapor es tal que la temperatura del ambiente permite que los estados atmosféricos condensados y la baja degradabilidad les impida una descomposición rápida del suelo, por lo que estos ciclos de volatilización, transporte y deposición hacen que la exposición ambiental sea difícil de evaluar. Después de su aplicación, el plaguicida desaparece gradualmente, más o menos rápidamente, dependiendo de diversos factores como el ritmo de crecimiento de la planta, las condiciones climáticas (viento y precipitaciones), las características físico-químicas del plaguicida (volatilización y solubilización) y la degradación química (Semeena & Lammel, 2005)(NIMPTSCH, 2015).

Estos compuestos se han utilizado a lo largo de los años y en todo el mundo en diversas concentraciones y en diferentes ambientes, los cuales llegan a cuerpos de

agua por diversas maneras (Figura 1) llegan al momento de producirse y los desechos de la industria. De igual manera al aplicarse en cultivos en zonas de agricultura teniendo escurrimiento, infiltración y erosión de los suelos, llegando al cuerpo de agua y a todo el ecosistema acuático donde la durabilidad y nocividad de los plaguicidas se vincula de manera directa con la efectividad en los procedimientos de descomposición biológica, en donde las reacciones enzimáticas que suceden en los seres vivos tienen un papel relevante. Estos plaguicidas se acumulan en el suelo y, a través del consumo de cultivos que tienen persistencia de pesticidas, llegan a los humanos (NIMPTSCH, 2015).

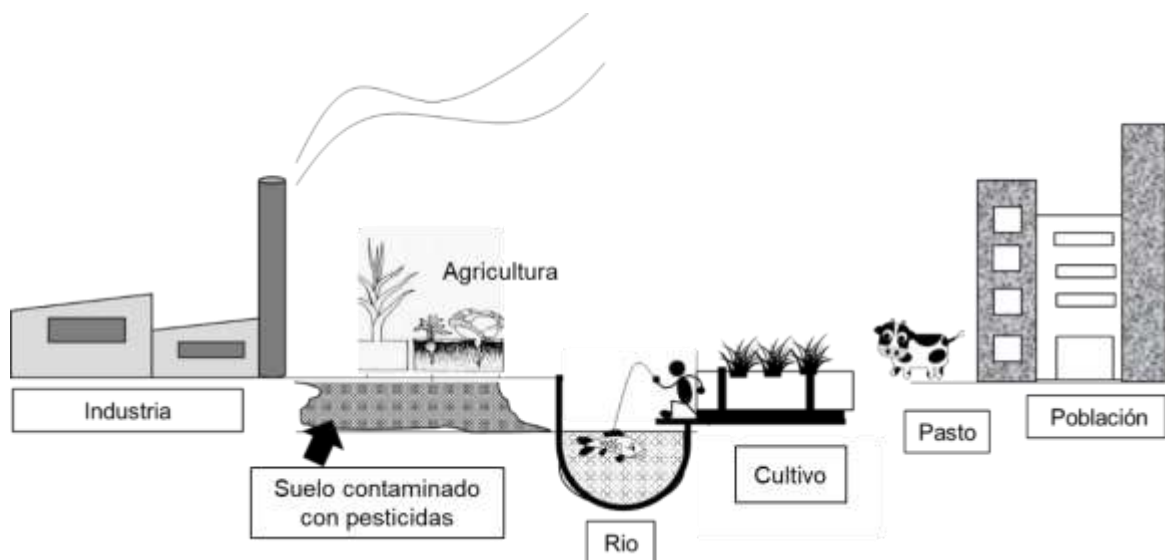


Figura 1 Formas de propagación de los plaguicidas (elaboración propia).

3.2 PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS

De los plaguicidas más utilizados desde hace décadas y a los que se les ha atribuido más efectos tóxicos están los hidrocarburos organoclorados, los cuales se componen de un alto contenido de átomos de cloro y ciclos de carbono. Estos compuestos son artificiales y tienen una amplia cobertura contra plagas, una gran resistencia química, son altamente liposolubles y no se disuelven en agua. Este



grupo de plaguicidas incluyen el aldrín, clordano, dieldrín, endrín, heptacloro, HCH (hexaclorociclohexano), lindano, dicloro difenil tricloroetano (DDT) y toxafeno. Los cuales son compuestos que integran la llamada “docena sucia” los cuales identificó “El Convenio de Estocolmo” (García Hernández, 2018) donde se engloban a aquellos plaguicidas que más problemas ambientales han generado. En la actualidad, los compuestos organoclorados han sido prohibidos en prácticamente todo el mundo con restricciones específicas para la mayoría de sus aplicaciones, debido a su tendencia a acumularse, su elevada estabilidad química, su gran resistencia a la luz y su difícil descomposición biológica. En algunos casos, se ha demostrado que estos compuestos son cancerígenos y mutagénicos cuando son ingeridos por animales o plantas expuestos a ellos (Yarto et al., 2018). Los plaguicidas organofosforados surgieron en Canadá en 1946 y luego se propagaron por todo el mundo, siendo sintetizados a través de la cloración de varios hidrocarburos, incluyendo los derivados del etano, siendo el DDT el más famoso. En 1962, la bióloga y ecologista Rachel Carson publicó su libro "Primavera Silenciosa", en el que se hacía referencia al uso del DDT, el cual no solo afectaba a los insectos considerados plagas, sino también a las aves, otros animales y hasta los seres humanos. (Carson, 2013). La estructura molecular se presenta en la Figura 2.

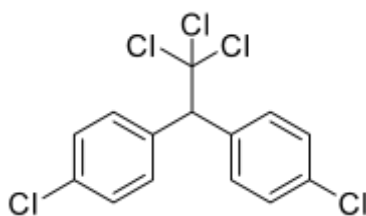


Figura 2 Representación molecular del dicloro difenil tricloroetano (DDT) (Julius C. Hyman 1939)

El DDT se llegó a prohibir en EUA y Canadá el 14 de junio de 1972 en su totalidad, pero en algunos países se sigue utilizando como en México donde solamente es aprobado para programas contra el paludismo (Jayaraj et al., 2016).



3.3 PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Con el control de uso de los plaguicidas organoclorados se optó por los organofosforados (OPs), los cuales son un grupo de plaguicidas artificiales. Estos se componen de un átomo de fósforo conectado a 4 átomos de oxígeno o en ciertas sustancias a 3 de oxígeno y uno de azufre (Figura 3). Siendo una de las conexiones fósforo-oxígeno bastante inestable, el fósforo liberado de este "grupo libre" se une a la acetilcolinesterasa, deteniendo la transmisión nerviosa y causando la muerte. Algunas de sus características principales son su toxicidad, su escasa estabilidad química y su falta de acumulación en los tejidos (Mulla et al., 2020).

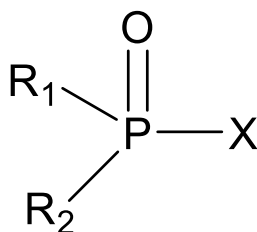


Figura 3 Representación general de los OPs (Benedicto, 2002).

Estos elementos experimentaron un avance durante la Segunda Guerra Mundial, siendo empleados por las fuerzas armadas como agentes neurotóxicos. Posteriormente, tras la contienda bélica, se extendió su utilización en el ámbito agrícola, surgiendo los primeros compuestos como el paratión y el malatión que se emplean principalmente en la agricultura. Con el tiempo, se sintetizaron diversos elementos como el glifosato, creado específicamente para eliminar gran parte de la maleza que pudiera afectar la siembra y lograr una preparación óptima del terreno. Se llegó a comercializar mucho desde su salida al mercado ya que se consideraba inocuo para la salud y el ambiente, sin embargo, con el pasar del tiempo se clasificó como genotóxico, por ello la importancia de su estudio en la actualidad (Alcántara-de la Cruz et al., 2021).



Un organofosforado que se empezó a utilizar en 1990 y se comercializó principalmente como el herbicida Roundup, el cual es un producto de Monsanto se aplicó en casi 800,000 acres en el Reino Unido en 1994 y en EUA su uso anual estimado era entre 19 y 26 millones de libras.

Es ampliamente empleado debido a su capacidad para ser utilizado en una diversidad de pastos, malezas, arbustos y cultivos comerciales. Se trata de uno de los plaguicidas más utilizados gracias al aumento de los cultivos genéticamente modificados, tales como el maíz, la soja, el algodón y la alfalfa, que son resistentes a los efectos de este herbicida. Se estima que su uso crece a un ritmo anual de alrededor del 20%. Su uso empezó a decaer gracias a que se observaron efectos adversos ocasionados por este compuesto (Valavanidis, 2018). El N-fosfometilglicina, conocido como glifosato, es un ácido orgánico débil que se compone de una molécula de glicina y otra de fosfometil (Figura 4). Este herbicida no selectivo se utiliza ampliamente en diferentes cultivos agrícolas para controlar tanto malezas anuales como perennes que crecen en las proximidades de los cultivos (Yarto et al., 2013).

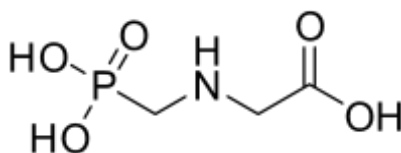


Figura 4 representación molecular del glifosato (N-fosfometilglicina) (Monsanto 1974)

El mecanismo de acción que produce el glifosato es la inhibición de la enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS) la cual pertenece a la ruta del ácido shikímico, el cual es utilizado para realizar la biosíntesis de aminoácidos aromáticos y de metabolitos siendo dirigida a plantas, pero de igual manera este llega a afectar a especies no objetivo como bacterias y hongos.



En América se encuentra una gama amplia de herbicidas con diferentes nombres comerciales como lo son el Bundit Extra, Credit, Xtreme, Glifonox o Glyphogan. En México, según CONACYT (2019), suelen ser comercializados con el nombre de “Faena, Cacique 480, Lafam, Eurosato y Agroma”, los cuales poseen en común el mismo principio activo, el cual es el N-fosfometilglicina, $C_3H_8NO_5P$, (glifosato) (Alcántara-de la Cruz et al., 2021).

Países como Argentina o Brasil llegan a tener consumos de 5 y 3,5 kilogramos de plaguicidas por habitante, respectivamente. En México se ha registrado un alto número de incidencias de las plagas, las cuales han sido atendidas y registradas por la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Los estados con más incidencias de plagas los principales estos se pueden agrupar en seis clases: descortezadores, las plantas parásitas comúnmente conocida como muérdago y también plantas epífitas, defoliadores, barrenadores, los cuales han sido encontrados en: Durango con 474 ha, Michoacán 424 ha, Chihuahua 319 ha y Querétaro con 207 ha. Durante 2017. De acuerdo a la superficie afectada, el primer lugar lo ocupan los descortezadores (60.9%), seguida por defoliadores (43.9%), lo que corresponde a 15 000 ha afectadas (SEMARNAT et al., 2019)

De toda esta superficie agrícola aproximadamente 80% se utilizan plaguicidas en las cuales dos de cada tres utilizan glifosato, teniendo un aumento con el paso de los años, por ejemplo, en 1994 llegó a consumir en México 31.1 mil toneladas viendo ya para el 2015 un aumento llevándose a consumir 55.8 mil toneladas (SAGARPA, 2016, Baddi y col., 2017). En la tabla 1 se puede observar el uso de plaguicidas en diversos lugares del mundo y como este se centraliza más en algunos países, así como estudios recientes que observan la perseverancia de estos en el ecosistema.



Tabla 1 plaguicidas detectados comúnmente en zonas cercanas a lugares donde se practique la agricultura.

Zona de análisis	Plaguicidas Organoclorados	Concentración $\mu\text{g}/\text{kg}$	Referencia
Sedimentos en 14 estados de Illinois, EUA	OCP (beta-BHC, dieldrín, endrín cetona y DDT) y clorpirifos.	0.010 a 0.043	(Ding et al., 2010)
Playas dentro de las Llanuras Altas del Sur de EUA	Organoclorados	0,085 en cultivos de playas y 0,048 en praderas de playas.	(Anderson et al., 2013)
Río pelotas Brasil	DDT	0.0158	(Model et al., 2018)
Río Daliao en el noreste de China	Plaguicidas organoclorados dieldrin, endrin, aldrin, heptacloro	0.0037 a 0.0301	(By Kelly L. Smalling, 2009)
Yala/Nzoia del lago Victoria, Kenia	Organoclorados DDT clordano, aldrina, dieldrina, heptacloro, endrina y toxafeno;	0,05 a 59,01	(Musa et al., 2011)
Costa tropical Townsville y Port Douglas, Australia	Organoclorados DDT clordano, aldrina, dieldrina, heptacloro, endrina y toxafeno;	0,05 a 0,26	(Haynes et al., 2010)



Valles agrícolas de Mexicali México	DDT Lindane Toxafenos	0.029 0.020 0.064	(Sánchez-Osorio et al., 2017)
Zona de análisis	Plaguicidas organofosforados	Concentración µg/L	Referencia
Rio Paraná pasa a través de Brasil, Paraguay y Argentina.	glifosato más su metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA)	0.74 y 0.52	(Ronco et al., 2016)
En la Bahía de Ohuira Sinaloa México	Clorpirifós Metil paratión	1.3-7.2 0.4-1.0	(M.C. Rivera, 2014)
Agua subterránea Hopelchén en Campeche México	Glifosato	1.42	(Reynoso et al., 2020)
Río pelotas Brasil	Metil Paratión	0.242	(Model et al., 2018)
Agua de la Laguna de Venecia Italia	Glifosato	0.26	(Feltracco et al., 2022)
Cuenca del Río Catatumbo Colombia	Glifosato	1.24	(Manuel Sánchez et al., 2012)

Como se puede observar en el cuadro anterior, el uso de plaguicidas organoclorados aún se encuentra en todo el mundo y se muestra su perseverancia en el suelo en lugares donde ya se tiene prohibido como lo es México, aunque este



tiene algunas excepciones al uso de estos y de igual manera, su alternativa que son los organofosforados, encontrando más sobre el glifosato, teniendo en consideración que en México este es mayor en comparación del resto del mundo siendo uno de los primeros lugares en el uso de este, ya que donde más se utilizaba que era EUA hasta a su prohibición, siendo en México utilizado en más del 35% del territorio nacional para la producción de cítricos, caña de azúcar y algodón, siendo de los principales productores de estos cultivos (Brookes et al., 2017).

3.4 PLAGUICIDAS EN MÉXICO

Actualmente en México se usan diferentes tipos de plaguicidas, siendo los organoclorados y los herbicidas como el glifosato (el cual es el más utilizado), aun cuando existen alternativas de origen biológico, cada vez más utilizadas por su relevancia en el cuidado del medioambiente, pero que aún no llegan a una igualdad en eficiencia a los sintetizados químicamente (Alcántara-de la Cruz et al., 2021)

Anualmente en los países desarrollados se llega a estimar que se desperdician 125 millones de toneladas siendo este de alimentos producto de las “malezas o malas hierbas”; ya que estas compiten con las plantas de interés por los nutrientes del suelo, agua y luz, con los cuales se ven afectado el nivel económico. En México llega a afectar entre un 30-35% del rendimiento de los cultivos, pero estas pueden llegar a destruir todo el cultivo si no llegan a ser atendidas. (Hernández Sierra et al., 2021)

De acuerdo a la SEMARNAT para 2024 México busca llegar a la prohibición de glifosato ya que se dijo que este puede llegar a presentar daños a la salud de los seres humanos y algunas especies de animales, este es un aspecto importante a la hora de seleccionar un herbicida, insecticida o fungicida, ya que en muchos casos este tipo productos llegan a incorporarse como elementos a la cadena trófica y luego han sido hallados en muestras biológicas de seres humanos. Varias organizaciones como lo son “Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria” (EFSA) y la



“Agencia de Protección Ambiental” (EPA) de Estados Unidos han comentado que no es probable que el glifosato sea cancerígeno, pero la “Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer” (IARC) contradice directamente la opinión de estas organizaciones ya que dicha entidad clasificó al glifosato como probablemente carcinogénico (Guyton et al., 2015, SEMARNAT et al., 2019).

Se realizó un diagnóstico en agua superficial y subterránea, al igual del suelo de la contaminación por plaguicidas elaborado por el “Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático” (INECC), nos señala que la mayoría de zonas afectadas por este compuesto corresponde a pozos, ríos, lagos, lagunas o sistemas costeros y zonas agrícolas. Entre los reportados esta Valle de Culiacán, el cual reporta con 31 ingredientes activos en los cuales se encuentran los OCP, OPs y algunos metabolitos de estos, siendo esta una zona de alta producción agrícola en Sinaloa. Otro sería el río La Laja, en Guanajuato, el cual reporta grandes cantidades de glifosato, de igual manera, cuerpos de agua cercanos a plantaciones de plátano ubicadas en Tabasco presentan este problema (SEMARNAT 2019).

3.5 EFECTOS SECUNDARIOS DEL GLIFOSATO

Una de las principales preocupaciones en torno al glifosato radica en su impacto ambiental. Se sabe que el glifosato tiene un efecto de amplio espectro, lo que significa que puede dañar no solo las malas hierbas objetivo sino también las plantas no objetivo. Esto puede conducir a una pérdida de biodiversidad, ya que el glifosato puede inhibir el crecimiento y la reproducción de varias especies de plantas. Además, el herbicida se ha relacionado con la disminución de las poblaciones de mariposas monarca, ya que afecta a las plantas de algodoncillo que son cruciales para su supervivencia (SEMARNAT 2019)

El impacto del glifosato en la salud del suelo es otra área de preocupación. Los estudios sugieren que el glifosato puede alterar los colectivos de microbianas del suelo, lo que lleva a una disminución de las bacterias beneficiosas del suelo y a un



aumento de los patógenos dañinos. Esto puede tener consecuencias de gran alcance para la fertilidad del suelo y el equilibrio general del ecosistema.

Los posibles efectos del glifosato sobre la salud han sido objeto de un intenso debate. La “Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC)”, clasificó al glifosato como un probable carcinógeno humano en 2015, con base en evidencia limitada de su asociación con el linfoma no Hodgkin (IARC, 2015)

Los estudios que exploran el vínculo entre la exposición al glifosato y el cáncer han producido resultados contradictorios, lo que aumenta la complejidad del problema. Algunos estudios han encontrado un mayor riesgo de ciertos tipos de cáncer, mientras que otros no han observado una asociación significativa. La comunidad científica continúa examinando la evidencia disponible para llegar a un consenso (Villalba, A 2009).

Aparte del cáncer, también se han investigado otros posibles efectos sobre la salud. Algunos estudios sugieren una correlación entre la exposición al glifosato y las alteraciones en la función endocrina, lo que genera preocupaciones sobre los efectos reproductivos y de desarrollo. Además, el herbicida se ha asociado con efectos adversos sobre la función hepática y renal en estudios con animales

La controversia en torno al glifosato ha provocado acciones regulatorias y preocupaciones públicas. Varios países han impuesto restricciones al uso de glifosato, mientras que otros han prohibido o propuesto prohibiciones del herbicida por completo. Estas acciones reflejan la necesidad de un enfoque de precaución, considerando los riesgos potenciales asociados con el glifosato (Camacho, G 2016).

La conciencia pública y las preocupaciones sobre el glifosato también han aumentado, lo que ha dado lugar a llamados para una divulgación más transparente de su presencia en los productos alimenticios y la adopción de prácticas agrícolas alternativas. Los consumidores buscan cada vez más opciones orgánicas y sin



OGM (organismos modificados genéticamente) para reducir la exposición potencial a los residuos de glifosato (Villalba, A 2009)

3.6 METALES

Los metales son elementos químicos que poseen propiedades físicas y químicas únicas. Algunos de los metales más comunes encontrados en el agua son el plomo, el mercurio, el cadmio, el arsénico y el cromo. Uno de los factores más importantes que afectan los ecosistemas debido a la contaminación causada por metales pesados y metaloides. Estos pueden ingresar al agua a través de diversas fuentes, como la minería, la industria, la agricultura y los desechos urbanos. Además, la corrosión de las tuberías y otras posibles fuentes significativas de metales son los diversos métodos del abasto de agua, se tiene que la cantidad de contaminación del agua potable está cerca de los 200 millones de metros cúbicos diarios (Vilchez, 2005).

En la actualidad, uno de los mayores desafíos a nivel medioambiental es la polución de los cuerpos de agua del planeta por metales pesados y metaloides. Esto se debe a la toxicidad que llegan presentar estos elementos, los cuales se consideran un grave problema para los residentes de estas zonas siendo las comunidades que dependen de estas fuentes de agua. Tal situación aumenta el riesgo de efectos potencialmente dañinos sobre los distintos ecosistemas y el medio ambiente, los cuales son esenciales para el sustento de la vida humana. Además, esto conlleva graves problemas económicos tanto a nivel local como nacional, debido al aumento de los precios de los tratamientos médicos y el descenso de la producción de su sustento en los habitantes de la zona (Contreras , 2004).

Estos elementos en el agua pueden tener impactos significativos en los ecosistemas acuáticos. Estos elementos pueden acumularse en los sedimentos y los tejidos de los organismos, eliminando la biodiversidad y provocando alteraciones en las redes tróficas. Además, la contaminación del agua con metales y metaloides puede afectar



la calidad del agua potable y limitar su disponibilidad para el consumo humano y la agricultura (Ramirez, 2013).

El plomo, por ejemplo, puede causar daños en el sistema nervioso y afectar el desarrollo cognitivo de los niños. El mercurio es otro metal altamente tóxico que puede acumularse en los tejidos de los organismos y causar daños neurológicos y renales. El cadmio y el arsénico también son conocidos por sus efectos perjudiciales para la salud, incluyendo daños en los riñones, el hígado y el sistema cardiovascular. (Vilchez, 2005)

Para mitigar los efectos de los metales y metaloides en el agua, es crucial implementar medidas de control y prevención de la contaminación. Esto incluye la adopción de tecnologías de tratamiento de agua efectivas que pueden eliminar o reducir la concentración de metales y metaloides. Asimismo, es fundamental promover prácticas de gestión adecuada en la industria, la agricultura y otras actividades humanas para reducir la liberación de metales y metaloides al medio ambiente (Reyes et al, 2016).



4. INTRODUCCIÓN

El agua es el líquido vital del planeta. Por tanto, se considera uno de los derechos humanos básicos. Dentro de los usos más importantes del vital líquido son; el abastecimiento para consumo, actividades domésticas/recreativas/productivas, preservación de la vida acuática, y hábitat, entre otras. Desafortunadamente, las actividades antrópicas, el cambio climático, y el crecimiento poblacional, entre otras, ha detonado problemas de escasez de los recursos hídricos, lo cual representa un riesgo para la producción de alimentos en el mundo y demás actividades del ser humano. Una alternativa para mitigar estos efectos es la preservación-conservación de los recursos hídricos. No obstante, la falta de conciencia y/o cultura del agua ha frenado dichas acciones. Por tanto, es necesario utilizar la información generada derivada de estudios en materia de agua para incentivar el cuidado de este recurso natural. En el caso particular se puede ver el parque “La Lagunita”, (figura 5 y 6) un parque recreativo ubicado en la sección municipal Anáhuac, Cuauhtémoc, Chihuahua, inaugurado en el año 2016 por el entonces presidente municipal Heliodoro Juárez y el presidente seccional Rubén Aguilera Flores, con una inversión de 7 millones 390 mil pesos.

Este parque cuenta con una superficie de 5 hectáreas, donde se encuentran 100 árboles de varios tipos, área con 20 asadores, parque de béisbol, muro de rapel, embarcadero para lanchas deportivas y de pesca.

Así mismo cuenta con cancha de usos múltiples, cancha de voleibol, puente colgante, capa rompedora, cableado subterráneo para alumbrado, luminarias led en zonas recreativas y deportivas, iluminación tipo colonial, bancas y áreas de juegos infantiles. (AR noticias, marzo 2016)

Siendo este un lugar de interés ya que es un lugar concurrido por la comunidad de los alrededores, donde se llegan a tener actividades como la pesca, botes de remo,



natación, entre otras cosas, muchas de estas siendo prohibidas por varios aspectos como lo son la contaminación que puede llegar a esta zona.

Un suceso que llegó a tomar la atención de los alrededores y de las autoridades, es que se han encontrado cientos de peces muertos, por lo que se quiere encontrar la causa, ya que siendo un lugar recreativo, tiene contacto con mucha gente y puede llegar a afectar la salud de los que lleguen a tener contacto con el agua que puede tener metales pesados, un pH diferente y además, por la actividad agrícola cercana, puede llegar a tener plaguicidas organoclorados, organofosforados, entre otros, que pueden llegar a provocar problemas para la salud.



Figura 5 Parque “La lagunita” Anahuac, Chihuahua. Noticiero “Reporte Cuauhtémoc”.



Figura 6 Distribución del parque “La lagunita” Anahuac, Chihuahua. Noticiero “Reporte Cuauhtémoc”.



Facultad de Ciencias Químicas

Actualmente el glifosato, siendo actualmente de uso común y recientemente visto como un posible cancerígeno, como se ve anteriormente más a fondo, es un punto a considerar, ya que Chihuahua es uno de los estados más contaminados en agua superficial, lagunas, ríos, lagos y en general cuerpos de agua.



5. JUSTIFICACIÓN

Este proyecto de investigación se realizó para determinar la calidad del agua del parque recreativo “La Lagunita” en Anahuac Chihuahua, buscando posibles contaminantes.

Se decidió realizar ya que alrededor de noviembre de 2020, los vecinos que vivían en los alrededores del parque informaron que una gran cantidad de peces habían muerto, aparentemente debido a la contaminación del área con agua del sistema de alcantarillado de la ciudad. Por lo tanto, se inició este estudio y se evaluó si esa zona es segura en cuanto a la calidad del agua, ya que la población está en contacto directo con ese recurso natural e incluso reportó pesca y nado en la zona. Además, se logró identificar otro punto de contaminación, el desprendimiento de materia orgánica de un establo, lo que provoca el escurrimiento hacia los cuerpos de agua.

El gobierno del municipio de Cuauhtémoc y el departamento de Anáhuac se propusieron iniciar un estudio para diagnosticar las consecuencias de este problema. Por lo cual instituciones como el INIFAP, el INECOL y la Facultad de Ciencias Químicas-Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH procedieron a la evaluación de la calidad del agua, sedimentos, y estudios microbiológicos del cuerpo acuático.

6. HIPÓTESIS

Se desarrollarán técnicas de cromatografía de alta resolución para la determinación de compuestos orgánicos (glifosato y AMPA) y métodos espectrométricos para determinar elementos traza en el parque recreativo la lagunita de Cuauhtémoc Chihuahua.



7. OBJETIVOS

El objetivo general es desarrollar una técnica eficiente de cromatografía de alta resolución con detección ultravioleta para la determinación de glifosato, así como y desarrollar una metodología espectrometría utilizando TXRF para la determinación de elementos traza en muestras de agua obtenidas del parque la lagunita de Cuauhtémoc Chihuahua en diferentes etapas del año.

7.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar muestreos de agua de 6 meses del año, de septiembre del 2021 a marzo 2022 del cuerpo de agua de la región de “la Lagunita” localizada en Cuauhtémoc Chihuahua.
2. Determinar la concentración de glifosato y AMPA en la zona de estudio por RP-HPLC-DAD utilizando una técnica de derivatización para aumentar el límite de detección.
3. Análisis simultáneo de elementos trazas múltiples por TXRF



8. MATERIALES Y METODOS

Materiales

- Parque recreativo ubicado en la sección municipal Anáhuac, Cuauhtémoc, Chihuahua, inaugurado en el año 2016 con una superficie de 5 hectáreas, donde se encuentran 100 árboles de varios tipos.
- Recipientes de 1L de plástico con tapa
- HPLC marca UltiMate 3000
- Vial para HPLC
- Columna Perkin Elmer Quasar C18 250x4.6mm 5µm
- Fluorescencia de rayos X de reflexión total (TXRF S2 Picofox, Brucker)
- Disco de cuarzo
- Acido nítrico concentrado (HNO₃)
- Cloruro de fluorenilmetiloxicarbonil (FMOC-Cl)
- Glifosato Estándar DIN38407-22 estándar 100ppm
- Ácido aminometilfosfónico (AMPA) DIN38407-22 estándar 100ppm
- Buffer de fosfato de sodio NaH₂PO₄/ Na₂HPO₄
- Estándar de selenio para TXRF
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

8.1 TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra se realizó conforme a la NORMA MEXICANA NMX-AA-14-1980 "CUERPOS RECEPTORES. - MUESTREO" La presente regulación establece las directrices generales y sugerencias para la toma de muestras en fuentes de agua superficiales, sin incluir las aguas estuarinas y marinas, con el objetivo de identificar sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas.



Se efectuó la toma de muestra mensual tomando un litro de agua en un recipiente de plástico con tapa de plástico, estos muestreos fueron realizados por 6 meses, en donde el parque recreativo se dividió en cuadrantes donde por estrategia y de manera de que en realidad sea una muestra representativa se dividió en cuadrantes tomando 3 por cada zona como se muestra en la figura 7.



Figura 7 Mapa de la lagunita con los cuadrantes de muestreo

Por cada cuadrante se realizaron dos muestreos a dos profundidades diferentes (0.30 m y 0.60 m) obteniendo así 12 muestras por mes. Las muestras fueron almacenadas en botes de plástico con capacidad de un litro e identificadas como 1.1 para el cuadrante 1 a la profundidad 1 (0.30 m) y 1.2 para el cuadrante 1 a la profundidad 2 (0.60 m), es decir, para el cuadrante 2, fueron identificadas como 2.1 y 2.2 según su profundidad y de esta manera las muestras fueron identificadas hasta el cuadrante 6. Al finalizar cada muestreo, las muestras fueron colocadas en una hielera para su debido traslado al laboratorio de Química III de la Facultad de Ciencias Químicas de la UACH, en donde se congeló para su posterior análisis impidiendo el crecimiento de microorganismos

8.2 DERIVATIZACIÓN

La derivatización es una técnica que implica una reacción química entre el analito y un reactivo para cambiar las propiedades químicas y físicas del mismo. Los usos

principales de la derivatización en HPLC están sujetos a una mejor detección, cambios en la estructura molecular o polaridad del analito para mejorar la separación y la estabilización de analitos lábiles. La reacción utilizada para la derivatización debe ser rápida, cuantitativa y que produzca un mínimo de subproductos por lo que el reactivo seleccionado fue el cloruro de fluorenilmetiloxycarbonil (FMOC-Cl), con este, se realizó una solución 0.01M para su posterior utilización en la muestra.

8.3 DERIVATIZACIÓN DEL GLIFOSATO Y AMPA

La derivatización se realizó en un pH=9 utilizando un buffer de borato, se utiliza este pH ya que observando los pKa es donde se realizará la reacción deseada en las dos moléculas siendo la amina la que realiza un ataque nucleofílico al carbonilo del FMOC-Cl como se observa en la disociación acido-base de la imagen 8.

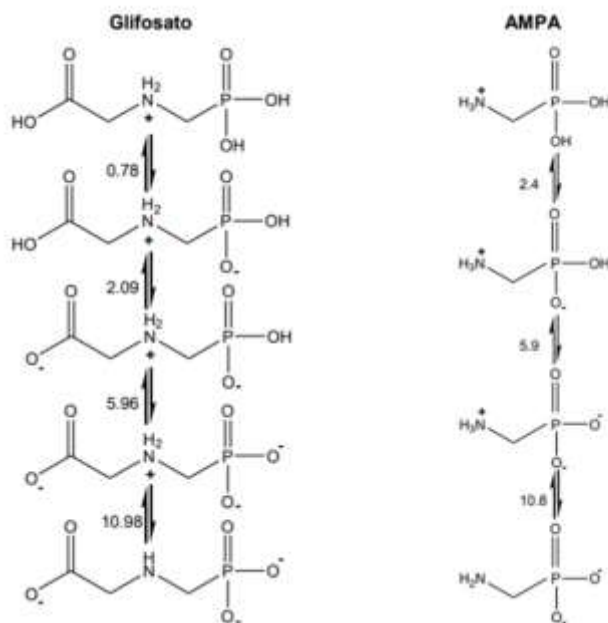


Figura 8 Disociación acido-base de glifosato y AMPA (Guerrero, 2013).

8.4 DERIVATIZACIÓN ESTÁNDAR

Utilizando un estándar de 100ppm de glifosato y AMPA, se toman 400 μ L del patrón añadiendo la solución buffer de borato 0.05M con un pH=9 se mezcla y se agregan 700 μ L de la solución de FMOC-Cl 0.01M se mezcla de nuevo de manera mecánica en un vial de vidrio de 1.5ml y después de reposar 20 minutos este pasa a su análisis en HPLC, esta reacción nos crea una molécula más grande y mucho más fácil su detección en el equipo, resultando las siguientes moléculas que se muestran en la figura 9 y 10.

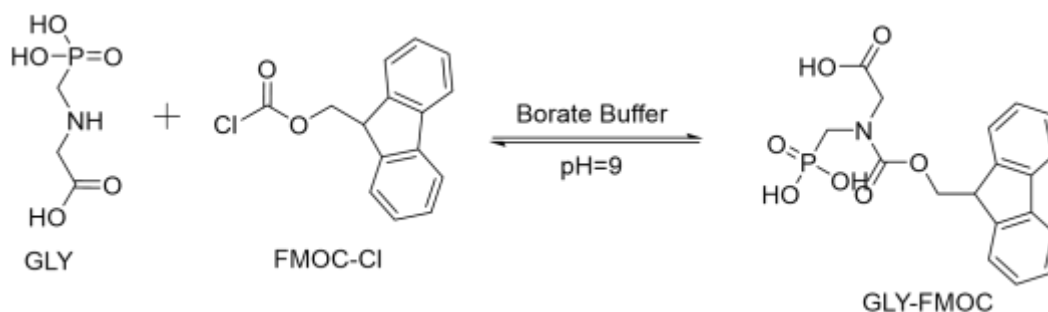


Figura 9 Reacción de derivatización del glifosato con FMOC-Cl (J.Gill, 2017).

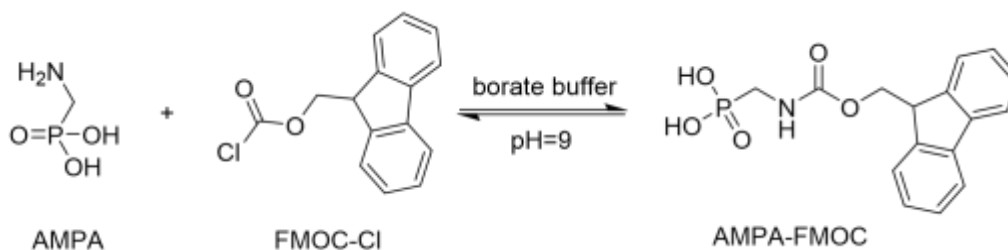


Figura 10 Reacción de derivatización del AMPA con FMOC-Cl (J.Gill, 2017).

8.5 CURVA DE CALIBRACIÓN

Con el uso de los estándares se realizó una curva de calibración, se utilizó desde 0.1 μ L el cual nos representa una concentración de 1.125ppm hasta 3.2 μ L siendo 36ppm, esto es a que se toma a consideración el volumen tomado del estándar y la



dilución realizada por el equipo, se graficaron las concentraciones contra la respuesta obtenida siendo esta el área bajo la curva indicando cada uno de los picos vistos en el esquema siendo, según la literatura se observa el primer pico como glifosato y el segundo como AMPA, comprobando estos datos utilizando un estándar de uno solo de estos compuestos y de esta manera diferenciar con seguridad cual pico representa el glifosato y el AMPA.

5.6 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

Realizando de la misma manera que con los estándares se tomaron 400 μ L de la muestra añadiendo la solución buffer de borato 0.05M con un pH=9 se mezcla y se agregan 700 μ L de la solución de FMOC-Cl 0.01M se mezcla de nuevo de manera mecánica en un vial de vidrio de 1.5ml y después de reposar 20 minutos este pasa a su análisis en HPLC.

8.7 ANÁLISIS DE GLIFOSATO Y AMPA EN HPLC

Se utilizó un HPLC marca UltiMate 3000 con una columna de fase reversa Perkin Elmer Quasar C18 250x4.6mm de tamaño de poro 5 μ m. Esta columna permitió maximizar la retención de compuestos moderadamente polares a no polares. La fase móvil utilizada para la elución fue 30% de acetonitrilo y 70% de agua con un flujo de 1 ml/min.



- *Figura 11 Equipo UltiMate 3000 HPLC (ThermoFisher 2012).*

8.8 ANÁLISIS DE METALES Y METALOIDES POR TXRF

Se tomaron alícuotas de cada muestra (995 μL) de la solución y con un estándar de selenio (5 μL) y se pipetearon sobre un soporte de cuarzo TXRF pulido (3 cm de diámetro y 3 mm de espesor). La solución se dejó evaporar en una placa de calentamiento a sequedad a 60°C, dejar en el calentador por aproximadamente 20 min. Se ingresa al equipo para su lectura y su posterior análisis, utilizando un equipo S2 Picofox, Brucker. En este equipo utilizamos un estándar para poder cuantificar en partes por millón para comparar con la norma deseada.



Figura 12 Equipo TXRF S2 Picofox, Bruker (Kubala-Kukus, 2021).

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 TOMA DE MUESTRA

Se realizó de manera correcta el muestreo tomando un litro en un recipiente de plástico con tapa de igual manera de plástico como se muestra en la figura 13, estos muestreos fueron realizados por 6 meses, en donde el parque recreativo se dividió en cuadrantes en 6 cuadrantes tomando por cada uno dos muestreos a dos profundidades diferentes (0.30 m y 0.60 m) obteniendo así 12 muestras por mes y un total de 72 muestras.



Figura 13 Ejemplificación del recipiente utilizado

9.2 DERIVATIZACIÓN

Se utilizó el estándar anteriormente mencionado de glifosato y AMPA se toman 400 μ L del patrón añadiendo la solución buffer de borato 0.05M con un pH=9 se mezcla y se agregan 700 μ L de la solución de FMOC-Cl 0.01M se mezcla de nuevo de manera mecánica en un vial de vidrio de 1.5ml y después de reposar 20 minutos este pasa a su análisis en HPLC, esta reacción mencionada nos da como resultado la molécula más fácil de detectar, por lo que en nuestro cromatograma tenemos dos picos que nos indican la derivatización del glifosato y el AMPA, dando como resultado el siguiente cromatograma en la figura 14.

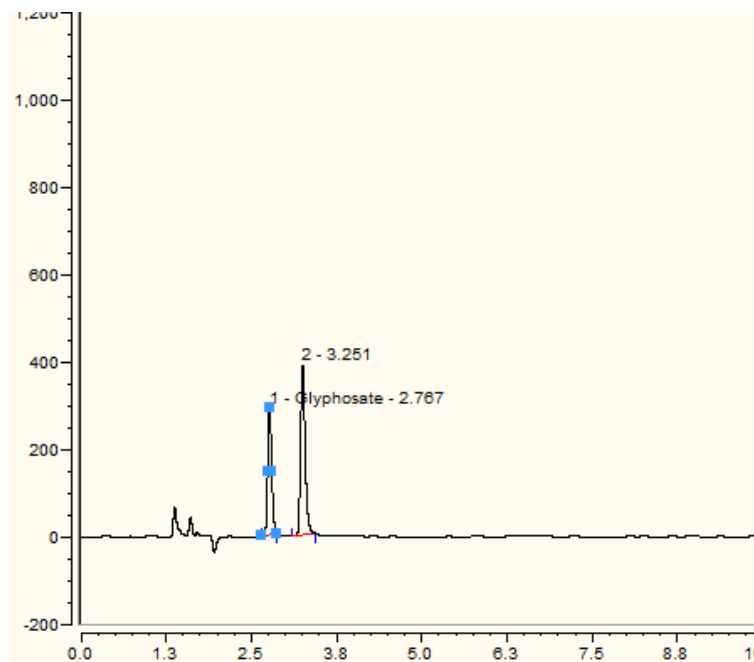


Figura 14 Cromatograma de glifosato y AMPA HPLC

Se determino el tiempo de retención de cada uno de los compuestos, utilizando un estándar del AMPA ya derivatizado para poder observar este tiempo de retención y determinar el tiempo de retención de cada uno como se muestra en la figura 15, determinando en un tiempo de retención de 2.75 minutos para el AMPA y el 3.25 minutos para el glifosato.

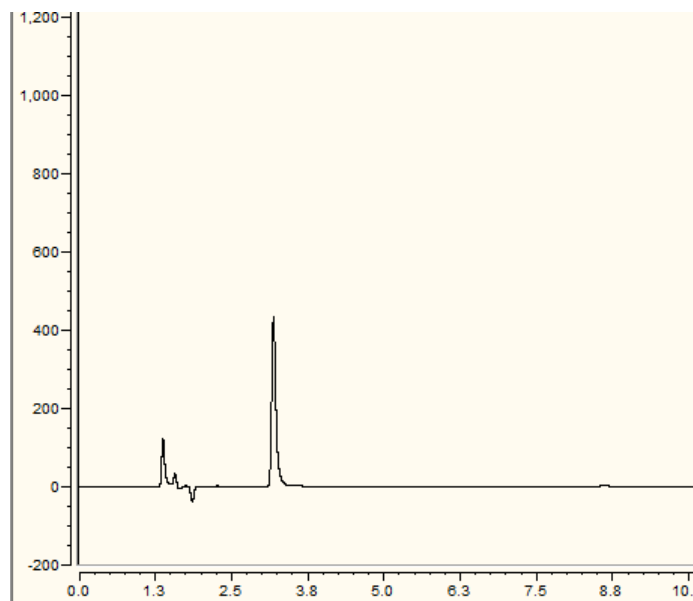


Figura 15 Cromatograma de estándar de AMPA

9.3 CURVA DE CALIBRACIÓN

La curva de calibración se llevó a cabo utilizando una concentración de 1ppm hasta 3.2 μ L siendo 36ppm, esto es a que se toma a consideración el volumen tomado del estándar y la dilución realizada por el equipo, como se muestra en la tabla 2.

Volumen μL	AMPA	GLIFOSATO
0.1	0.5646	0.9917
0.2	1.2135	1.6708
0.4	2.2956	3.4674
1.2	7.5491	11.399



Facultad de Ciencias Químicas

1.6	10.0256	15.1954
2.4	15.2444	23.2185
3.2	20.4266	31.1474

Con los datos anteriormente obtenidos, se grafico y se obtuvo la curva de calibración teniendo como resultados las siguientes ecuaciones para glifosato y AMPA:

$$\text{Glifosato: } y = 0.861x - 0.2778$$

$$R^2 = 0.9998$$

$$\text{AMPA: } y = 0.5645x - 0.1504$$

$$R^2 = 0.9999$$

Se logra observar una R^2 de 0.99 en ambos casos por lo que se determina que no existe una variabilidad en los resultados y se obtienen datos lo suficiente confiables obteniendo la curva de calibración como se muestra en las figuras 16 y 17.

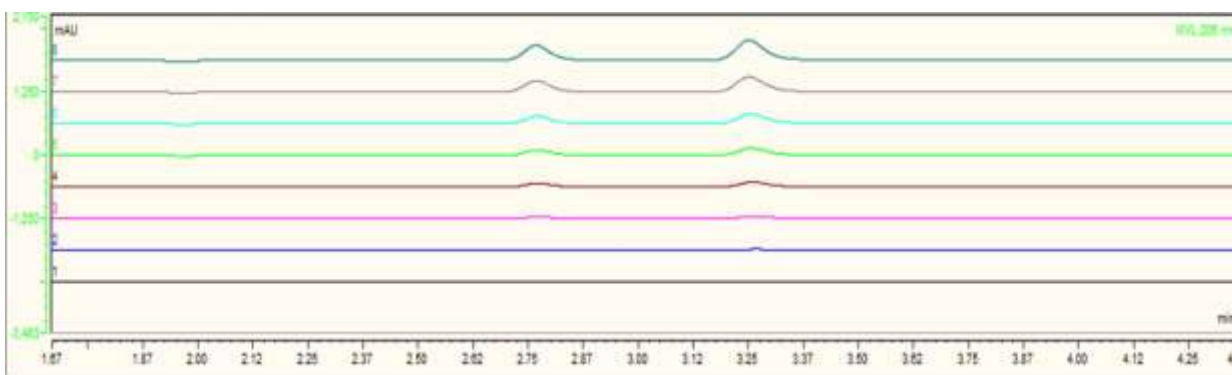


Figura 16 Respuesta de las diferentes concentraciones en el HPLC

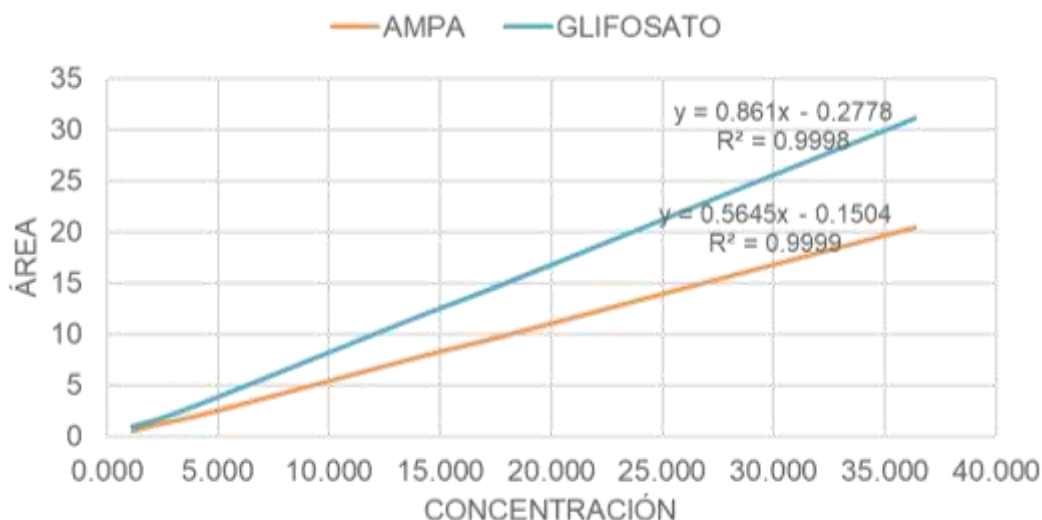


Figura 17 Curva de calibración del glifosato y AMPA

9.4 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se realizó de manera adecuada como en los estándares donde se tomó 400 μ L de la muestra añadiendo la solución buffer de borato 0.05M con un pH=9 se mezcla y se agregan 700 μ L de la solución de FMOCl 0.01M, se pasó a su análisis en HPLC. Se obtuvieron cromatograma con los mismos tiempos de retención como se muestra en la figura 18 en comparación con los estándares por lo que se determina que si se tienen en las muestras el glifosato y su derivado el AMPA.

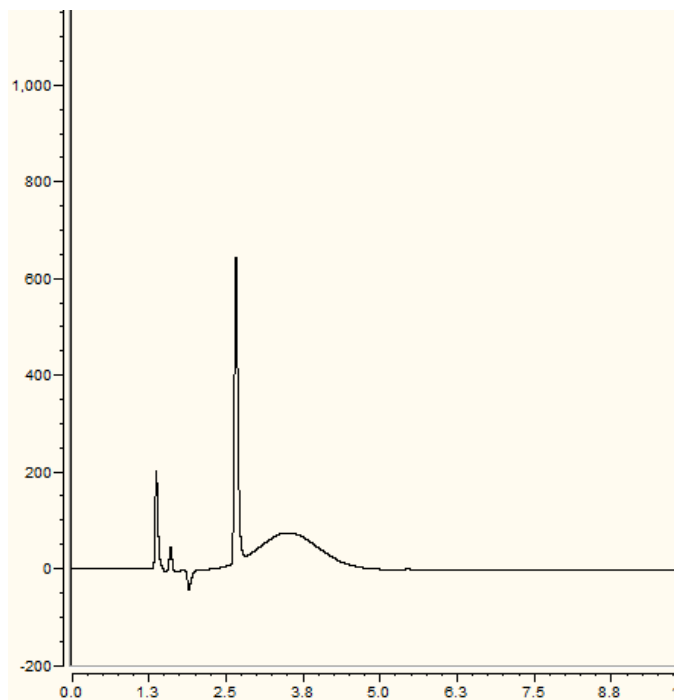


Figura 18 Cromatograma de muestra de agua

9.5 ANÁLISIS DE GLIFOSATO Y AMPA EN HPLC

Se llevo a cabo en métodos utilizando un HPLC marca UltiMate 3000 con una columna de fase reversa Perkin Elmer Quasar C18 250x4.6mm 5 μ m, este tipo de columna nos ayuda bastante con los compuestos que nos interesaba ver ya derivados que fue el glifosato y el AMPA.

Se ejecutó el cálculo del límite de detección instrumental de nuestros compuestos permitiéndonos definir como la concentración del elemento que producirá un cociente del ruido de 3. Este cálculo nos considera la amplitud de la señal y el ruido de la línea de fondo utilizando la siguiente formula, tomando en consideración que se corrieron 5 veces el blanco, el cual es el diluyente y derivatizante sin el analito de interés.

$$Y_{LOD} = (\text{Señal promedio del blanco } \bar{Y}_s) + 3(\text{Desviación estándar del blanco})$$



Glifosato: $Y_{LOD}=0.09$

AMPA: $Y_{LOD}=0.11$

Se efectuó de igual forma el límite de cuantificación de los dos compuestos siendo este un método para detectar y cuantificar la cantidad mínima de nuestro analito de interés en la muestra.

Glifosato: $Y_{LOC}=0.27$

AMPA: $Y_{LOC}=0.33$

Utilizando la misma metodología para realizar la curva de calibración antes descrita se analizaron las muestras de la misma forma con la derivatización anteriormente efectuada y se introdujeron al HPLC al momento de realizar esta lectura logramos observar que no notamos una diferencia notable entre las zonas que se muestrearon y entre las dos profundidades, por lo que se decidió el promediar todas estas mediciones y tener un valor de la cantidad de glifosato y AMPA en partes por millón (ppm) ya que la norma lo especifica de este modo

En la tabla 2 se observa un resumen de los datos obtenidos, siendo un promedio por mes de muestreo.

Tabla 2 Concentraciones de glifosato y AMPA por mes de muestreo

MES DE ANÁLISIS	CONCENTRACIÓN GLIFOSATO mg/L	CONCENTRACIÓN AMPA mg/L
SEPTIEMBRE	0.286±0.07	0.375±0.02
NOVIEMBRE	1.018±0.5	1.133±0.5



FEBRERO	26.660±0.4	32.651±0.7
MARZO	11.225±0.7	9.052±0.4
ABRIL	16.442±0.5	20.717±0.3
MAYO	10.244±0.5	8.236±0.5

Como se puede observar en la tabla 2 se tienen datos muy variables ya que los en la temporada de invierno y encontramos una concentración baja que no llega a superar lo establecido en la Agencia de Protección Ambiental de USA el cual es de 0.7ppm, no se considera ninguna norma mexicana ya que aún no llegamos a que se establezca esta norma, solo se incentivó la disminución del uso de este plaguicida, pero nada en concreto por el momento.

En febrero se observó un aumento muy considerable de concentración, aumentando más de 20 veces lo presentado en los meses anteriores, el cual podemos atribuir que puede ser que empiece la siembra y como es un plaguicida de alto espectro ayuda bastante a limpiar el terreno antes de empezar a sembrar.

Siendo de interés el cuantificar estos compuestos ya que como se mencionó anteriormente este parque recreativo es muy utilizado por gente de la zona, en donde se podría llegar a consumir pescado que habita en la laguna, al igual que nadar en este lugar.

Con el contacto constante de la gente se tiene que determinar la cantidad de plaguicidas que se tiene, ya que estos compuestos pueden ser un posible cancerígeno, además algunos estudios han sugerido una asociación entre la exposición al glifosato y problemas de salud como trastornos endocrinos, daño hepático, alteraciones en el sistema reproductivo y alteración del microbioma intestinal, siendo la comunidad más sensible los agricultores, niños y mujeres



embarazadas por lo que se debe de tener un cuidado en la cantidad que se utiliza y en donde se hacen estas actividades recreativas.

9.6 ANÁLISIS DE METALES Y METALOIDES POR TXRF

Se realizó de una manera muy sencilla se tomaron alícuotas de 995 μ L de agua acidificada con ácido clorhídrico (HCl) para tener un pH de 2, esta agua se mezcla con 5 μ L de un estándar de selenio, siendo el estándar de este elemento ya que no es de nuestro interés en las muestras, por lo que se decide algo que no queremos contabilizar ni se empalma esa señal con las señales de los elementos de interés, siendo los elementos de interés los metales y metaloides que podrían llegar a ser tóxicos.

Cada una de las muestras de agua paso por el procedimiento del estándar y se localiza una gota de 10 μ L en el disco de cuarzo siendo este centrado para un adecuado análisis, se lleva a sequedad por completo para que ya no lleguemos a tener agua ni acido en la muestra después de esto se introducen al equipo y se realiza un análisis de 300s por muestra.

Todas las muestras pasaron por este proceso sin lograr tener una diferencia entre los cuadrantes y las dos profundidades del muestreo, por lo que se realizaron tablas por mes donde podemos observar la concentración en partes por millón, la desviación estándar en mg/L, desviación estándar relativa y el límite de detección en mg/L.

Al momento de efectuar este análisis se obtiene un espectro donde podemos observar los elementos encontrados, ya que para cada señal ya se tiene una base de datos para identificar el elemento obtenido, como se observa en la figura 19.

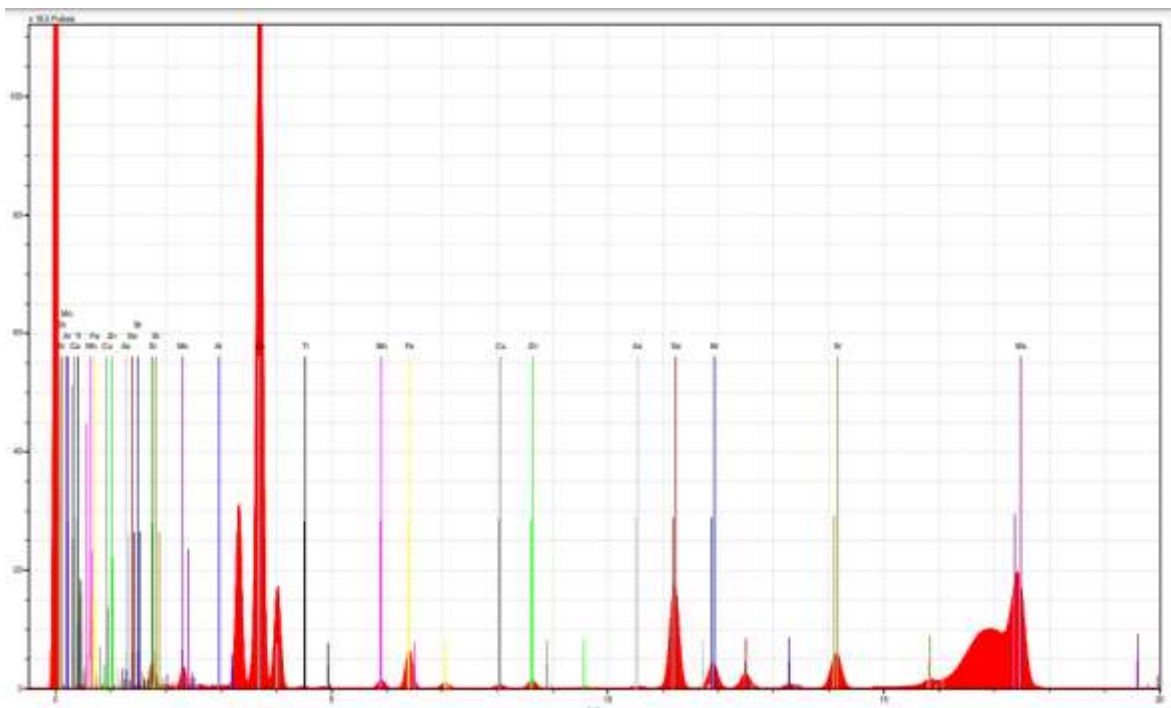


Figura 19 Espectro de metales y metaloides por TXRF

Siendo este espectro obtenido con cada una de las muestras, pero se realizaron tablas por mes para poder observar cómo se comporta y ver si los límites obtenidos son menores o mayores a los establecidos por la NOM-127-SSA1-2021, como se observa en las tablas siguientes, de la 3 a la 9.

Tabla 3 Concentraciones del mes de septiembre

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	22.648	0.073	0.3	0.042
Ca	60.660	0.110	0.2	0.030
Fe	29.023	0.040	0.1	0.006
Zn	0.522	0.003	0.6	0.002
As	0.159	0.002	0.5	0.003
Se (IS)	5.000	0.009	0.2	0.003



Tabla 4 Concentraciones del mes de noviembre

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	11.505	0.045	0.4	0.033
Ca	81.600	0.11	0.2	0.02
Fe	14.406	0.023	0.2	0.004
Zn	0.7985	0.003	0.3	0.002
As	0.0600	0.002	0.3	0.001
Se (IS)	5.000	0.009	0.2	0.002

Tabla 5 Concentraciones del mes de febrero

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	15.637	0.058	0.4	0.027
Ca	26.183	0.066	0.2	0.018
Fe	0.6935	0.005	0.6	0.002
Zn	0.2360	0.002	0.8	0.001
As	0.0620	0.002	0.6	0.001
Se (IS)	5.00	0.009	0.2	0.002

Tabla 6 Concentraciones del mes de marzo

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	18.167	0.064	0.4	0.025
Ca	15.127	0.049	0.3	0.016
Fe	0.733	0.005	0.7	0.002



Zn	0.329	0.003	0.7	0.001
As	0.085	0.002	0.7	0.001
Se (IS)	5.000	0.009	0.2	0.002

Tabla 7 Concentraciones del mes de abril

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	9.077	0.031	0.3	0.014
Ca	10.254	0.026	0.2	0.009
Fe	0.187	0.002	0.9	0.002
Zn	0.123	0.0031	0.8	0.001
As	0.223	0.002	0.4	0.001
Se (IS)	5.000	0.005	0.2	0.001

Tabla 8 Concentraciones del mes de mayo

Elemento	conc. / mg/l	Desviación estándar mg/l	Desviación Estándar Relativa %	Límite de Detección mg/l
K	25.144	0.079	0.3	0.031
Ca	21.282	0.061	0.3	0.02
Fe	0.811	0.005	0.6	0.003
Zn	0.183	0.002	1	0.002
As	0.263	0.01	0.2	0.002
Se (IS)	5.000	0.005	0.2	0.002

Los niveles altos que se llegan a encontrar de Calcio fueron recurrentemente mayores a lo establecido en la NOM-127-SSA1-1994, como se puede observar en los meses de análisis de las tablas anteriores. Podemos adjudicar estas



concentraciones tan altas a la agricultura que se llega a encontrar alrededor de la lagunita ya que muchos fertilizantes llegan a contener calcio como lo es el Nitrato de Calcio el cual es un fertilizante soluble en agua, es el fertilizante más usado como fuente de Calcio, aporta 24.88% de CaO. Este compuesto se puede disolver hasta 1,100 gramos por litro de agua.

Se observan niveles constantes de potasio siendo estos mayores en septiembre y mayo. Es posible que esta concentración por los compuestos que se llegan a agregar a la tierra, siendo necesario este elemento para el crecimiento de la planta y bastante utilizado en la industria agropecuaria, uno de los más conocidos es el cloruro de potasio es un fertilizante que por su alta concentración. Por lo que dicho fertilizante es la fuente de aporte de potasio más económica para la mayoría de los cultivos y por ello uno de los más utilizados.

El hierro es uno de los elementos que se encuentra arriba de lo establecido por la norma ya que lo aceptado por esta es de 0.3 ppm teniendo hasta 29 ppm en el mes de septiembre y se observa un descenso en los siguientes meses muestreados como si ya se estuviera degradando lo aplicado, algunos de los compuestos que se llegan a agregar a la tierra y podrían ser los causantes de estas concentraciones que aunque la planta llegue a necesitar poco, no está limitado su uso como lo es del quelato de hierro es un fertilizante que previene y cura la deficiencia de hierro y sus manifestaciones.

Un elemento encontrado que si llega a ser de alto riesgo para el ser humano es el arsénico que lo llegamos a encontrar en el mes de septiembre con 0.159ppm, el mes de abril con 0.223ppm y el mes de mayo con 0.263ppm, teniendo un límite permisible según la norma citada en la introducción de 0.05ppm.

Dichos valores nos indican que los valores encontrados ~5 veces por encima de la normativa oficial. Una potencial fuente de origen de este elemento en nuestro cuerpo de agua es por las escorrentías de agua subterránea, algunos fertilizantes y



enmiendas del suelo pueden contener niveles significativos de arsénico. Esto puede deberse a la presencia natural de arsénico en los minerales utilizados para fabricar los productos se puede llegar a contaminar durante el proceso de fabricación. De igual manera en el pasado, se han utilizado plaguicidas a base de arsénico, como el arseniato de plomo, en la agricultura. Aunque su uso ha sido restringido en muchos países, todavía puede haber acumulación residual de arsénico en algunos suelos agrícolas donde se utilizaron estos plaguicidas en el pasado y como ultimo el arsénico puede estar presente naturalmente en el suelo y en el agua subterránea. La erosión de rocas y minerales ricos en arsénico puede liberar este elemento en el suelo como también llevo a observarse en algunos estudios de metales de la zona se llegaron a encontrar de igual manera arsénico.

La exposición al arsénico, ya sea a través de la inhalación, ingestión o contacto con la piel, puede tener varios efectos secundarios. Algunos de los efectos más comunes del envenenamiento por arsénico incluyen:

- Problemas gastrointestinales.
- Daño en los órganos.
- Problemas cutáneos.
- Trastornos neurológicos.
- Problemas respiratorios
- Cáncer:

Los efectos secundarios del arsénico pueden variar dependiendo de la dosis, la duración de la exposición y la vía de ingreso al organismo. La intoxicación aguda por arsénico puede ser potencialmente mortal, mientras que la exposición crónica a niveles bajos puede provocar problemas de salud a largo plazo (Ramirez, 2013).



10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El glifosato es un plaguicida ampliamente utilizado en la agricultura y puede contaminar los cuerpos de agua a través de la escorrentía de los campos tratados con este compuesto.

La lagunita es un centro recreativo que en conclusión con este proyecto tiene concentraciones 30 veces mayor a lo establecido por la U.S. EPA en glifosato y AMPA, lo cual se debe de tener en consideración ya que este centro tiene un flujo de gente recurrente que llega a pescar o nadar en la zona por lo que el contacto recurrente con este plaguicida, al igual que su consumo es dañino para la salud, desde una irritación de la piel y ojos por la exposición directa del compuesto, recomendando utilizar equipo de protección adecuado para su manipulación, de igual manera se recomienda no nadar en la zona para no tener contacto con este plaguicida ni una posible ingesta de este.

El glifosato puede llegar a resultar problemas más graves, como lo son problemas respiratorios ya que al inhalarse afecta este sistema, al igual que puede tener trastornos gastrointestinales ya se por su ingesta accidental o el consumo de alimentos contaminados con este herbicida, por lo que no se recomienda la pesca en la zona. Algunos estudios han planteado la posibilidad de que puede afectar el equilibrio hormonal, ya que puede perturbar vías metabólicas y por último podría ser un potencial carcinogénico, por lo que se recomienda utilizarlo en la dosis adecuada ya que no se tienen más estudios al respecto.

Por otro lado, el arsénico es un metaloide tóxico que puede encontrarse en el suelo de manera natural, así como por actividades antropogénicas como la minería y procesos industriales en general.



Las concentraciones determinadas en este proyecto superan hasta en 5 veces lo establecido por la norma NOM-127-SSA1-1994, por lo que se deben de realizar mas estudios para poder determinar de donde proviene este aumentó.

La combinación de glifosato y arsénico en agua puede potencialmente aumentar los efectos tóxicos de ambas sustancias. Sin embargo, es importante destacar que los efectos dependen de la concentración y duración de la exposición, así como de otros factores ambientales y de salud.

En cualquier caso, la presencia de glifosato y arsénico en el agua es motivo de preocupación y se deben tomar medidas adecuadas para evitar la contaminación y proteger la salud humana y el medio ambiente.

Se recomienda crear campañas informativas sobre el glifosato AMPA y arsénico entre los locales del área de estudio. Asimismo, fomentar campañas de prevención para minimizar el contacto de los pobladores con este tipo de sustancias nocivas para la salud y el medio ambiente.



11. REFERENCIAS

- Alcántara-de la Cruz, R., Cruz-Hipólito, H. E., Domínguez-Valenzuela, J. A., & de Prado, R. (2021). Glyphosate ban in Mexico: potential impacts on agriculture and weed management. *Pest Management Science*, 77(9), 3820–3831. <https://doi.org/10.1002/ps.6362>
- Anderson, T. A., Salice, C. J., Erickson, R. A., McMurry, S. T., Cox, S. B., & Smith, L. M. (2013). Effects of landuse and precipitation on pesticides and water quality in playa lakes of the southern high plains. *Chemosphere*, 92(1), 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.054>
- Badii, M. H., & Landeros, J. (n.d.). *CULCyT//Toxicología de Plaguicidas Culto que afectan a la salud humana y la sustentabilidad*.
- Bejarano González, F., Aguilera Márquez, D., David Álvarez, J., Eliakym, S., Meraz, A., Aguilar, O. A., de Jesús, P., Bastidas, B., de Los, V., Beltrán, A., Héctor, C., Bernardino Hernández, U., Betancourt, M., Carlos, L., Calderón Vázquez, L., Castillo, J., María, C., Carmen, D., Olmos, C., ... Pa, R. A. (n.d.). *Los Plaguicidas Altamente Peligrosos en México*. www.pmrMexico.org.mx
- By Kelly L. Smalling, J. L. O. D. C. W. A. B. and K. M. K. S. 707U. S. D. of the InteriorU. S. G. S. (2009). *Occurrence of Pesticides in Water and Sediment Collected from Amphibian Habitats Located Throughout the*.
- Ding, Y., Harwood, A. D., Foslund, H. M., & Lydy, M. J. (2010). Distribution and toxicity of sediment-associated pesticides in urban and agricultural waterways from Illinois, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1), 149–157. <https://doi.org/10.1002/etc.13>
- Feltracco, M., Barbaro, E., Morabito, E., Zangrando, R., Piazza, R., Barbante, C., & Gambaro, A. (2022). Assessing glyphosate in water, marine particulate matter, and sediments in the Lagoon of Venice. *Environmental*



Science and Pollution Research, 29(11), 16383–16391.

<https://doi.org/10.1007/s11356-021-16957-x>

- Garcia Hernandez Jaime Alonso. (2018). *ESTADO DEL ARTE DE LOS CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES (COP) EN COLOMBIA ENTRE LOS AÑOS 2007-2017 JAIME ALONSO GARCÍA HERNÁNDEZ Monografía para optar por el título de Licenciado en Química.*
- Guyton, K. Z., Loomis, D., Grosse, Y., el Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Scoccianti, C., Mattock, H., Straif, K., Blair, A., Fritschi, L., McLaughlin, J., Sergi, C. M., Calaf, G. M., le Curieux, F., Baldi, I., Forastiere, F., Kromhout, H., 't Mannetje, A., ... Zeise, L. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16(5), 490–491.
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8)
- Hernández Sierra, R., García Luzón, D., & Romero Zepeda, H. (2021). Uso del glifosato en México. *Revista Iberoamericana de Bioética*, 17.
<https://doi.org/10.14422/rib.i17.y2021.007>
- Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Review Article. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. In *Interdisciplinary Toxicology* (Vol. 9, Issues 3–4, pp. 90–100). Slovak Toxicology Society. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>
- Manuel Sánchez, J., Ettiene, G., & Rivas, Z. (n.d.). Determinación de glifosato en muestras de agua en la Cuenca del Río Catatumbo. In *Edificio ICLAM*.
- M.C. Rivera. (2014). *Organophosphorus pesticide in shrimps, sediments and surface water from bay of Ohara*.
<https://www.researchgate.net/publication/286073797>
- Model, K. J., Sampaio, S. C., Remor, M. B., Mercante, E., & Vilas Boas, M. A. (2018). Organoclorated and organophosphorus pesticides in the Pelotas



River sediment. *Engenharia Agricola*, 38(1), 124–134.

<https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v38n1p124-134/2018>

- Mulla, S. I., Ameen, F., Talwar, M. P., Eqani, S. A. M. A. S., Bharagava, R. N., Saxena, G., Tallur, P. N., & Ninnekar, H. Z. (2020). Organophosphate Pesticides: Impact on Environment, Toxicity, and Their Degradation. In *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety* (pp. 265–290). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_13
- Musa, S., Gichuki, J. W., Raburu, P. O., & Aura, C. M. (2011). Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in water and sediment from Yala/Nzoia River within Lake Victoria Basin, Kenya. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 3(12), 392–399. <http://www.academicjournals.org/JENE>
- Nuevo, ", De, M., Del, D., Jordán, E. L., Luis, J., & Paz, L. (2011). *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE GANDIA CIENCIAS AMBIENTALES*.
- OMS. (2019). *Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación 2019*. <http://apps.who.int/bookorders>.
- Reynoso, E. C., Peña, R. D., Reyes, D., Chavarin-Pineda, Y., Palchetti, I., & Torres, E. (2020). Determination of glyphosate in water from a rural locality in México and its implications for the population based on water consumption and use habits. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(19), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijerph17197102>
- Ronco, A. E., Marino, D. J. G., Abelando, M., Almada, P., & Apartin, C. D. (2016). Water quality of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5467-0>



- SAGARPA. (2016). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP*.
- Sánchez-Osorio, J. L., Macías-Zamora, J. V., Ramírez-Álvarez, N., & Bidleman, T. F. (2017). Organochlorine pesticides in residential soils and sediments within two main agricultural areas of northwest Mexico: Concentrations, enantiomer compositions and potential sources. *Chemosphere*, 173, 275–287.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.010>
- SEMARNAT, Arroyo, A. M., & Gavilán García, A. (n.d.). *DIAGNÓSTICO SOBRE LA CONTAMINACIÓN POR PLAGUICIDAS EN AGUA SUPERFICIAL, AGUA SUBTERRÁNEA Y SUELO*.
<https://www.gob.mx/inecc>
- Yarto, M., Gavilán, A., & Barrera, J. (n.d.). *EL CONVENIO DE ESTOCOLMO 7 El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus*
- Alcántara-de la Cruz, R., Cruz-Hipolito, H. E., Domínguez-Valenzuela, J. A., & de Prado, R. (2021). Glyphosate ban in Mexico: potential impacts on agriculture and weed management. *Pest Management Science*, 77(9), 3820–3831. <https://doi.org/10.1002/ps.6362>