



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA LA  
DETECCIÓN Y CUATIFICACIÓN DE BENOMYL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA

KAREN HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

DIRECTORES:

DRA. VERÓNICA ISIDRA DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ

MIPA LILIANA HERNÁNDEZ ACOSTA

VILLAHERMOSA, TABASCO NOVIEMBRE 2022.

# Método Analítico Por Espectrofotometría Uv-Vis Para La Detección Y Cuatificación De Benomyl

Por KAREN HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

---

CANTIDAD DE PALABRAS 11147

HORA DE ENTREGA

27-JUN-2025 09:24A. M.

NÚMERO DE  
IDENTIFICACIÓN DEL  
TRABAJO

116952513

# Método Analítico Por Espectrofotometría Uv-Vis Para La Detección Y Cuatificación De Benomyl

INFORME DE ORIGINALIDAD

# 15%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet	137 palabras — 2%
2	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	132 palabras — 2%
3	<a href="http://www.eurachem.org">www.eurachem.org</a> Internet	85 palabras — 1%
4	<a href="http://www.repositorio.usac.edu.gt">www.repositorio.usac.edu.gt</a> Internet	82 palabras — 1%
5	<a href="http://mriuc.bc.uc.edu.ve">mriuc.bc.uc.edu.ve</a> Internet	80 palabras — 1%
6	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Internet	56 palabras — 1%
7	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet	56 palabras — 1%
8	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet	45 palabras — 1%
9	<a href="http://repositorio.unp.edu.pe">repositorio.unp.edu.pe</a> Internet	39 palabras — < 1%
10	<a href="http://prezi.com">prezi.com</a> Internet	28 palabras — < 1%

11	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Internet	27 palabras — < 1%
12	<a href="http://eprints.ucm.es">eprints.ucm.es</a> Internet	26 palabras — < 1%
13	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Internet	26 palabras — < 1%
14	<a href="http://repositorioinstitucional.uaslp.mx">repositorioinstitucional.uaslp.mx</a> Internet	24 palabras — < 1%
15	<a href="http://1library.co">1library.co</a> Internet	23 palabras — < 1%
16	<a href="http://accedacris.ulpgc.es">accedacris.ulpgc.es</a> Internet	22 palabras — < 1%
17	<a href="http://repositorio.unan.edu.ni">repositorio.unan.edu.ni</a> Internet	21 palabras — < 1%
18	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec">www.dspace.uce.edu.ec</a> Internet	21 palabras — < 1%
19	<a href="http://rid.unam.edu.ar">rid.unam.edu.ar</a> Internet	20 palabras — < 1%
20	<a href="http://bibliotecadigital.univalle.edu.co">bibliotecadigital.univalle.edu.co</a> Internet	18 palabras — < 1%
21	<a href="http://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a> Internet	17 palabras — < 1%
22	<a href="http://www.slideshare.net">www.slideshare.net</a> Internet	17 palabras — < 1%
23	<a href="http://kipdf.com">kipdf.com</a> Internet	15 palabras — < 1%

24	Soria Sánchez, M <sup>a</sup> Luisa. VALIDACIÓN DE MÉTODOS. ASPECTOS GENERALES Publicaciones	14 palabras — < 1%
25	repository.ucc.edu.co Internet	14 palabras — < 1%
26	www.dgeti.sep.gob.mx Internet	14 palabras — < 1%
27	archive.org Internet	13 palabras — < 1%
28	repositorio.utp.edu.co Internet	13 palabras — < 1%
29	biblioteca.usac.edu.gt Internet	12 palabras — < 1%
30	www.cadex.org Internet	12 palabras — < 1%
31	www.zaragoza.unam.mx Internet	12 palabras — < 1%
32	SILVIA BEATRIZ VISCIGLIO. "Desarrollo de metodologías alternativas para el análisis de fungicidas benzimidazólicos en matrices cítricas", 'Universitat Politècnica de Valencia', 2015 Internet	11 palabras — < 1%
33	repositorio.uis.edu.co Internet	11 palabras — < 1%
34	ri.ujat.mx Internet	11 palabras — < 1%
35	www.argentina.travel Internet	11 palabras — < 1%

11 palabras — < 1%

36 [creativecommons.org](https://creativecommons.org)  
Internet

10 palabras — < 1%

37 [doczz.es](https://doczz.es)  
Internet

10 palabras — < 1%

38 [dspace.ups.edu.ec](https://dspace.ups.edu.ec)  
Internet

10 palabras — < 1%

39 [ebin.pub](https://ebin.pub)  
Internet

10 palabras — < 1%

40 [ia902804.us.archive.org](https://ia902804.us.archive.org)  
Internet

10 palabras — < 1%

41 [repositorio.imta.mx](https://repositorio.imta.mx)  
Internet

10 palabras — < 1%

42 [repositorio.ual.es:8080](https://repositorio.ual.es:8080)  
Internet

10 palabras — < 1%

43 [repositorio.ug.edu.ec](https://repositorio.ug.edu.ec)  
Internet

10 palabras — < 1%

44 [repositorio.upct.es](https://repositorio.upct.es)  
Internet

10 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 10 PALABRAS



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



PRECURSOR DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

OCTUBRE 28 DE 2022

**C. KAREN HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ**  
**PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL**  
**P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA LA DETECCIÓN Y CUATIFICACIÓN DE BENOMYL"**, asesorado por Dra. Verónica Isidra Domínguez y M.I.P.A. Liliana Hernández Acosta sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la Dra. Liliana Pampillón González, M.I.P.A. Augusto Escobar Márquez, Dra. Verónica Isidra Domínguez, M.E.S. Wencio Magaña Magaña y M. en C. Deysi del Carmen Marín García.

**A T E N T A M E N T E**  
**ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

  
**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
Archivo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

### CARTA AUTORIZACIÓN

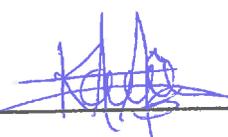
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **"MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS PARA LA DETECCIÓN Y CUATIFICACIÓN DE BENOMYL"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 28 de Octubre de Dos Mil Veintidós.

**AUTORIZO**



---

**KAREN HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. JUSTIFICACIÓN.....	8
3. MARCO TEÓRICO.....	9
3.1. Plaguicidas.....	9
3.2. Fungicidas.....	10
3.3. Benomyl.....	11
3.4. Espectrofotometría ultravioleta-visible (uv-vis).....	12
3.5. Espectrofotómetro.....	12
3.5.1. Región espectral.....	13
3.5.2. Ley de Beer.....	14
3.6. Validación de un método analítico.....	14
Blancos.....	16
Muestras de rutina.....	16
Soluciones/material fortificado.....	16
Materiales dopados.....	16
Patrones de medida.....	16
Materiales de referencia (MR).....	16
Materiales de referencia certificados (MRC).....	16
Estadística.....	16
3.6.1. Parámetros de validación.....	17
4. ANTECEDENTES.....	21
5. OBJETIVOS.....	23
5.1. General.....	23
5.2. Específicos.....	23
6. METODOLOGÍA.....	24
6.1. Identificación de las características químicas del analito y toxicológicas (identificación espectral).....	25
6.2. Identificación de herramientas de validación.....	25
6.3. Experimentación.....	26
6.4. Equipos y materiales.....	27
6.5. Preparación de las curvas de calibración.....	29
6.6. Evaluación estadística de la correlación entre curvas.....	29

6.7.	Redacción del procedimiento .....	29
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
7.1.	Confirmación de identidad .....	30
7.2.	Evaluación de las curvas de calibración.....	30
7.2.1.	Evaluación varianza y normalidad de curvas.....	30
7.2.2.	Determinación del modelo líneal.....	31
7.3.	Selectividad del método .....	33
7.4.	Evaluación de los parámetros de validación para el método desarrollado .....	34
7.5.	Procedimiento del método desarrollado .....	36
8.	CONCLUSIONES.....	44
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45
	ANEXOS .....	51
	<i>ANEXO 1. Certificado del reactivo Benomyl.....</i>	<i>51</i>
	<i>ANEXO 2. Certificado de especificaciones del espectrómetro UV-Vis.....</i>	<i>52</i>
	<i>ANEXO 3. Especificaciones sobre los matraces volumétricos. ....</i>	<i>53</i>
	<i>ANEXO 4. Fórmulas aplicadas.....</i>	<i>54</i>

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Herramientas de validación del método analítico .....	16
Cuadro 2. Resumen estadístico del modelo lineal para el método de benomyl. ...	32
Cuadro 3. Resultados de concentración de muestras fortificadas tomadas de diferentes cuerpos de agua. ....	34
Cuadro 4. Resultado de los parámetros de validación. ....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación espectrofotométrica del benomyl.....	11
Figura 2. Procedimiento general para la elaboración del método de validación para identificación de benomyl.....	24
Figura 3. Procedimiento de la fase experimental del método analítico .....	26
Figura 4. Frasco de reactivo y espectrofotograma generado en el equipo.....	27
Figura 5. Material de cristalería utilizado en la preparación de curvas.....	27
Figura 6. Balanza analítica utilizada para el pesaje del reactivo utilizado en el método.....	28
Figura 7. Parrilla de calentamiento y equipo ultrasónico. ....	28
Figura 8. Espectrofotómetro uv-vis utilizado en el experimento. ....	28
Figura 9. Soluciones a diferentes concentraciones listas para su lectura. ....	29
Figura 10. Espectro de absorción del benomyl en la región ultravioleta medido a 20 mg-1.l.....	30
Figura 11. Correlación de las curvas de calibración para la verificación del método. ....	32
Figura 12. Espectro de absorción a tres diferentes concentraciones para verificar la selectividad en las absorciones a 282 nm. ....	33

## 1. INTRODUCCIÓN

Tabasco se encuentra dentro de los principales estados productores de plátano en el país, junto con Chiapas, Veracruz, Colima y Jalisco, quienes aportan más del 80% de la producción nacional. Debido al impacto económico-social que tiene la producción de esta fruta en México, es de suma importancia conocer cómo funciona el mercado de este producto, es decir, identificar los factores que influyen en la oferta y demanda de transmisión de precios en los diferentes niveles del área comercial (García-Mata *et al.*, 2013).

En los últimos cincuenta años, una de las enfermedades foliares más limitantes en la producción de plátano es la Sigatoka Negra (SN) (Barrera, Barraza, y Campo, 2016). El patógeno causante de la enfermedad es un hongo ascomiceto llamado *Mycosphaerella fijiensis* (Hidalgo, Tapia, Rodríguez, y Serrano, 2006), el cuál ataca sobre las hojas, produciendo un deterioro rápido del área foliar, lo que causa la afectación en el crecimiento total de la planta y la maduración prematura del fruto (Rodríguez-Gaviria y Cayón, 2008).

En la actualidad, para el combate y control de ésta y de muchas otras más enfermedades básicamente en las regiones bananeras del país, es necesaria la dependencia en el uso de productos químicos, principalmente fungicidas (Orozco-Santos, Farías-Larios, Manzo-Sánchez, y Guzmán-González, 2002). Existen de dos tipos, protectores y sistémicos. La eficacia del uso de fungicidas sistémicos para el control de las distintas enfermedades en cultivos no solo se determina por la actividad tóxica del ingrediente activo, sino también por las propiedades fisicoquímicas de las moléculas en las hojas de las plantas (Pérez, 2006).

Estos productos químicos son utilizados principalmente por la actividad agrícola, lo que corresponde aproximadamente al 85% de la producción mundial, cuyo fin es controlar las diversas plagas que afectan las cosechas de los agricultores (Ramírez y Lacasaña, 2001).

---

---

El ambiente es quien sufre los estragos del consumo desmedido e inconsciente de los plaguicidas, ya que es quien se encuentra expuesto, todo a partir de la actividad en el campo. Aproximadamente el 47% del producto que se aplica es depositado en el suelo y estos se filtran hasta llegar a cuerpos de agua colindantes, o bien se dispersan en la atmosfera (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Comúnmente los plaguicidas para su venta y distribución se identifican de acuerdo a la acción que buscan realizar, podemos encontrar; insecticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, etc. Dentro de los fungicidas sistémicos, vamos a observar los benzimidazoles, los cuales son mayormente utilizados en la actividad agrícola para la protección de hortalizas y frutos (Dangond y Guerrero, 2006). El uso inadecuado de estos productos, provoca que los alimentos cosechados contengan algunos de sus residuos. Por lo tanto es necesario analizar el riesgo que estos productos representan para el ambiente y la salud de quienes lo consumen (Dangond y Guerrero, 2006).

Uno de los principales compuestos de la familia de benzimidazoles es el Benomyl o Benomilo (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato). Es un plaguicida estable en medio seco y muy persistente en el ambiente. Tiene la capacidad de fijarse en el suelo y en las superficies de los frutos. El benomyl es poco soluble en agua a un pH 5 y temperatura de 25 °C, esto es 3.8 mg/L. Su tiempo de vida media es de 2 horas en agua y 19 en suelo. En medio acuoso, se descompone, en un metabolito de nombre Carbendazima (Ibarz, Garvín, Pagán, y Ibarz, 2015). (Hershberger *et al.*, 1993).

En el estado de Tabasco, este fungicida es utilizado para control de diversas enfermedades fúngicas en cultivos de plátano, es por eso que es de suma importancia contar con un método práctico, confiable y económicamente viable para la identificación y cuantificación de este agroquímico.

Existen diversos métodos analíticos que permiten a las personas evaluar la concentración de plaguicidas en diferentes matrices, estos ofrecen información que

---

---

los usuarios pueden comparar y a la vez utilizar para diagnosticar algún tipo de contaminación y los efectos que ésta pueda acarrear a los seres vivos. Comúnmente los métodos analíticos se llevan a cabo utilizando equipos costosos, poco accesibles y con personal especializado para la operación y mantenimiento; tratando de aportar en la propuesta de un método basado en los principios de espectrofotometría se propuso este proyecto.

El objetivo principal de este experimento fue el establecimiento de un procedimiento que permita determinar la concentración del plaguicida benomyl en muestras de agua o lixiviado, usando la espectrofotometría Ultravioleta Visible (UV-Vis), posteriormente se estableció y validó el método analítico, para verificar que sea un método reproducible y útil. Además, es un método económico, y el compromiso con el ambiente se verá reflejado, ya que se evitará la generación de residuos químicos (solventes principalmente).

---

---

## 2. JUSTIFICACIÓN

Para el control de las plagas que atacan a los diversos cultivos, se requieren de múltiples aplicaciones (Martínez-Bolaños *et al.*, 2012). El uso inadecuado y el pobre conocimiento acerca de las buenas prácticas agrícolas, ocasionan una problemática para salud no solo en humanos, sino en otro tipo de especies y al ambiente. (Dangond y Guerrero, 2006). Los plaguicidas son capaces de entrar en contacto con el agua por medio de lluvias o escorrentías superficiales, por lixiviación, y/o erosión. Esta agua a su vez fluye cuesta abajo, en donde fácilmente se conecta con depósitos de aguas subterráneas, y que al transportarse a través del suelo pueden fácilmente terminar su curso en sedimentos y grandes cuerpos de agua como los océanos (Criswell, 1999).

Altas concentraciones de plaguicidas se acumulan en los ecosistemas acuáticos, los cuales son hábitat de muchas especies, sus efectos les ocasiona la muerte o bien afecta su demanda nutricional como los insectos; lo que se puede traducir en pérdidas considerables en la actividad pesquera (Pimentel, 2005). Con el paso del tiempo podríamos ver esta problemática en aumento, y por otro lado, daños ecológicos en especies de aves y mamíferos. Un ejemplo de distribución y lixiviación de los residuos de plaguicidas pueden ser las aguas subterráneas, el consumo de agua en pozos profundos. Hoy en día gran población humana obtiene agua de pozos profundos (Pimentel, 2005).

Se estima que el número de decesos de personas con exposición directa a plaguicidas es bajo, pero, cabe resaltar que en su mayoría estos productos no actúan de manera inmediata sobre el organismo, esto quiere decir que actúan con una toxicidad crónica, en la mayoría de los casos (Amparán-Salido, Téllez, y Navarro, 2003).

Este proyecto diseñó un método analítico, que permite conocer la concentración del fungicida Benomyl en un medio acuoso, usando una espectrofotometría en la región ultravioleta. Podemos considerar que es de bajo costo, con un nivel de confiabilidad

---

---

alto y sobre todo amigable con el ambiente, ya que se utilizará agua como disolvente para llevarlo a cabo. Se conocerá la concentración del plaguicida en aquellas muestras colectadas de cuerpos de agua cercanos a las zonas de cultivo en donde es aplicado el producto. La sencillez y facilidad para aplicar el método, lo convierten en un procedimiento práctico.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1. Plaguicidas**

Según la Food and Agriculture Organization (FAO), en el artículo segundo del *Código Internacional de Conducta sobre la Distribución y Uso de Plaguicidas*: un plaguicida es aquella sustancia que tienen como objetivo prevenir, abatir o mitigar plagas causantes de alguna enfermedad, incluyendo los agentes de enfermedades humanas o de animales; especies no deseadas de organismos capaces de ocasionar algún tipo de daño o que entorpezcan los procedimientos para la producción, el transporte o la comercialización de alimentos. Este término también engloba a aquellas sustancias que son utilizadas como reguladoras o inhibidoras del crecimiento de las plantas, evitando la reducción o caída prematura de la fruta, y aquellos compuestos aplicados a las cosechas antes y después del corte, para mantener protegido el producto de cualquier problema que pueda ocasionar la pérdida de la fruta” ((FAO) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2006).

Los plaguicidas originalmente son el resultado de una síntesis química a nivel industrial, y según reportes después de terminada la Segunda Guerra Mundial, gracias al desarrollo de la industria química, estas sustancias se tornaron como figura dominante del combate de plagas (Karam, Ramírez, Bustamante, y Galván, 2004).

---

---

### 3.2. Fungicidas

De acuerdo a Quevedo (2012) un fungicida es un agente para destruir organismos de la familia de los hongos. Es decir, cualquier sustancia química usadas en la destrucción y curación de aquellas enfermedades que son causadas por hongos fitopatógenos. Menciona que el fungicida debe tener como característica, el controlar de manera eficaz la enfermedad que se está combatiendo, a su vez no debe ser tóxico usando las concentraciones recomendadas ni impactar de manera negativa áreas ajenas a la zona de cultivo (Quevedo, 2012).

En el estado de Tabasco las aplicaciones por año de fungicidas van de 48 a 52, aunque cabe señalar que el riesgo de desarrollo de resistencia del patógeno a estas sustancias químicas es cada vez más alto (Martínez-Bolaños *et al.*, 2012).

Gracias al uso de fungicidas sistémicos y protectores en distintos tipos de soluciones y suspensiones, se ha logrado un buen manejo químico y control de la Sigatoka Negra, una de las principales enfermedades foliares de los cultivos de plátano principalmente (Pérez, 2006).

Los fungicidas sistémicos actúan obstaculizando el crecimiento del agente causante de la enfermedad, después del inicio de esta. Este agroquímico protege el sistema de la planta, es decir, penetra en el sistema circulatorio del cultivo, actuando como una vacuna para este (Alfonso y Sandoval, 2008).

Dentro de este tipo de sustancias químicas se encuentran los benzimidazoles, las cuales son aplicadas al suelo de manera directa o bien a los cultivos. Son compuestos que pueden persistir por varios años en el ambiente después de que son aplicados. Compuestos principales de la familia de los benzimidazoles y los más utilizados son, el benomyl, carbendazim, tiabendazol y fuberidazol (López, Vega, Torres, Sosa, y Santana, 2007).

---

### 3.3. Benomyl

El Benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) o Benomilo es uno de los fungicidas de mayor uso en el mundo, utilizado principalmente en la agricultura para el control de las diversas enfermedades fungosas (Bergl6f, Van Dung, Kylim, y Nilsson, 2002).

Esta sustancia en estado puro se presenta de forma s6lida, de color blanco y cristalina, poco soluble en agua y aceites, mientras que en algunos solventes su solubilidad es mayor. Su persistencia en el medio ambiente es de largo tiempo, la degradaci6n de los microorganismos es muy d6bil (Gim6nez, 1989)

El espectro de absorpci6n del benomyl en donde se encuentra la mayor concentraci6n del analito, se da entre las longitudes de onda de 250 a 310 nan6metros (nm), en donde pueden verse picos bien definidos entre este intervalo de longitudes de onda (Figura 1) (Ibarz et al., 2015).

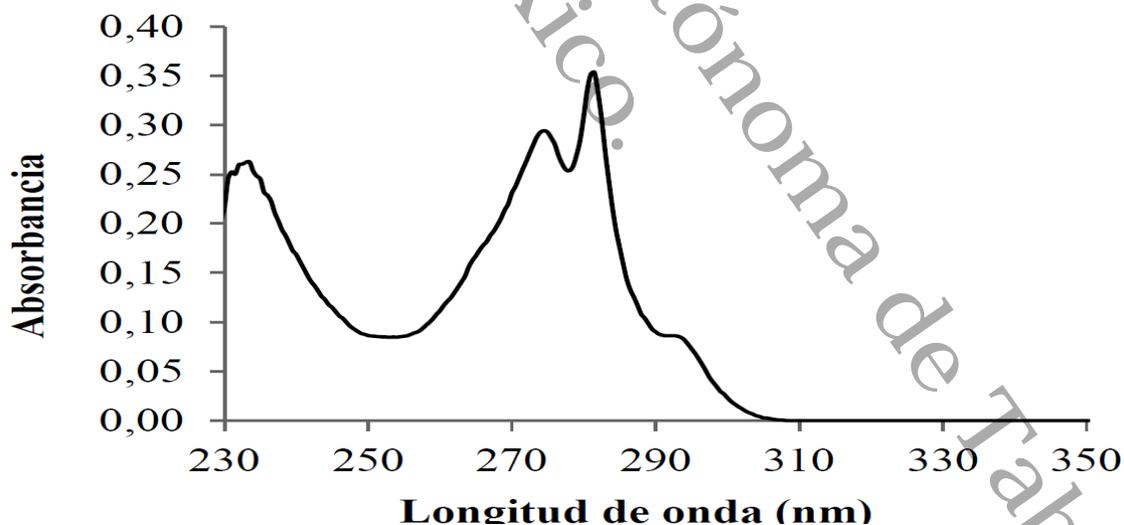


Figura 1. Representaci6n espectrofotom6trica del benomyl. Fuente: Ibarz et al., 2015

El benomyl se degrada aproximadamente de tres a cuatro horas en suelo y alrededor de tres d6as en soluci6n acuosa, en condiciones anaerobias (California

---

---

Environmental Protection Agency, 1999); mientras tanto en soluciones a condiciones aerobias su vida media consta de alrededor dos horas (Hershberger *et al.*, 1993). Se considera una sustancia estable en medios secos, sin embargo, en medios acuosos, se descompone rápidamente, dando lugar a un metabolito primario, la carbendazima o carbendazim (CAZ) (Ibarz *et al.*, 2015).

### **3.4. Espectrofotometría ultravioleta-visible (uv-vis)**

Debido a la creciente demanda por encontrar tecnologías para monitorear los lixiviados en el suelo, los especialistas se han visto en la necesidad de buscar herramientas que presenten una serie de características que favorezcan su uso en los análisis químicos de rutina, entre las cuales se pueden mencionar: bajo costo, elevada velocidad analítica, herramienta amigable con el ambiente y no destructiva (Pérez-Portuondo, Aguilera-Rodríguez, Casals-Hung, Ábalos- Rodríguez, y Pérez-Silva, 2013; Rodríguez, García, y Fajardo, 2016).

La espectrofotometría UV-VIS se enfoca principalmente en la representación de la variación de la absorbancia con respecto a las distintas longitudes de onda (Pérez-Portuondo *et al.*, 2013), las interacciones de la radiación ultravioleta con la muestra, en donde, la base de esta es la absorción de radiación electromagnética, en un rango de longitud de onda que va desde 200 a 400 nanómetros (nm), en donde la energía que existe en forma de luz ultravioleta y visible es absorbida por aquellas moléculas formadas por electrones  $\pi$  o electrones no enlazantes, en donde los electrones se excitan a orbitales antiadherentes superiores (Rodríguez *et al.*, 2016). Cuanto más excitados estén los electrones, la longitud de onda de luz que puedan absorber también será mayor (Kulkarni, Warhade, y Bahekar, 2014).

### **3.5. Espectrofotómetro**

Diversos componentes ópticos se han combinado de manera distinta para poder elaborar dos tipos diferentes de instrumentos capaces de medir absorbancia. Estos son el espectrómetro, el cual es un instrumento espectroscópico que requiere de un monocromador o policromador, para que en conjunto con un transductor

---

---

transformen las intensidades radiantes en señales eléctricas. Por otra parte, los espectrofotómetros son equipos espectrómetros que hacen posible la medición de la relación entre la energía de radiación de dos haces de luz, los cuales son básicos para la medición precisa de la absorbancia. La mayoría de los espectrofotómetros abarcan la región ultravioleta visible y en algunos casos llega a cubrir la región infrarroja (Skoog, West, Holler, y Crouch, 2014).

Skoog *et al.*, 2014, mencionan que los instrumentos espectroscópicos en su mayoría, están compuestos por 5 elementos primordiales:

1. Una fuente estable de energía radiante.
2. Un seleccionador de longitud de onda para aislar una región limitada del espectro.
3. Contenedores para la muestra.
4. Detector de radiación capaz de convertir la energía de radiación en señal eléctrica.
5. Un tipo de hardware electrónico o computadora que procese la lectura.

### **3.5.1. Región espectral**

La región ultravioleta (UV) es un lapso de frecuencias que va más allá de la región visible, donde, *ultra* significa más allá, y *violeta* hace referencia a la luz visible con frecuencia más elevada (Wade, 2011). La luz podría explicarse como el conjunto de radiaciones que se mueven libremente por todo el espacio. La luz visible es aquella que nuestro ojo puede detectar, aunque la mayoría es invisible para nosotros (Arenas y López, 2004).

La unidad de medida en la que están dadas las longitudes de onda en la región UV, es en nanómetros (nm;  $10^{-9}$  m). Los espectrofotómetros ultravioleta más comunes trabajan con longitudes de onda de entre 200 a 400 nm. Las longitudes de onda de la luz UV que son absorbidas por las moléculas, se determinan mediante la diferencia de energía generada entre los orbitales y las moléculas (Wade, 2011).

---

---

Un espectro de absorción es la representación gráfica de la absorbancia con respecto a una longitud de onda. Actualmente los espectrofotómetros modernos de barrido, producen de manera directa este tipo de espectros (Skoog *et al.*, 2014). Este es obtenido cuando la absorción de la luz se mide en función de una longitud (Arenas y López, 2004).

### **3.5.2. Ley de Beer**

Ley de la absorción o simplemente Ley de Beer, indica cuantitativamente como la cantidad de atenuación de la radiación (P) depende de la concentración de las moléculas absorbentes (c) y de la longitud de la trayectoria que recorre el rayo en el medio donde ocurre la absorción (b). Al tiempo que la luz pasa a través del medio que contiene el analito absorbente (Po), la intensidad de esta disminuye ya que el analito es excitado (Lavariega, 2018; Skoog *et al.*, 2014).

### **3.6. Validación de un método analítico**

La validación consiste en la confirmación a través de examen y el aporte de evidencias objetivas, en donde se cumplen los requisitos particulares de una actividad, es decir, se asegura que una actividad es capaz de cumplir el fin hacia la cual esta va orientada (NMX-EC-17025-IMNC-2006).

Validar un método es el proceso para especificar algún requisito analítico, y garantizar, que este, cuente con las capacidades correspondientes a las aplicaciones y que proporcione calidad en sus resultados (Magnusson *et al.*, 2014).

Para la demostración o representación de resultados es necesario realizar los estudios o ensayos de laboratorio correspondientes, lo que se conoce como parámetros de validación. Igualmente es importante el uso de equipos que cumplan ciertas especificaciones como: buen funcionamiento y calibración adecuada. Es fundamental que el analista cuente con los conocimientos suficientes acerca del trabajo que se está llevando a cabo, con el objetivo de que este sea capaz de tomar decisiones correctas durante la realización de los

---

---

ensayos (Eurachem, 1998).

La validación es un balance entre: costos de operación, riesgos durante el proceso y posibilidades técnicas. El laboratorio debe tener un excelente desempeño, sin dejar a un lado limitaciones que se pueden presentar durante el proceso, los requisitos legales, las experiencias y aquellas herramientas con las que tiene acceso, por eso se le considera parte fundamental del proceso de validación (Magnusson *et al.*, 2014). Araujo 2009, explica que, para poder validar un método, al menos se deben cumplir cinco pasos distintos importantes, dentro de los cuales se encuentran: requisitos del sistema, muestreo, preparación, análisis y evaluación de datos (cuadro 1).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Cuadro 1. Herramientas de validación del método analítico (Magnusson et al., 2014).

HERRAMIENTAS DE VALIDACIÓN	CARACTERÍSTICAS
Blancos	Blancos de reactivos: son analizados por separado, esto con el fin de comprobar que tanto contribuyen o no a la señal de medición. Blancos de muestra: son básicamente muestra matriz sin contenido de analito.
Muestras de rutina	Proporcionan información sobre aquellas interferencias que podrían suscitarse diariamente durante el trabajo.
Soluciones/material fortificado	Aquellas soluciones o materiales en donde el analito fue adicionado con valores de concentración conocidos.
Materiales dopados	El analito de interés ha sido introducido a toda la muestra en alguna de las etapas previas al muestreo y el cual puede ser totalmente ajeno.
Patrones de medida	Las sustancias son empleadas con fines de identificación o calibración.
Materiales de referencia (MR)	Está relacionado con cualquier material que es empleado como valor de referencia, este puede ser un reactivo del laboratorio de pureza conocida, productos químicos u otros tipos de dispositivos.
Materiales de referencia certificados (MRC)	La caracterización del o los parámetros de interés, generalmente se controlan de manera más rigurosa que en el caso de los MR.
Estadística	Son de suma importancia y esenciales para clasificar todos los datos obtenidos de las pruebas analíticas y poder realizar un análisis de datos obtenidos.

---

---

### 3.6.1. Parámetros de validación

El laboratorio es quien tiene la facultad de decidir los parámetros que serán investigados con detalle para implementarlos. Estos parámetros o características se determinarán durante la fase de desarrollo e implementación del método. (Magnusson *et al.*, 2014).

Se determinarán y evaluarán los siguientes parámetros, de acuerdo a los resultados obtenidos durante la identificación del analito.

**Selectividad:** La selectividad analítica está relacionada con el grado en el que un método es capaz de poder ser utilizado en la determinación de analitos particulares en mezclas, sin que estos presenten interferencia por la presencia de otros componentes con comportamiento similar (Magnusson *et al.*, 2014).

**Exactitud:** Expresa aquella proximidad que existe entre un resultado único con un valor de referencia dado. Se busca cuantificar aquella exactitud que se obtiene en los resultados, evaluando tanto los efectos sistemáticos como los aleatorios sobre aquellos resultados individuales. La exactitud es estudiada en dos elementos: la veracidad y la precisión (Eurachem, 1998).

**Veracidad:** Es la proximidad de concordancia existente entre el valor promedio que se obtiene como resultado de toda aquella serie grande de resultados y un valor de referencia real (Eurachem, 1998).

Ya que no es posible llevar a cabo un número muy grande de repeticiones en las mediciones, se considera que la veracidad no se puede realizar. Sin embargo, es posible hacer una evaluación práctica de este parámetro. Comúnmente esta evaluación se expresa de manera cuantitativa en términos de 'sesgo' (anexo 4) (Magnusson *et al.*, 2014; CENAM, 2008).

---

---

**Precisión:** La precisión se determina para circunstancias específicas, las cuales ya en la práctica suelen ser diversas (Eurachem, 1998). Este parámetro es una medida que hace énfasis a cuán cerca están los resultados obtenidos entre sí. La precisión depende de la concentración del analito (Magnusson *et al.*, 2014).

Para identificar este parámetro en los procesos analíticos, se deben realizar repetidas mediciones, a la vez que poner en práctica distintos conceptos fundamentales de estadística como el cálculo de la media ( $\bar{X}$ ), la desviación estándar (DE), la desviación estándar relativa (DER), coeficiente de variación (%CV) y la varianza ( $s^2$ ) (CENAM, 2008).

Las medidas de precisión más empleadas son la repetitividad y la reproducibilidad. Estas medidas deben determinarse a distintas concentraciones y de ser necesario, se establece una relación entre precisión y concentración del analito (Eurachem, 1998).

**Incertidumbre de medida:** La incertidumbre de medida es un parámetro único ligado a un resultado de medida, el cual expresa el intervalo de valores que, de manera lógica podrían atribuirse a la cantidad que se está midiendo. Ésta en general, comprende de muchos componentes. Varios de ellos se evalúan a partir de aquella distribución estadística de resultados obtenidos de un conjunto de mediciones y que posteriormente son identificados mediante desviaciones estándar experimentales (Eurachem, 1998).

De acuerdo al Vocabulario Internacional de Metrología, VIM (2012), define incertidumbre como aquel parámetro no negativo que da alusión a la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando. Este parámetro incluye componentes asociados a correcciones y a aquellos valores asociados a patrones de medida (Comité Conjunto para las Guías en Metrología (JCGM), 2012).

Para la cuantificación de la incertidumbre se distinguen dos métodos: *método de evaluación tipo A*, el cual se trata de un análisis estadístico de una serie de mediciones repetidas, las cuales se obtienen del mismo proceso de medición; y el

---

---

*método de evaluación tipo B* comprende todas las demás formas de estimar este parámetro, esto se refiere a una distribución de acuerdo a la experiencia o aquella información externa al metrologo (Schmid y Lazos, 2004).

**Robustez:** Este parámetro en un procedimiento analítico, el cual se refiere a la medida de la capacidad que este tiene para no verse afectado por aquellas variaciones pequeñas, pero premeditadas en los parámetros del método. La robustez aporta una indicación de la confiabilidad del método durante su uso normal (Magnusson *et al.*, 2014).

**Límite de detección (LOD):** El límite de detección (LOD) nos permite saber cuál es la concentración mínima del analito que puede ser detectada con un equipo de medida y que esta sea de confiabilidad. El LOD debe entonces basarse en aquellos análisis de muestras que hayan sido sometidas a todo el proceso de medición y en donde se obtuvieron datos o resultados que fueron calculados mediante la misma fórmula utilizada para las muestras de ensayo (Magnusson *et al.*, 2014).

**Límite de cuantificación (LOQ):** Este se refiere a aquella concentración más baja del analito que puede ser obtenida con una precisión y exactitud aceptables, en condiciones de la prueba bien definidas. Es considerado como una característica de desempeño que señala la habilidad para cuantificar de manera correcta un analito en un proceso de medición química (Eurachem, 1998). El LOQ se calcula de acuerdo a la concentración del analito, esto es, su desviación estándar obtenida ( $\sigma$ ) a niveles bajos, multiplicada esta por un factor dado,  $k_Q$ . Este valor para  $k_Q$  según la IUPAC, es 10 (Magnusson *et al.*, 2014).

**Intervalo lineal o linealidad:** Linealidad está definida por aquella habilidad que presenta un método para obtener resultados de las pruebas, proporcionales a la concentración del analito. Esto es, aquel intervalo de concentraciones o valores de las disoluciones medidas, en donde podría existir una respuesta lineal, y con esto, la señal de respuesta estaría relacionada linealmente con la concentración del analito (Eurachem, 1998).

---

---

Para poder obtener el intervalo lineal, debemos tener en cuenta el intervalo de trabajo, que está definido como aquel intervalo en el cual el método proporciona resultados con incertidumbre aceptable. Existen dos intervalos de trabajo: a) el intervalo de trabajo del método, el cual se relaciona con la concentración de la muestra de laboratorio; y, el intervalo de trabajo del instrumento, que está definido en términos de la concentración de una muestra de ensayo procesada mostrada al instrumento para poder ser medida (Magnusson *et al.*, 2014).

**Porcentaje de recuperación (%R):** Es muy importante evaluar la eficiencia de un método analítico, esto para que todo el analito presente en la muestra analizada pueda ser detectable. Por lo tanto, el porcentaje de recuperación (%R) hace referencia a aquella fracción de analito agregada a una muestra previa al análisis en donde este es determinado efectivamente por el método. Este parámetro se calcula con la fórmula propuesta por Eurachem (Anexo 4).

---

---

#### 4. ANTECEDENTES

Se han establecido distintos métodos analíticos para la determinación y cuantificación de diversos tipos de plaguicidas, utilizando a su vez varias tecnologías, que con el paso del tiempo se han visto modernizadas.

Molina, (2012) evaluó una metodología analítica aplicada en vegetales para determinar y cuantificar residuos de plaguicidas benzimidazoles, específicamente benomyl y carbendazim, en vinos. Señala que el benomyl al ser un poco inestable, fue convertido a carbendazim, para luego ser cuantificado. Dicha cuantificación fue expresada como CAZ. Para la evaluación del pico y confirmación de analito, Molina observó el tiempo de retención, así como el espectro de absorción. Concluyó que el método es exacto para la determinación de residuos de benomyl y carbendazim en vinos. Cumplidos los parámetros de validación, se consideró un método confiable, la mayor absorbancia de carbendazim a 286 nanómetros (nm).

Mallat, Barceló y Tauler, (1997) estudiaron la degradación de benomyl y carbendazim en distintos tipos de disolventes, mediante el uso de varias tecnologías, dentro de las cuales se encuentran la extracción en fase sólida en línea (SPE), cromatografía líquida (LC), y la espectrofotometría UV. Como resultado del estudio de la estabilidad del benomyl se obtuvieron el espectro y sus perfiles de concentración. Las longitudes de onda con mayor absorbancia de los compuestos oscilaron entre los 200 y 320 nanómetros (nm).

Mallat et al., (1997) señala que las tasas de degradación del benomyl son altas cuando este se disuelve en metanol y agua, mientras que cuando este es disuelto en acetonitrilo su estabilidad aumenta.

Ibarz et al., (2015) aplicaron un tratamiento fotoquímico con radiación UV para eliminar benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) en una solución acuosa a pH=4. Estudiaron el mecanismo de fotodegradación y el efecto del hidrolisis que este analito experimenta. Para la obtención del espectro de absorción realizaron un barrido de longitudes de onda entre 200 y 600 nm. En el

---

---

espectro de absorción obtenido se observaron entre las longitudes de onda de 250 a 310 nanómetros (nm) valores apreciables de absorción, en donde se identificaron dos picos máximos dentro de este intervalo, uno de 274.5 nm y el otro de 281.5 nm.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

---

---

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. General

Establecer un método analítico por Espectrofotometría UV Visible, para la detección y cuantificación de Benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) en agua.

### 5.2. Específicos

- ✓ Identificar la longitud de onda de mayor absorción para la confirmación de la identidad del analito a diferentes concentraciones.
- ✓ Determinar los parámetros aplicables para validación del método analítico de Benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) en agua.
- ✓ Desarrollar un procedimiento con base a los resultados obtenidos.

## 6. METODOLOGÍA

Descripción general de la metodología seguida durante este proyecto (figura 2)

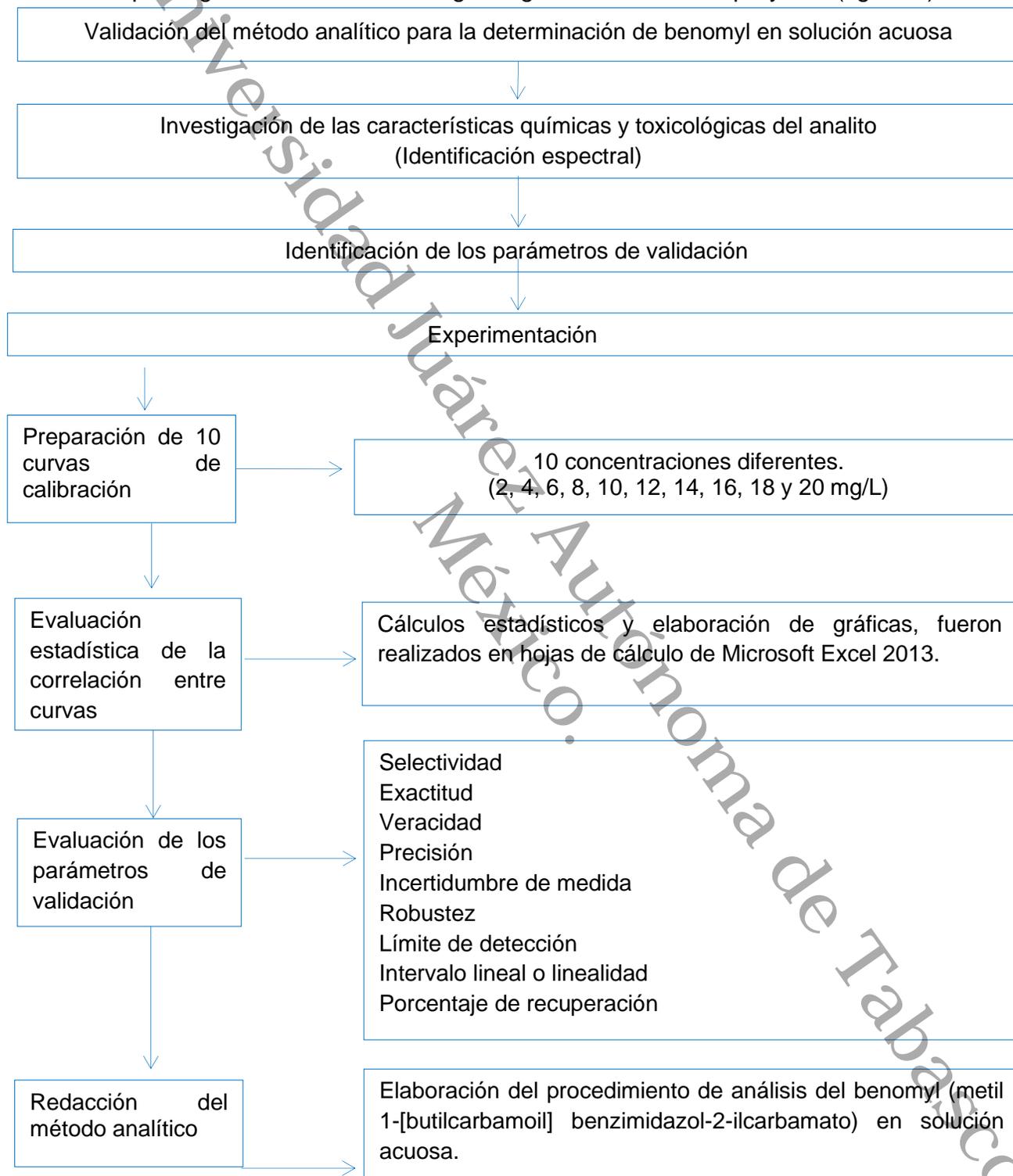


Figura 2. Procedimiento general para la elaboración del método de validación para identificación de Benomyl.

---

---

### **6.1. Identificación de las características químicas del analito y toxicológicas (identificación espectral)**

Las características del analito Benomyl tanto químicas como toxicológicas, fueron obtenidas por medio de investigaciones divulgadas a través de artículos científicos en su mayoría, pero también se logró obtener información de otros trabajos de tesis de distintos grados.

A partir del estándar sólido de benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato), con lote # 0006492443, CAS-No. 17804-35-2, y masa molar de 290.0 g/mol marca Agilent presentación de vial con 10 mg. Se realizó la medición de un espectro del analito a evaluar, esto con la ayuda de un espectrofotómetro de la marca Genesys 6. A partir de una dilución en agua desionizada. Y el tratamiento del reactivo tal como se tratarían las muestras. Se determinó la longitud de onda a la que el Benomyl es absorbido y con esto se logró confirmar su identidad.

### **6.2. Identificación de herramientas de validación**

Para lograr la validación del método, necesitamos de herramientas que harán posible lo antes mencionado. Para esto, nos fundamos en la “Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos - La guía de laboratorio para validación de métodos y temas relacionados (Magnusson et al., 2014) (Eurachem, 1998)”; también fue de gran apoyo la Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2006, ya que esta hace referencia a los lineamientos que deben cumplir los laboratorios en cuanto a la realización de ensayos y calibraciones que se realizan, utilizando métodos normalizados, métodos no normalizados o métodos desarrollados por el propio laboratorio.

### 6.3. Experimentación

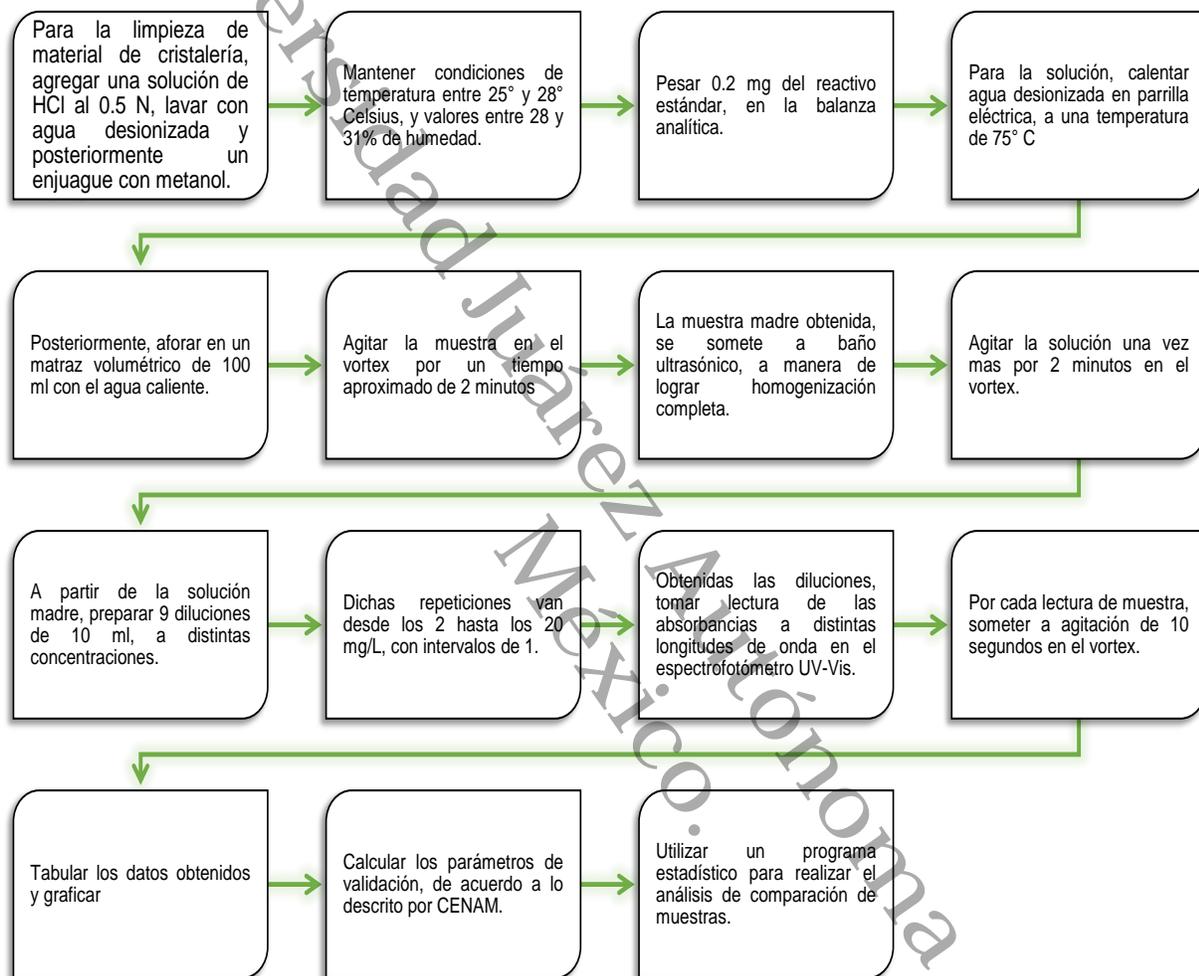


Figura 3. Procedimiento de la fase experimental del método analítico

---

## 6.4. Equipos y materiales

Para llevar a cabo la etapa experimental del proyecto, se utilizó como analito (figura 4) el Benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) en estado sólido, de la casa comercial Agilent, con lote # 0006492443, CAS-No. 17804-35-2, y masa molar de 290.0 g/mol, el cual existe en el laboratorio donde se llevó a cabo todas las pruebas (Anexo 1).



Figura 4. Frasco de reactivo y espectrofotograma generado en el equipo.

Para el desarrollo del proceso se utilizaron matraces volumétricos de grado analítico tipo "A" de 10 ml (Anexo 2) para las soluciones, y pipetas de vidrio graduadas de 1 ml y 10 ml. Todos estos materiales se lavaron con ácido clorhídrico al 0.5 N, por al menos una hora, posteriormente fueron enjuagados con agua desionizada quitándoles el excedente de ácido, para finalmente enjuagarse con metanol de 99.8 % de pureza grado reactivo (Figura 5).



Figura 5. Material de cristalería utilizado en la preparación de curvas.

---

En el pesado del reactivo estandar de benomyl se uso para pesar la Balanza analitica Marca METTER TOLEDO modelo AB204-S. Es importante tomar en cuenta durante esta actividad los porcentajes de humedad ambientales, en este caso se trabajó con un promedio de 31% (figura 6).



*Figura 6. Balanza analítica utilizada para el pesaje del reactivo utilizado en el método.*

Para realizar el calentamiento del agua desionizada se ocupó una parrilla marca CIMAREC, modelo No. SP131325 (figura 7), este calentamiento promueve la disolución del reactivo con mayor eficiencia. El equipo ultrasónico marca BRANSON modelo 2800 fue ocupado para realizar una mayor extracción, y homogenización de las muestras.



*Figura 7. Parrilla de calentamiento y equipo ultrasónico.*

El Espectrofotómetro UV-Vis (figura 8), en el cual se llevó a cabo la medición de las absorbancias registradas para cada una de las concentraciones preparadas en las curvas de calibración. Este equipo es de la marca Thermo científico modelo Genesys 10S (Anexo 3).



*Figura 8. Espectrofotómetro UV-Vis utilizado en el experimento.*

---

## 6.5. Preparación de las curvas de calibración

Para realizar la correcta validación de método diseñado, se establecieron las curvas de calibración a 10 puntos. Las concentraciones van desde los 2 hasta los 20 mg/L con intervalos de uno. Esta cantidad de repeticiones y puntos nos permite identificar y calcular los parámetros de validación (figura 9).



Figura 9. Soluciones a diferentes concentraciones listas para su lectura.

## 6.6. Evaluación estadística de la correlación entre curvas

Se realizó un comparativo entre las curvas realizadas, para posteriormente identificar aquellas con mayor semejanza, se analizó la correlación que existe entre las absorbancias y las concentraciones, a una longitud de onda de 282 nanómetros. La correlación entre ellas se realizó mediante el uso del programa *statgraphics* usando el análisis estadístico de comparación de muestras y regresión lineal para asegurar la variación de resultados entre una curva, así como graficas de dispersión.

## 6.7. Redacción del procedimiento

Se realizó la redacción del procedimiento del método analítico propuesto y validado para analizar benomyl en muestras de agua.

---

---

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Confirmación de identidad

Por medio del barrido espectral a cada una de las diluciones realizadas, se logró la confirmación de identidad del analito. Al realizar las pruebas de identidad del Benomyl se encontraron máximas de absorción a 282 y 284 nm (Figura 10). El pico seleccionado fue 282 nm ya que se demostró que la mayor absorción en la región UV ocurrió ahí; así como también este tenía mayor selectividad.

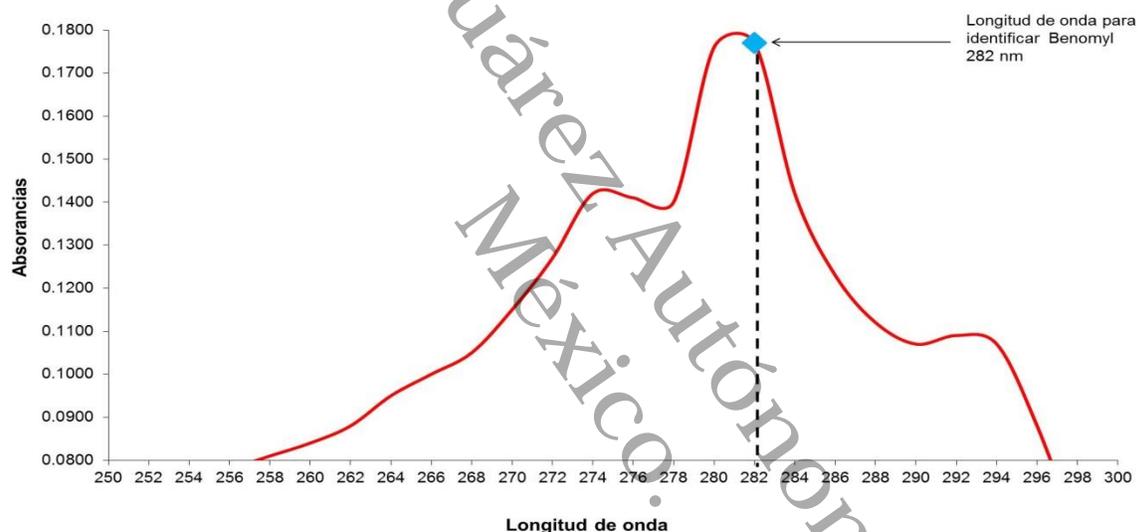


Figura 10. Espectro de absorción del Benomyl en la región ultravioleta medido a 20 mg-1.L

### 7.2. Evaluación de las curvas de calibración

#### 7.2.1. Evaluación varianza y normalidad de curvas

El estadístico evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de ABSORBANCIAS dentro de cada uno de los 8 niveles de CONCENTRACION DE BENOMYL es la misma. Puesto que el valor-P (0.9580) es mayor que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

---

### 7.2.2. Determinación del modelo lineal

Con los datos de absorbancia obtenidos en las siete curvas de calibración se generó un modelo lineal para el cálculo de la concentración del benomyl en solución acuosa.

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo lineal para describir la relación entre las absorbancias y concentración. La ecuación del modelo ajustado es:

$$Abs = -0.05294 + 0.01166 * [C]$$

Por lo cual, para el cálculo de la concentración la fórmula quedaría de la siguiente manera:

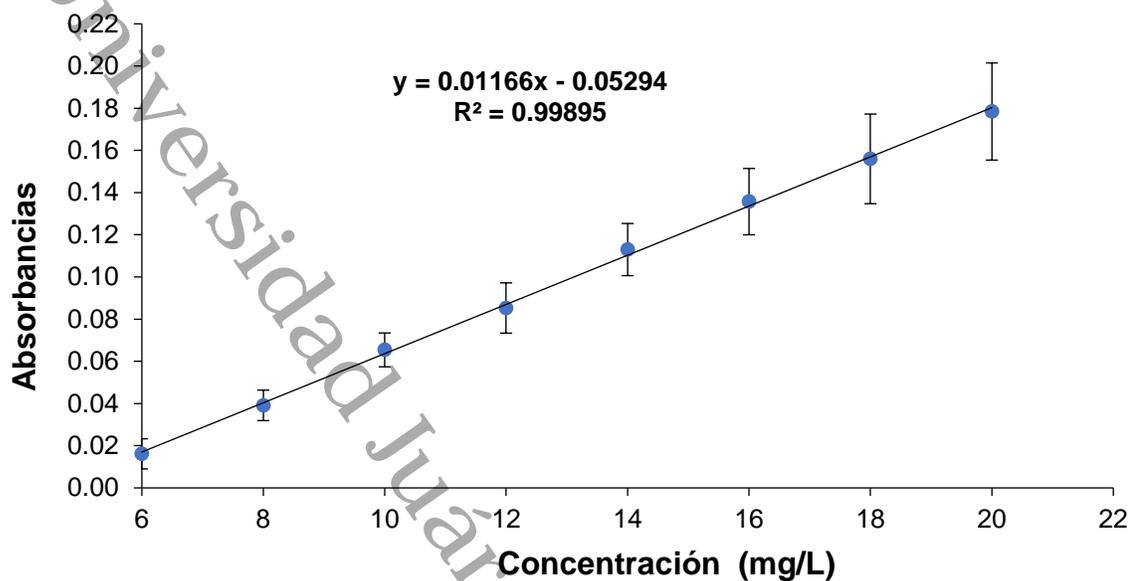
$$[C] = \frac{(Abs + 0.05294)}{(0.01166)}$$

Donde:

[C]= Concentración de la muestra.

Abs= Absorbancia obtenida en el espectrofotómetro

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo ajustado explica 99.89% de la variabilidad en las absorbancias. El coeficiente de correlación es igual a 0.99947 (Cuadro 2), indicando una relación relativamente fuerte entre las variables. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00200. Este valor puede usarse para construir límites de predicción. Para este análisis estadístico también el valor (-P) es menor que 0.05, lo que indica una correlación serial con un nivel de confianza del 95.0% (Figura 11). En este análisis estadístico, se hizo la comparación con los datos de concentración, obteniendo el promedio de los mismos y generando la ecuación general.



Cuadro 2. Resumen estadístico del modelo lineal para el método de benomyl.

Figura 11. Correlación de las curvas de calibración para la verificación del método.

Evaluación estadística	Valor
Coefficiente de Correlación	0.99947
R-cuadrada	99.894 %
R-cuadrado ajustada	99.877 %
Error estándar	0.00200
Error absoluto medio	0.00163

---

### 7.3. Selectividad del método

Este parámetro en el método proporciona respuestas para una serie de entidades que pueden o no distinguirse entre sí. Es decir, con esto comprobamos que el analito se hace presente en la misma longitud de onda. Se evaluó el pico, en donde la máxima absorción ocurrió a los 282 nm, y con esto se confirmó la presencia del analito en solución acuosa (figura 12).

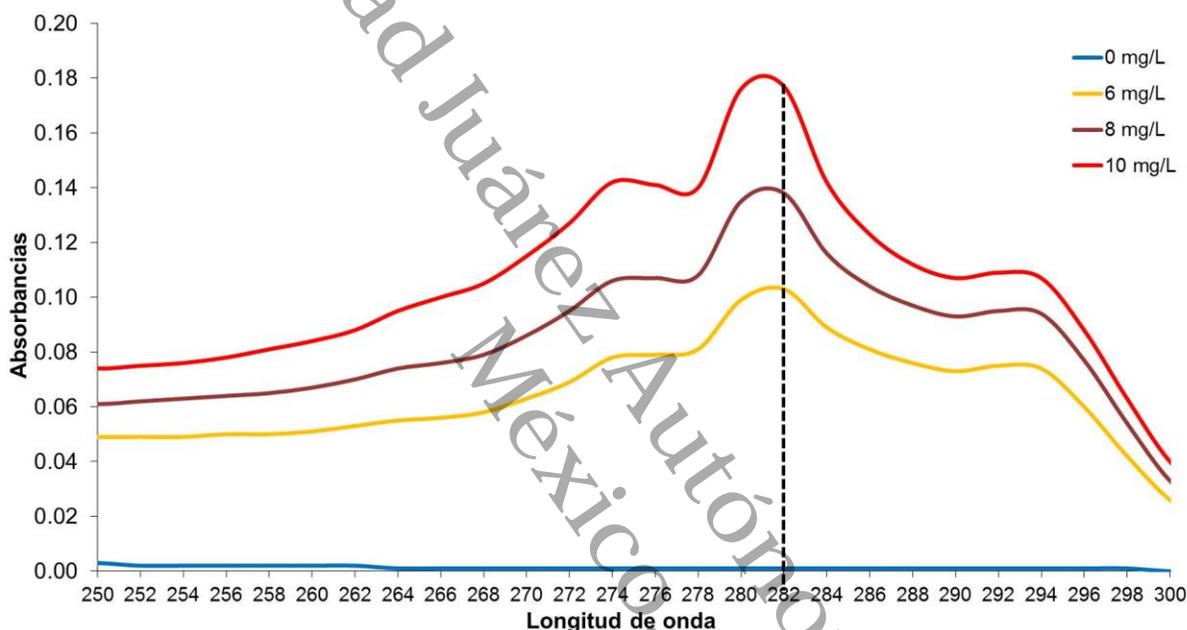


Figura 12. Espectro de absorción a tres diferentes concentraciones para verificar la selectividad en las absorciones a 282 nm.

Se tomaron diferentes tipos de muestras de agua, para validar el parámetro de repetitividad y selectividad del método. Se adicionó una concentración conocida del analito evaluado y posteriormente, estas muestras fueron sometidas al proceso de extracción de Benomyl. Se llevaron a cabo lecturas en el equipo espectrofotómetro a una longitud de onda de 282 nm, los resultados se utilizaron para calcular las concentraciones, tomando en cuenta la ecuación generada en el método. Los resultados obtenidos de las diferentes muestras, se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de concentración de muestras fortificadas tomadas de diferentes cuerpos de agua.

ID Muestra	Concentración (mg/L)*
Rio	24.52
Arroyo	19.20
Pozo artesano	25.55
Laguna	12.77
Jagüey	20.23

\*Concentración estimada con el modelo generado.

#### 7.4. Evaluación de los parámetros de validación para el método desarrollado

Los datos obtenidos nos representan la proximidad que existe entre los resultados de pruebas a un valor de referencia o estadístico. Guerrero y Herrera (2016) reportaron los resultados encontrados de los residuos de plaguicidas en tomates los cuales van de 1 a 2.4%, en este caso el método presenta un error relativo de 4.72% por la suma de los errores sistemáticos provenientes de aquellos instrumentos de medición utilizados durante la etapa experimental y errores técnicos. Este resultado nos permitió conocer la recuperación del plaguicida y pudimos comprobar que el error no afectó de manera significativa el resultado. Con este resultado podríamos decir que la exactitud del método es aceptable.

El LOD (límite de detección) obtenido en este método fue de 0.017 mg/L el cual de acuerdo a lo descrito en la Guía EURACHEM es considerado como aceptable. Por su parte Domínguez (2015) en su trabajo de identificación de Etilentiourea (ETU), reporta este parámetro con un valor de 0.06 mg/L, considerándolo como aceptable para su método. Mientras que Burgos y Estrada (2016), en su trabajo de determinación de aluminio residual por espectrofotometría visible obtuvieron un resultado de 0.017 mg/L, concentración mínima aceptable por el método.

El LOQ (límite de cuantificación) tuvo un valor de 0.011 esta es la concentración más baja del analito en muestra de agua, que se cuantificó considerando una adecuada precisión y exactitud, de acuerdo a lo establecido por EURACHEM. Dicho valor está por debajo de su LMR. En su estudio para la determinación de plaguicidas en café, Dallos y Guerrero (2005) reportaron valores de LOQ que van entre 0.01 y 0.1, y ellos concluyeron que su método era apropiado para determinar residuos de plaguicidas. Otra investigación que mostró resultados similares fue la de Burgos y Estrada (2016), quienes reportaron un valor de 0.021 mg/L.

El porcentaje de recuperación fue de 82.5%, a un rango de pH en las muestras de 6.8 a 7.3 (cuadro 4), mostrando un valor cercano al 100%, en donde entonces este se considera satisfactorio, ya que está dentro del rango recomendado por el Codex alimentarius. Con esto podemos decir que el método propuesto puede ser repetible en condiciones de laboratorio. Sin embargo Domínguez, Peñuela, y Flórez en el 2009, en su método para la determinación de Etilentiourea, obtuvo porcentajes de recuperación a diferentes volúmenes de extracción entre 53% y 94%, en donde su mayor valor de recuperación lo obtuvo a un pH de 10 y 5. También indica que influyó el volumen de la solución así como el tiempo de la homogenización de la matriz en el solvente (M. C. Domínguez *et al.*, 2009).

Por otro lado, Molina (2012) en su trabajo para la determinación de plaguicidas bencimidazoles, reportó porcentajes de recuperación para todas las muestras realizadas dentro del rango de 80% - 108%, concluyendo que su método presenta la exactitud requerida, ya que sus datos de porcentaje de recuperación entran dentro del rango propuesto por el Codex alimentarius para determinar Benomyl.

Cuadro 4. Resultado de los parámetros de validación.

Parámetro	Resultado del método
Veracidad	*95.27 %
Error relativo	4.72%
Límite de detección (LOD)	**0.0168
Límite de cuantificación (LOQ)	0.0108
Porcentaje de recuperación	82.5 %

\* calculado con base al error relativo

\*\* Medido por medio de los blancos

---

---

## 7.5. Procedimiento del método desarrollado

### **MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV VISIBLE PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BENOMYL (METIL 1-[BUTILCARBAMOIL] BENZIMIDAZOL-2-ILCARBAMATO) EN SOLUCIÓN ACUOSA**

#### **1.- PRINCIPIO**

*El método analítico permite analizar la concentración del plaguicida benomy (beomilo) en muestras de agua, usando un espectrofotómetro ultravioleta visible (UV-Vis), se puede cuantificar la concentración del contaminante. Este método es considerado de bajo costo, con alto nivel de confiabilidad y amigable con el ambiente.*

#### **2.- DEFINICIONES**

*Fungicida. Se define como una sustancia química que posee la capacidad para destruir y curar aquellas enfermedades que son causadas por organismos de la familia de los hongos. Debe tener como característica principal el controlar de manera eficaz la enfermedad que se está combatiendo, sin causar impacto negativo en áreas ajenas a la zona de cultivo (Quevedo, 2012).*

*Benomyl. Fungicida utilizado principalmente en la agricultura para el control de las diversas enfermedades fungosas y, que en estado puro se presenta de forma sólida, de color blanco y cristalino, presenta poca solubilidad en agua y aceites. Sustancia muy persistente en el medio ambiente.*

*Validación. Es la confirmación a través de examen y aporte de evidencias objetivas, en donde se cumplen los requisitos particulares de una actividad, es decir, asegurar que una actividad es capaz de cumplir el fin hacia la cual esta va orientada (Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C., 2006).*

#### **3.- MATERIALES Y EQUIPO**

- Matraz volumétrico de 100 ml (tipo A)
- Diez matraces volumétricos de 10 ml (tipo A)
- Pipeta de vidrio graduada de 1 ml
- Pipeta de vidrio graduada de 10 ml
- Termómetro de mercurio

---

---

-Vaso precipitado de 100 ml

-Balanza analítica

-Vortex

-Baño ultrasónico

-Espectrofotómetro UV-Visible

#### **4.- REACTIVOS**

- Analito Benomyl (metil 1-[butilcarbamoil] benzimidazol-2-ilcarbamato) en estado sólido, de la casa comercial Agilent, con lote # 0006492443, CAS-No. 17804-35-2, y masa molar de 290.0 g/mol.

- Solución de ácido clorhídrico (HCl) al 0.5 N.

- Solución de metanol de 99.8% de pureza grado reactivo.

#### **5.- PROCEDIMIENTO**

1. Lavar con la solución de ácido clorhídrico al 0.5 N, el material de cristalería a utilizar, y dejarlos en la solución por al menos una hora, después enjuagar con abundante agua desionizada y por último hacer el último lavado con metanol de 99.8% de pureza.

2. De la muestra acuosa colectada se miden 10 ml con ayuda de una pipeta volumétrica y se colocan en un frasco con tapa.

3. La muestra es colocada a baño María a una temperatura de 75 °C

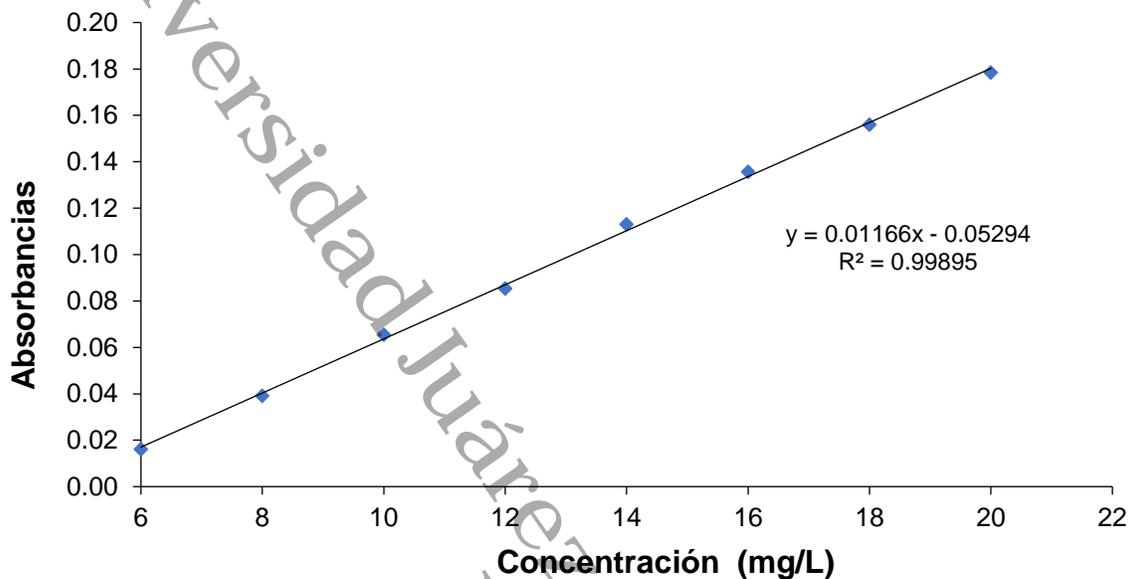
3. Posteriormente agitar en el vortex por 2 minutos.

4. Someter la muestra al baño ultrasónico de 20 minutos, para lograr la homogenización completa del reactivo.

5. Aforar la muestra y volver a agitar en el vortex por dos minutos.

6. Analizar las muestras en el espectrofotómetro ultravioleta visible (UV-Vis), en un rango a 282 nanómetros (nm).

7. Realizar el cálculo de la concentración de mg/L de muestra, usando la ecuación generada por el método.



Ecuación generada en la curva:

$$Abs = -0.05294 + 0.01166 * [C]$$

Donde:

[C]= Concentración de la muestra.

Abs= Absorbancia obtenida en el espectrofotómetro.

#### 6.- OBSERVACIONES

*-El reactivo Benomyl es inestable en agua, por lo cual hay que tomar en cuenta que su tiempo de degradación en solución acuosa es de 120 minutos, por lo cual es importante trabajar con los tiempos establecidos.*

*-La humedad juega un papel esencial, por lo cual el reactivo debe manejarse en un sitio donde la humedad sea baja, para evitar que el benomyl se humidifique y pierda efectividad.*

---

---

## 8.- REFERENCIAS

- (FAO) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2006). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas.
- Alfonso, D., y Sandoval, E. (2008). Evaluación "In vitro" de fungicidas para el control de hongos patógenos en esquejes de clavel durante la etapa de enraizamiento. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.
- Amparán-Salido, R., Téllez, J., y Navarro, M. del C. (2003). Metodologías para el estudio del impacto de contaminantes plaguicidas. *Revista de Toxicología En Línea*, 18(203), 2–29. Retrieved from [http://www.sertox.com.ar/img/item\\_full/18001.pdf](http://www.sertox.com.ar/img/item_full/18001.pdf)
- Arenas, I., y López, J. L. (2004). Espectrofotometría de absorción. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de biotecnología.
- Barrera, J., Barraza, F., y Campo, R. (2016). Efecto del sombrero sobre la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis morelet*) en cultivo de plátano cv hartón (*Musa AAB simmonds*). *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2), 317–323.
- Berglöf, T., Van Dung, T., Kyrim, H., y Nilsson, I. (2002). Carbendazim sorption – desorption in Vietnamese soils. *Chemosphere*, 48, 267–273.
- Burgos, C., y Estrada, P. (2016). Validación de un método analítico para la determinación de aluminio residual en agua potable mediante espectrofotometría visible. *Revista Nova (Colombia)*, 2(2), 56–65.
- California Environmental Protection Agency, D. of P. R. (1999). Benomy: Risk characterization document. Sacramento, California.
- CENAM. (2008). Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). Retrieved from [http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Clinicos/Carpeta\\_2\\_Criterios\\_evaluacion/C LINICOS\\_Validacion-Verificacion.pdf](http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Clinicos/Carpeta_2_Criterios_evaluacion/C LINICOS_Validacion-Verificacion.pdf)
- Comité Conjunto para las Guías en Metrología (JCGM). (2012). Vocabulario Internacional de Metrología (VIM): Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (Tercera ed). <https://doi.org/10.1021/ja01341a021>

- 
- Criswell, J. (1999). Pesticides and Water. In *Water Quality Handbook for Nurseries* (p. 37). Oklahoma.
- Dallos, D., y Guerrero, J. A. (2005). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación de plaguicidas en café verde por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de Química*, 34(2), 175–188. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28042005000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042005000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Dangond, J. J., y Guerrero, J. A. (2006). Metodología para la determinación de residuos de fungicidas benzimidazólicos en fresa y lechuga por hplc-dad. *Revista Colombiana de Química*, 35(1), 67–79.
- Domínguez, M. C., Peñuela, G., y Flórez, M. T. (2009). Método analítico para la determinación de etilentiourea (ETU) subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueño. *Revista Facultad de Ingeniería*, (49), 42–49.
- Domínguez, V. I. (2015). *Biocamas para el tratamiento de aguas contaminadas con fungicidas en la zona platanera de Teapa, Tabasco*. Colegio de Postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.
- Eurachem. (1998). *Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados: Métodos analíticos adecuados a su propósito*. Retrieved from <http://www.eurachem.ul.pt/guides/valid.pdf>
- García-Mata, R., González-Machorro, M. F., García-Sánchez, R. C., Mora-Flores, J. S., González-Estrada, A., y Martínez-Damian, M. Á. (2013). EL MERCADO DEL PLÁTANO (*Musa paradisiaca*) EN MÉXICO, 1971-2017. *Agrociencia*, 47(4), 399–410. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30226975008%0ACómo>
- Giménez, I. (1989). Ensayos sobre la fitotoxicidad del benomyl , triforina y thiocur , en plantones de naranjo amargo ( *Citrus aurantium* L .). *Boletín de Sanidad Vegetal*, 15(1), 57–65. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2140634>
- Guerrero, M., y Herrera, J. (2016). Desarrollo, validación y estimación de incertidumbre de un método cromatográfico para determinar residuos de plaguicidas organofosforados y cipermetrina en tomate. *Revista Agua y Conocimiento*, 2(1), 19–33. Retrieved from <http://revistacira.unan.edu.ni>
- Hershberger, L. W., Arce, G. T., International Program on Chemical Safety., United Nations Environment Programme., International Labour Organization., & World Health Organization.

- 
- (1993). BENOMYL: ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 148. Retrieved June 1, 2018, from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc148.htm>
- Hidalgo, M., Tapia, A., Rodríguez, W., y Serrano, E. (2006). Efecto de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (*Musa sp. AAA, cv. Valery*). *Agronomía Costarricense*, 30(1), 35–41. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43630103%0ACómo>
- Ibarz, R., Garvín, A., Pagán, J., y Ibarz, A. (2015). Modelización cinética de la degradación fotoquímica de benomilo. *Afinidad: Revista de Química Teórica y Aplicada*, 72(570), 108–113.
- Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C., (IMNC). (2006). Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2006 / ISO/IEC 17025:2005, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
- Karam, M. Á., Ramírez, G., Bustamante, L. P., y Galván, J. M. (2004). Plaguicidas y salud de la población. *Ciencia Ergo Sum*, 11(3), 246–254. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10411304> Ciencia
- Kulkarni, M. Y., Warhade, K. K., y Bahekar, S. (2014). Primary Nutrients Determination in the Soil Using UV Spectroscopy. *International Journal of Emerging Engineering Research and Technology*, 2(2), 198–204.
- Lavariega, L. (2018). *Establecimiento y validación de un método analítico para la determinación de Mancozeb (Etilenbisditiocarbamato de zinc y manganeso) en agua*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Biológicas.
- López, A., Vega, D., Torres, M. E., Sosa, Z., y Santana, J. J. (2007). Solid-phase microextraction of benzimidazole fungicides in environmental liquid samples and HPLC – fluorescence determination. *Anal Bioanal Chem*, 387(6), 1957–1963. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-1083-0>
- Magnusson, B., Ömemark, U., Morrillas, P., Barwick, V., Stephen, E., y Engman, J. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics (2nd ed.). <https://doi.org/ST/NAR/41>
- Mallat, E., Barceló, D., y Tauler, R. (1997). Degradation Study of Benomyl and Carbendazim in Water by Liquid Chromatography and Multivariate Curve Resolution Methods. *Chromatographia*, 46(7–8).
- Martínez-Bolaños, L., Téliz-Ortiz, D., Rodríguez-Maciél, J. C., Mora-Aguilera, J. A., Nieto-Ángel, D.,

- 
- Cortés-Flores, I., ... Silva-Aguayo, G. (2012). Resistencia a fungicidas en poblaciones de "Mycosphaerella fijiensis" del sureste mexicano. *Agrociencia*, 46, 707–717.
- Molina, I. A. (2012). *Metodología para la determinación de plaguicidas benzimidazoles en vinos*.
- Orozco-Santos, M., Farías-Larios, J., Manzo-Sánchez, G., y Guzmán-González, S. (2002). Manejo integrado de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) del banano en el trópico. *Fitoprotección*, 1, 119–124.
- Pérez-Portuondo, I., Aguilera-Rodríguez, I., Casals-Hung, M., Ábalos-Rodríguez, A., y Pérez-Silva, R. M. (2013). Evaluación mediante espectrofotometría UV-VIS derivativa de la degradación del 2-clorofenol. *Revista Cubana de Química*, XXV(3), 318–327. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543736008>
- Pérez, L. (2006). Manejo convencional y alternativo de la sigatoka negra en bananos : estado actual y perspectivas. *Fitosanidad*, 10(1), 55–72. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209116158009>
- Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229–252. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3_4)
- Quevedo, I. (2012). Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*). Colegio de Postgraduados. Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.05.061>
- Ramírez, J. A., y Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labo*, 4(2), 67–75.
- Rodríguez-Gaviria, P. A., y Cayón, G. (2008). Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano Physiological effect of *Mycosphaerella fijiensis* in banana leaves. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 256–265. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180314732010>
- Rodríguez, W., García, P. A., y Fajardo, A. (2016). Aplicaciones de Técnicas Espectroscópicas para el Análisis de Suelos. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 228–251. <https://doi.org/10.18359/RFCB.2030>
- Schmid, W. A., y Lazos, R. J. (2004). Guía Para Estimar La Incertidumbre De La Medición. Centro Nacional de Metrología (CENAM). Retrieved from [http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/cursos\\_virtuales/OAA/Material/Guía para estimar](http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/cursos_virtuales/OAA/Material/Guía para estimar)

---

incertidumbre.pdf

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., y Crouch, S. R. (2014). Fundamentals of analytical chemistry (Novena edi). CENGAGE Learning. Retrieved from <http://www.youblisher.com/p/1369022-skoog-quimica-analitica/>

Suzuki, H., Tonogai, Y., Ito, Y., y Iwaida, M. (1982). Rapid and Systematic Determination of Thiophanate Methyl ( TPM ), Benomyl and MBC ( Methyl Benzimidazolecarbamate ) by a Combined Method of Alumina Column Clean-up and UV Spectrophotometry. Agricultural and Biological Chemistry, 46(2), 549–552. <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865097>

Wade, L. G. J. (2011). Química Orgánica Volumen 2 (Séptima). PEARSON EDUCACIÓN.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

---

---

## 8. CONCLUSIONES

El porcentaje de recuperación del analito mostrado por el método es confiable, siempre y cuando se realice bajo las especificaciones señaladas.

El método desarrollado será útil para identificar concentraciones de Benomyl en aguas residuales provenientes de la fumigación de cultivos, en cuerpos de agua, también en agua provenientes de pozos artesanos cercanos a zonas productoras de plátano.

La validación permitió corroborar la correlación entre las siete concentraciones, agrupadas en las curvas de calibración.

El modelo lineal generado con los datos permite obtener concentraciones predictivas de benomyl en solución acuosa.

---

---

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(FAO) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2006). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas.

Alfonso, D., y Sandoval, E. (2008). Evaluación “*In vitro*” de fungicidas para el control de hongos patógenos en esquejes de clavel durante la etapa de enraizamiento. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.

Amparán-Salido, R., Téllez, J., y Navarro, M. del C. (2003). Metodologías para el estudio del impacto de contaminantes plaguicidas. *Revista de Toxicología En Línea*, 18(203), 2–29. Retrieved from [http://www.sertox.com.ar/img/item\\_full/18001.pdf](http://www.sertox.com.ar/img/item_full/18001.pdf)

Arenas, I., y López, J. L. (2004). Espectrofotometría de absorción. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de biotecnología.

Barrera, J., Barraza, F., y Campo, R. (2016). Efecto del sombrero sobre la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis morelet*) en cultivo de plátano cv hartón (*Musa AAB simmonds*). *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2), 317–323.

Berglöf, T., Van Dung, T., Kylim, H., y Nilsson, I. (2002). Carbendazim sorption – desorption in Vietnamese soils. *Chemosphere*, 48, 267–273.

Burgos, C., y Estrada, P. (2016). Validación de un método analítico para la determinación de aluminio residual en agua potable mediante espectrofotometría visible. *Revista Nova (Colombia)*, 2(2), 56–65.

California Environmental Protection Agency, D. of P. R. (1999). Benomyl: Risk characterization document. Sacramento, California.

---

---

CENAM. (2008). Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). Retrieved from [http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Clinicos/Carpeta\\_2\\_Criterios\\_evaluacion/CLINICOS\\_Validacion-Verificacion.pdf](http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Clinicos/Carpeta_2_Criterios_evaluacion/CLINICOS_Validacion-Verificacion.pdf)

Comité Conjunto para las Guías en Metrología (JCGM). (2012). Vocabulario Internacional de Metrología (VIM): Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (Tercera ed). <https://doi.org/10.1021/ja01341a021>

Criswell, J. (1999). Pesticides and Water. In *Water Quality Handbook for Nurseries* (p. 37). Oklahoma.

Dallos, D., y Guerrero, J. A. (2005). Desarrollo y validación de una metodología para la determinación de plaguicidas en café verde por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de Química*, 34(2), 175–188. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28042005000200007&lng=en&nrm=iso&tling=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042005000200007&lng=en&nrm=iso&tling=es)

Dangond, J. J., y Guerrero, J. A. (2006). Metodología para la determinación de residuos de fungicidas benzimidazólicos en fresa y lechuga por hplc-dad. *Revista Colombiana de Química*, 35(1), 67–79.

Domínguez, M. C., Peñuela, G., y Flórez, M. T. (2009). Método analítico para la determinación de etilentiourea (ETU) subproducto del Mancozeb en un Andisol del Oriente Antioqueño. *Revista Facultad de Ingeniería*, (49), 42–49.

Domínguez, V. I. (2015). *Biocamas para el tratamiento de aguas contaminadas con fungicidas en la zona platanera de Teapa, Tabasco*. Colegio de Postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.

Eurachem. (1998). *Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados: Métodos analíticos adecuados a su propósito*. Retrieved from <http://www.eurachem.ul.pt/guides/valid.pdf>

---

García-Mata, R., González-Machorro, M. F., García-Sánchez, R. C., Mora-Flores, J. S., González-Estrada, A., y Martínez-Damian, M. Á. (2013). El mercado del plátano (*Musa paradisiaca*) en México, 1971-2017. *Agrociencia*, 47(4), 399–410. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30226975008>

Giménez, I. (1989). Ensayos sobre la fitotoxicidad del benomyl , triforina y thiocur , en plántulas de naranjo amargo ( *Citrus aurantium* L .). *Boletín de Sanidad Vegetal*, 15(1), 57–65. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2140634>

Guerrero, M., y Herrera, J. (2016). Desarrollo, validación y estimación de incertidumbre de un método cromatográfico para determinar residuos de plaguicidas organofosforados y cipermetrina en tomate. *Revista Agua y Conocimiento*, 2(1), 19–33. Retrieved from <http://revistacira.unan.edu.ni>

Hershberger, L. W., Arce, G. T., International Program on Chemical Safety., United Nations Environment Programme., International Labour Organization., & World Health Organization. (1993). BENOMYL: ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 148. Retrieved June 1, 2018, from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc148.htm>

Hidalgo, M., Tapia, A., Rodríguez, W., y Serrano, E. (2006). Efecto de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) sobre la fotosíntesis y transpiración foliar del banano (*Musa sp. AAA, cv. Valery*). *Agronomía Costarricense*, 30(1), 35–41. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43630103>

Ibarz, R., Garvín, A., Pagán, J., y Ibarz, A. (2015). Modelización cinética de la degradación fotoquímica de benomilo. *Afinidad: Revista de Química Teórica y Aplicada*, 72(570), 108–113.

Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C., (IMNC). (2006). Norma Mexicana NMX-EC-17025-IMNC-2006 / ISO/IEC 17025:2005, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.

---

---

Karam, M. Á., Ramírez, G., Bustamante, L. P., y Galván, J. M. (2004). Plaguicidas y salud de la población. *Ciencia Ergo Sum*, 11(3), 246–254. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10411304> Ciencia

Kulkarni, M. Y., Warhade, K. K., y Bahekar, S. (2014). Primary Nutrients Determination in the Soil Using UV Spectroscopy. *International Journal of Emerging Engineering Research and Technology*, 2(2), 198–204.

Lavariega, L. (2018). Establecimiento y validación de un método analítico para la determinación de Mancozeb (Etilenbisditiocarbamato de zinc y manganeso) en agua. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Biológicas.

López, A., Vega, D., Torres, M. E., Sosa, Z., y Santana, J. J. (2007). Solid-phase microextraction of benzimidazole fungicides in environmental liquid samples and HPLC – fluorescence determination. *Anal Bioanal Chem*, 387(6), 1957–1963. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-1083-0>

Magnusson, B., Ömemark, U., Morrillas, P., Barwick, V., Stephen, E., y Engman, J. (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.). <https://doi.org/ST/NAR/41>

Mallat, E., Barceló, D., y Tauler, R. (1997). Degradation Study of Benomyl and Carbendazim in Water by Liquid Chromatography and Multivariate Curve Resolution Methods. *Chromatographia*, 46(7–8).

Martínez-Bolaños, L., Téliz-Ortiz, D., Rodríguez-Maciel, J. C., Mora-Aguilera, J. A., Nieto-Ángel, D., Cortés-Flores, I., ... Silva-Aguayo, G. (2012). Resistencia a fungicidas en poblaciones de “*Mycosphaerella fijiensis*” del sureste mexicano. *Agrociencia*, 46, 707–717.

Molina, I. A. (2012). Metodología para la determinación de plaguicidas bencimidazoles en vinos.

- 
- 
- Orozco-Santos, M., Farías-Larios, J., Manzo-Sánchez, G., y Guzmán-González, S. (2002). Manejo integrado de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*) del banano en el trópico. *Fitoprotección*, 1, 119–124.
- Pérez-Portuondo, I., Aguilera-Rodríguez, I., Casals-Hung, M., Ábalos-Rodríguez, A., y Pérez-Silva, R. M. (2013). Evaluación mediante espectrofotometría UV-VIS derivativa de la degradación del 2-clorofenol. *Revista Cubana de Química*, XXV(3), 318–327. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543736008>
- Pérez, L. (2006). Manejo convencional y alternativo de la sigatoka negra en bananos: estado actual y perspectivas. *Fitosanidad*, 10(1), 55–72. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209116158009>
- Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229–252. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3_4)
- Quevedo, I. (2012). Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*). Colegio de Postgraduados. Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.05.061>
- Ramírez, J. A., y Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labo*, 4(2), 67–75.
- Rodríguez-Gaviria, P. A., y Cayón, G. (2008). Efecto de *Mycosphaerella fijiensis* sobre la fisiología de la hoja de banano Physiological effect of *Mycosphaerella fijiensis* in banana leaves. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 256–265. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180314732010>
- Rodríguez, W., García, P. A., y Fajardo, A. (2016). Aplicaciones de Técnicas Espectroscópicas para el Análisis de Suelos. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 228–251. <https://doi.org/10.18359/RFCB.2030>

---

---

Schmid, W. A., y Lazos, R. J. (2004). Guía Para Estimar La Incertidumbre De La Medición. Centro Nacional de Metrología (CENAM). Retrieved from [http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/cursos\\_virtuales/OAA/Material/Guía para estimar incertidumbre.pdf](http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/cursos_virtuales/OAA/Material/Guía para estimar incertidumbre.pdf)

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., y Crouch, S. R. (2014). Fundamentals of analytical chemistry (Novena edi). CENGAGE Learning. Retrieved from <http://www.youblisher.com/p/1369022-skoog-quimica-analitica/>

Suzuki, H., Tonogai, Y., Ito, Y., y Iwaida, M. (1982). Rapid and Systematic Determination of Thiophanate Methyl ( TPM ), Benomyl and MBC ( Methyl Benzimidazolecarbamate ) by a Combined Method of Alumina Column Clean-up and UV Spectrophotometry. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(2), 549–552. <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865097>

Wade, L. G. J. (2011). Química Orgánica Volumen 2 (Séptima). PEARSON EDUCACIÓN.

# ANEXOS

## ANEXO 1. Certificado del reactivo Benomyl



### Certificate of Analysis

#### ISO 17034 Reference Material

**Product Number:** PST-1245  
**Lot Number:** 0006492443  
**Product Name:** Benomyl

**Lot Issue Date:** 26-Sep-19  
**Expiration Date:** 30-Sep-22

**Description:**

This Reference Material (RM) was prepared in accordance with ISO 17034 and under Agilent's ISO 9001 registered quality system. The true value (% purity) is reported below.

Analyte	CAS#	True Value
benomyl	17804-35-2	99.5 ± 0.05 % (w/w)

**Storage:** Store at Room Temperature (15° to 30°C).

**Traceability:**

Balances used are calibrated with weights traceable to NIST in compliance with ANSI/NCCL Z-540-1, ISO 9001, ISO 17025, and ISO 17034, with a manufacturer's tolerance of ± 0.3 mg.

**Homogeneity:**

This RM was unitized according to an in-house procedure and is guaranteed to be homogeneous. There is no minimum sub-sample size required.

**Intended Use:**

This RM is intended for the preparation of working reference samples for use in routine laboratory analyses, calibration of instruments, validation of analytical methods, assessments of measurement methods and continuing calibration verification.

**Instructions for Use:**

Sample aliquots for analysis should be withdrawn at 20°C to 25°C immediately after opening and should be processed without delay for the true value to be valid within the stated uncertainties.

**Hazards:**

Refer to the Safety Data Sheet for information regarding this RM.

**Expiration of Certification:**

The certification of this RM is valid until the expiration date specified above, provided the RM is handled and stored in accordance with the instructions given in this certificate. This certification is nullified if the RM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

**Maintenance of Certification:**

The real-time, long term stability of the RM may be monitored over the lifetime of the certification. If substantive changes are noted that affect the certification before the expiration of this certificate, Agilent will notify the purchaser.

Monica Bourgeois  
QMS Representative



ISO 17034  
REFERENCE MATERIAL  
PRODUCER  
ISO 17034 Cert No.  
AR-1936

Produced in accordance with TUV USA Inc 56 100 18560026  
registered ISO 9001 Quality Management System

Page 1 of 1



ISO 17025  
TESTING LABORATORY  
AT-1937

250 Smith Street North Kingstown, Rhode Island 02852 [www.agilent.com/quality](http://www.agilent.com/quality)

## Test Report

Thermo Fisher Scientific certifies that this instrument conforms to, or exceeds, all Thermo Fisher Scientific's current published specifications.

**Instrument** GENESYS 10S UV-Vis Spectrophotometer

**Serial No.:** 2L5S161214

**Calibration Conditions:** 22°C 67%RH

**Calibrated by:** Huang Yuanbo **Date:** 21 June 2014

<b>Wavelength Accuracy<sup>1</sup></b>	<b>Specification:</b> $\pm 0.8$ nm	
<u>Expected Value</u>	<u>Measured Value</u>	<u>Difference</u>
247.5 nm	247.4 nm	-0.1 nm
529.0 nm	529.0 nm	0.0 nm
824.2 nm	824.3 nm	0.1 nm

<b>Wavelength Repeatability<sup>2</sup></b>	<b>Specification:</b> Max - Min < 1.0 nm		
<u>Expected Value</u>	<u>Min. Measured</u>	<u>Max. Measured</u>	<u>Difference</u>
529.0 nm	529.0 nm	529.1 nm	0.02 nm

<b>Photometric Accuracy<sup>3</sup></b>	<b>Specification:</b> $\pm 0.005$ A	
<u>Expected Value</u>	<u>Measured Value</u>	<u>Difference</u>
0.968 A	0.966 A	0.002 A

<b>Photometric Noise<sup>4</sup></b>	<u>Measured Value</u>
<b>Specification</b>	
<0.00025A, 0A	0.00000 A
<0.0005A, 1A	0.00006 A
<0.0008A, 2A	0.00015 A

<b>Stray Light<sup>5</sup></b>	<u>Measured Value</u>
<b>Specification</b>	
<1.00%T, 198 nm	0.41 %T
<0.08%T, 220 nm	0.03 %T
<0.08%T, 340 nm	0.02 %T

1. Wavelength Accuracy measured using three emission lines from the built-in xenon lamp.
2. Wavelength Repeatability measured as peak-to-peak difference of 10 measurements of an emission line from the built-in xenon lamp.
3. Photometric Accuracy measured at 440 nm using a Neutral Density Glass Filter.
4. Photometric Noise is measured as RMS noise of 15 individual one-second measurements at 260 nm.
5. Stray light is measured according to established industry practice using sealed solutions as described:
  - a. 1.2% aqueous KCl at 198 nm
  - b. 1% aqueous NaI at 220 nm
  - c. 5% aqueous NaNO<sub>2</sub> at 340 nm

Thermo Fisher Scientific  
No.1028, Jin Min Road  
Jinqiao Export Processing Zone  
PuDong, Shanghai 201206  
P.R. China

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

269-293200\_A

ANEXO 3. Especificaciones sobre los matraces volumétricos.



## Certificate of Accuracy

The reported test values were determined in accordance with ASTM E542, using instruments traceable to Centro Nacional de Metrologia (CENAM).  
**The Volumetric Flask conforms to the dimensional and accuracy requirements of ASTM E288.**

KIMAX® Class A Batch Certified Volumetric Flask with Glass Pennyhead Stopper			
Catalog Number:	<b>28018LG</b>	Nominal Value (mL):	<b>10</b>
Error Limit ±(mL):	<b>0.02</b>	Standard:	<b>ASTM E288</b>
Batch number:	<b>52906</b>		
Temperature (°C):	<b>21</b>	Balance:	<b>210g</b>
Humidity (%):	<b>48</b>	Test Weights:	<b>KM-865</b>
		Thermometer:	<b>KM-860</b>
Actual Capacity (mL):	<b>9.997</b>	Calibration Method:	<b>Gravimetric</b>
Calculated Error (mL):	<b>0.003</b>	Calibration date(DD/MM/YYYY):	<b>13/05/2019</b>

Calibrated By:



**M. Juárez**  
Laboratory Technician

Authorized By:



**Q.F.B. Janette Granados Gómez**  
Quality Manager



ISO 9001:2015  
CERTIFIED  
CERT-3106736

Note: This product was made and calibrated in México to the highest quality standards. This certificate may not be reproduced in part, in any form by any means, or by any person or organization without authorization from DWK Life Sciences.  
 Kontes México S. de R.L. de C.V. | Pirineos 515 Int 33, Zona Ind Benito Juárez | Querétaro, 76120 | México

---

---

## ANEXO 4. Fórmulas aplicadas

### Límite de detección

$$X_{LOD} = \bar{X}(B) + 10s(B)$$

Dónde:

$\bar{X}(B)$ : es el promedio de las mediciones de los blancos.

$s(B)$ : es la desviación estándar de las mediciones de los blancos.

### Límite de cuantificación

$$X_{LoQ} = \bar{X}(B) + 5s(B)$$

Dónde:

$\bar{X}(B)$ : es el promedio de las mediciones de los blancos.

$s(B)$ : es la desviación estándar de las mediciones de los blancos.

### Porcentaje de recuperación

$$\%Recuperación = \left[ \frac{CF - CU}{CA} \right] * 100$$

Dónde:

CF: refiere a la concentración de analito medida en la muestra fortificada;

CU: es aquella concentración de analito medida en la muestra sin fortificar

CA: es la concentración del analito adicionado a la prueba (valor medido, no determinado por el método) en la muestra fortificada.

### Porcentaje de error relativo

$$\%Error\ relativo = \left[ \frac{(Valor\ real - Valor\ de\ medición)}{Valor\ real} \right] * 100$$

**Veracidad**       $Veracidad = 100\% - \text{porcentaje de error relativo}$

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.