

Método de extracción líquido-sólido para el análisis de residuos de plaguicidas N-Metil carbamatos en aguas

Liquid-solid extraction method for the analysis of N-Methyl carbamates pesticide residues in water

I. Buscema, G. Ettiene², D. Medina² y A. Prieto²

Resumen

Los plaguicidas Carbamatos son muy empleados en las actividades agrícolas y pecuarias, trayendo como consecuencia la contaminación de afluentes de aguas cercanos a estas áreas. Según concierne a los autores de este trabajo, en nuestro país no existen estudios acerca de métodos rápidos y económicos que permitan determinar y cuantificar la presencia de estos plaguicidas. Es por esto el interés de establecer un método que sea capaz de extraer con eficiencia un gran número de plaguicidas contenidos en muestras de agua. En este trabajo se empleó el carbón grafitado bajo diferentes condiciones para la extracción de residuos de 8 plaguicidas carbamatos en muestras de agua y su posterior análisis por cromatografía de gas capilar usando un detector selectivo nitrógeno-fosfóro. Los ensayos realizados permitieron establecer las condiciones adecuadas para la extracción de los plaguicidas en muestras de agua, la cual se describe como condición 6. Para esta condición los porcentajes de recuperación de los 8 plaguicidas se ubicaron entre 85 y 105 %, encontrándose dichos porcentajes de recuperación dentro del rango de eficiencia sugerido por la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos para el análisis de plaguicidas en aguas.

Palabras clave: extracción líquido-sólido, carbón grafitado, plaguicidas, carbamatos.

Abstract

The carbamate pesticides are frequently used in the agricultural activities that could cause contamination of the water affluents located near these areas. In our country there are few studies concerning fast and inexpensive method

Recibido el 28-04-1999 ● Aceptado el 23-07-1999

1. Proyecto financiado por CONDES y CONICIT.

2. Dpto. de Química, Facultad de Agronomía, La Universidad del Zulia, Apdo. 15205, e-mail: ibuscema@luz.ve, Maracaibo - Venezuela.

that could lead the identification and quantification of the pesticides. This work used carbopack cartridge, under different conditions, for the extraction of the residues of pesticides in water samples (8 carbamates), gas chromatography analysis, with a selective nitrogen - phosphorous detector was also used. The results showed that the conditions given in the procedure 6 are appropriate as it was showed by the recovery percentages of the carbamates, between 85 and 105 %. The pesticides were recovered efficiently. The results are in the range recommended (70 - 130 %) by the Environmental Protection Agency of the United States of America for the analysis of pesticides in water.

Key words: solid phase extraction, graphitized carbon black, pesticides, carbamates.

Introducción

La contaminación de aguas naturales por residuos de plaguicidas carbamatos, puede perturbar el balance de los sistemas ecológicos, lo cual plantea la necesidad de realizar análisis de residuos de plaguicidas en éste tipo de muestra. Estos análisis son reconocidos como complejos (12), por las diferentes propiedades físicas y químicas de los plaguicidas en el ambiente y la composición de la matriz de la muestra.

El uso de plaguicidas en zonas cercanas a cuerpos de agua, establece la necesidad de realizar análisis de estas sustancias a bajos niveles de concentración o por debajo de los establecidos por los organismos de protección ambiental (4).

Los plaguicidas carbamatos, constituyen uno de los grupos de plaguicidas más utilizados en la agricultura, tanto a nivel mundial como en Venezuela. La Agencia de

Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, Environmental Protection Agency) ha reportado que el 30% de todos los casos por intoxicación con plaguicidas son debidos al grupo de los carbamatos y organofosforados (13).

Existen varios métodos para la extracción líquido - líquido de plaguicidas en muestras de aguas, (9, 13) sin embargo las extracciones en fase sólida (1, 5, 9, 10) se han convertido en los últimos años en un método mas eficiente, ya que reduce el tiempo de análisis obteniéndose recuperaciones superiores a las extracciones líquido - líquido.

El propósito del presente trabajo fue lograr las condiciones adecuadas para la separación cromatográfica en fase gaseosa de 8 plaguicidas carbamatos y optimizar una metodología de extracción líquido - sólido de los plaguicidas en muestras de aguas naturales usar do cartuchos de carbón grafitado.

Materiales y métodos:

Plaguicidas de alta pureza (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemania), se emplearon para preparar las soluciones madre de 1000 y 2000 µg/mL de Aldicarb, Protham, Propoxur, Chlorprotham, Bendiocarb, Carbofuran, Pirimicarb y Carbaryl en acetato de etilo grado HPLC (J.T. Baker). Las soluciones patrón empleadas en la calibración se prepararon por dilución a partir de las soluciones madre en acetato de etilo y las soluciones empleadas para el salpicado se prepararon en metanol grado HPLC (J.T. Baker). Se empleó trifenilfosfato sólido (Riedel de Haën) al 99 % de pureza como estándar interno. Se preparó una solución madre de 1000 µg/mL en acetato de etilo.

Para la optimización de la separación cromatográfica de los 8 plaguicidas carbamatos y el estándar interno (E.I.), se prepararon soluciones patrón de los plaguicidas y del E.I. Trifenilfosfato en el intervalo de 0,1 - 5,0 µg/mL; se procedió a realizar inyecciones individuales de 1,0 ml, con diferentes condiciones de operación del equipo cromatográfico, empleando isoterma y rampas de calentamiento, con el fin de lograr una óptima separación de los analitos y los tiempos de retención de cada uno de estos, para su identificación. La cuantificación se realizó por el método del estándar interno. Las curvas de calibración se obtuvieron por inyección de soluciones patrón de cada plaguicida y el estándar interno.

Se utilizó un cromatógrafo de gases, Auto System Perkin-Elmer,

equipado con un detector termoiónico (nitrógeno - fósforo), un muestreador automático Perkin-Elmer (14), un inyector de válvula usado en modo splitless, una columna capilar de 30 m x 0,53 mm ID x 1,2 mm de espesor de película de 5% fenil 95% metil silicona (AT-5 Alltech), el registro de los cromatogramas y la integración del área de los picos se realizó en una computadora personal, equipada con un software Nelson 2600 (Manual de Instrucciones del Sistema de Integración 2600, Perkin-Elmer Hispania S.A., Departamento de Asistencia al Usuario, Grupo de Soporte y Aplicaciones).

Los gases empleados en el análisis cromatográfico fueron He, H₂ y aire sintético y en el procedimiento de extracción N₂ (todos de alta pureza, suministrados por AGA de Venezuela).

En el procedimiento de extracción se emplearon cartuchos conteniendo 250 y 400 mg de carbón grafitado (Envicarb, SUPELCO), sobre un soporte conectado a una bomba de vacío (GAST).

El acondicionamiento del cartucho de carbón grafitado, en todos los casos, se realizó con 5,0 mL de mezcla acetato de etilo/acetona (30:20), 1,0 mL de acetona grado HPLC (Fisher) y 14 mL de ácido acético al 2 % v/v (ácido acético glacial grado análisis, Fisher).

Para la optimización de la extracción líquido - sólido de los plaguicidas Carbamatos, se dispuso de muestras de agua desionizada, destilada, potable y de río. En estos

ensayos se experimentaron extracciones bajo seis condiciones diferentes (cuadro 1), se emplearon diversos volúmenes de muestras de agua, salpicada con una mezcla metanólica de los 8 plaguicidas a niveles entre 10,0 y 20,0 µg/l. Las muestras (agua destilada, potable y de río) fueron filtradas utilizando filtros de membrana de celulosa de 0,45 µm de poro y 47 mm de diámetro (Whatman) con la finalidad de eliminar cualquier particulado proveniente de la muestra; se adicionó NaCl, se agitó por un minuto y se pasó a través del cartucho a diferentes flujos (cuadro 1), previamente acondicionado. Luego el cartucho se secó al vacío durante 20 min.

Los plaguicidas retenidos en el cartucho se eluyeron empleando dos

formas de elución: 1) Cartucho en Posición Normal y 2) Cartucho en Posición Normal e Invertida (cuadro 1); con porciones de acetona y porciones de la mezcla acetato de etilo/acetona (80:20), los extractos se recogieron en tubos de ensayo conteniendo aproximadamente 1 g de Na₂SO₄ anhidro. Los extractos se evaporaron bajo una corriente de N₂ en un baño a 35 °C hasta un volumen final de 1,0 mL. Estos extractos se transfirieron a un vial, donde se le salpicó el estándar interno Trifenilfosfato (TPP) y se inyectó un volumen de 1,0 µL en el Cromatógrafo de gas.

La eficiencia de la metodología de extracción se evaluó calculando los porcentajes de recuperación de cada plaguicida con la siguiente expresión:

Resultados y discusión

Separación Cromatográfica.

Se realizaron ensayos a diferentes temperaturas en condiciones isotérmicas con la columna capilar utilizada, sin lograrse buenas separaciones de los 8 plaguicidas Carbamatos. Sin embargo, el empleo de un programa de calentamiento del horno, que se presenta en el (cuadro 2) aunado a las demás condiciones, permitió obtener una adecuada separación cromatográfica.

La columna mostró buenas separaciones y áreas de picos bien definidas, los tiempos de retención permitieron diferenciar un componente de otro. No se observaron solapamientos. El tiempo total de la corrida cromatográfica fue de 30 min.

La fase estacionaria (5% fenil 95% metilsilicona) es una fase no polar, lo que se comprueba con la rápida elución de los plaguicidas polares y la tardía elución de los plaguicidas menos polares (cuadro 3).

Optimización de la metodología de extracción con carbón grafitado. Los resultados obtenidos bajo la condición 1 descrita en la parte experimental, muestra recuperaciones entre 47 y 87%, para los plaguicidas Protham (74%), Chlorprotham (70%), Carbofuran (87%) y Carbaryl (84%). El resto de los carbamatos no se ubicaron dentro del intervalo óptimo de recuperación sugerido por la EPA (1) (entre 70 y 130%). La baja recuperación para Aldicarb (47%), Propoxur (48%),

Cuadro 1. Condiciones de Extracción de los plaguicidas carbamatos.

Condición	Miligramos de Carbón Grafitado	Volumen de Muestra (mL)	Flujo (mL/min.)	Elución
1	250	1000	50	- Posición Normal: 2 x 0,5 mL Acetona 3 x 2,5 mL Acetato de Etilo/Acetona (80:20)
2	250	1000	5	*
3	250	250	20	*
4	250	100	85	*
5	400	100	5	*
6	250	100	50	*
			5	- Posición Invertida: 2 x 0,5 mL Acetona 2 x 2,5 mL Acetato de Etilo/Acetona (80:20)
				- Posición Normal: 2 x 2,5 mL Acetato de Etilo/Acetona (80:20)

* Forma de elución, la misma que en la condición 1

Cuadro 2. Condiciones instrumentales óptimas de la Cromatografía Gaseosa.

Cromatógrafo	Auto System, Perkin-Elmer
Gas de arrastre	Helio a 10 mL/min.
Gases del detector	Hidrógeno a 1.70 mL/min. Aire a 100 mL/min.
Temperatura del inyector	250 °C
Temperatura del detector	280 °C
Umbral del detector	0.75 mV
Programa del horno	0.80 min. a 60 °C rampa 1: 40 °C/min. hasta 160 °C rampa 2: 3,5 °C/min. hasta 230 °C rampa 3: 8 °C/min. hasta 280 °C por 1 min.
Inyección	Modo "splitless" con apertura de válvula a los 0.80 min.
Método de cuantificación	Estándar Interno

Bendiocarb (63%) y Pirimicarb (56%) puede deberse, probablemente a la cantidad de muestra que atraviesa el cartucho durante la extracción, lo que contribuye a eluir algunos analitos (9, 11, 15).

En la siguiente etapa del desarrollo de la metodología de

extracción se procedió a incrementar la cantidad de NaCl a 10 g y se realizaron extracciones a tres flujos distintos 85, 20 y 5 mL/min., los ensayos realizados bajo la condición 2 de extracción, permitieron obtener recuperaciones adecuadas para Bendiocarb (108,5%), Carbofuran (71,13%) y Carbaryl (116%);

Cuadro 3. Tiempos de retención y factores de respuestas relativos a Trifenilfosfato empleando el detector termoiónico (NPD).

	Plaguicidas	Tiempos de retención (min.)	Factor de repuesta relativa
1	Aldicarb	2,92	0,121
2	Propham	7,78	0,105
3	Propoxur	10,62	0,025
4	Clorpropham	11,42	0,061
5	Bendiocarb	11,85	0,003
6	Carbofuran	13,45	0,001
7	Pirimicarb	16,12	0,451
8	Carbaryl	17,48	0,004
9	Trifenilfosfato	28,37	1,000

Intervalo de concentración 0,1 - 5,0 µg/mL, n = 10

cuando se realizó el ensayo de extracción a un flujo de 85 mL/min.

El ensayo de extracción que se realizó a un flujo de 20 mL/min., muestra que los plaguicidas carbamatos que presentaron óptimas recuperaciones son Bendiocarb (105%) y Carbofuran (82,72%), el resto de los carbamatos no se recuperaron, probablemente debido a su elución con el paso de la muestra (3, 9, 11, 15).

Para la extracción a 5 mL/min., son recuperados eficientemente los plaguicidas carbamatos Propham (73,19%), Propoxur (104%), Bendiocarb (115%), Carbofuran (110%) y Carbaryl (76%).

Con la condición 3; a un flujo de 20 mL/min., la mayoría de los carbamatos no se recuperó eficientemente (por debajo de 39%), lo cual indica que a este flujo no es adecuada la extracción de los plaguicidas. Una de las posibles razones que puedan explicar la no-recuperación de los plaguicidas podría estar relacionada con su polaridad y el flujo de extracción, ya que en este caso los plaguicidas estarían menos tiempo en contacto con el sólido para que ocurra la adsorción de estos.

A un flujo de 5 mL/min. se recuperan sólo 3 de los 8 plaguicidas, Bendiocarb (92,67%), Carbofuran (84,57%) y Carbaryl (104,0%). Cuando se ejecuta la extracción a este flujo se puede notar que un mayor número de plaguicidas es recuperado, ya que el tiempo de estadía de estos por la fase sólida es mayor, en comparación a cuando se realiza a un flujo de 20 mL/min.

Con el fin de maximizar la eficiencia de recuperación obtenida, se

redujo el volumen de muestra como se describe en condición 4 de extracción. Los porcentajes de recuperación a un flujo de 35 mL/min. no son satisfactorios ya que ninguno de los analitos se recuperó eficientemente, lográndose el mayor valor de recuperación para Carbaryl (60,41%).

Cuando se realizó la extracción a un flujo de 20 mL/min se observa que los porcentajes de recuperación estuvieron entre 18,57 y 125,0% y sólo se recuperan eficientemente Bendiocarb (86,0%) y Carbaryl (125,0%).

En ambos casos cuando se experimenta la extracción de los plaguicidas a flujos de 85 y 20 mL/min. la eficiencia es pobre. Esto pudiese estar asociado al flujo de extracción, ya que como algunos plaguicidas son polares, la fase sólida con la que se extrae compete en la adsorción de estos compuestos junto con la muestra (7, 4, 11, 15).

Cuando la extracción se realizó a un flujo de 5 mL/min. se observó que los porcentajes de recuperación variaron entre 80,97 y 128,0% lográndose eficientes recuperaciones para los 8 carbamatos, Aldicarb (91,36%), Propham (83,96%), Propoxur (88,12%), Chlorpropham (81,96%), Bendiocarb (90,7%), Carbofuran (86,88%), Pirimicarb (80,97%) y Carbaryl (128,0%).

Para estudiar el efecto de adsorción de los plaguicidas en la fase sólida, se empacaron cartuchos con 400 mg de carbón grafitado (condición 5). Las recuperaciones fueron eficientes para 7 de 8 plaguicidas flujos de 5 y 50 mL/min, recuperándose satisfactoriamente Aldicarb (77,0%), Propham (76,0%), Propoxur (74,0%),

Chlorpropham (85,0%), Bendiocarb (93,0%), Carbofuran (97,0%) y Pirimicarb (90,0%) a 5 mL/min.

A un flujo de 50 mL/min., se observa que igualmente se recuperan 7 de los 8 carbamatos, Aldicarb (91,0%), Propham (76,0%), Propoxur (89,0%), Chlorpropham (85,0%), Bendiocarb (105,0%), Carbofuran (98,0%) y Pirimicarb (80,0%).

Con el propósito de incrementar la eficiencia de extracción del cartucho de carbón grafitado (250 mg), se procedió a ensayar la separación de los plaguicidas carbamatos en muestras de aguas, tal como se describe en la condición 6. Se modificó la etapa de elución invirtiendo la posición del cartucho de carbón grafitado. (7, 8, 2).

En este ensayo se recuperaron eficientemente los 8 carbamatos, obteniéndose recuperaciones dentro del rango de eficiencia de la EPA; Aldicarb (110,0%), Propham (90,0%), Propoxur (85,0%), Chlorpropham (98,0%), Bendiocarb (91,0%), Carbofuran (105,0%) y Carbaryl (88,0%). Los resultados obtenidos con este ensayo permitieron recuperar eficientemente un mayor número de plaguicidas en comparación con los anteriormente discutidos (figura 1).

Resultados similares obtienen Crescenzi *et al.* (2), empleando esta modalidad de elución: Aldicarb (96,0%), Carbaryl (97,0%), Pirimicarb (95,0%), Propham (95,0%) y Propoxur (95,0%), y Di Corcia *et al.* (3), con Aldicarb (92,0%).

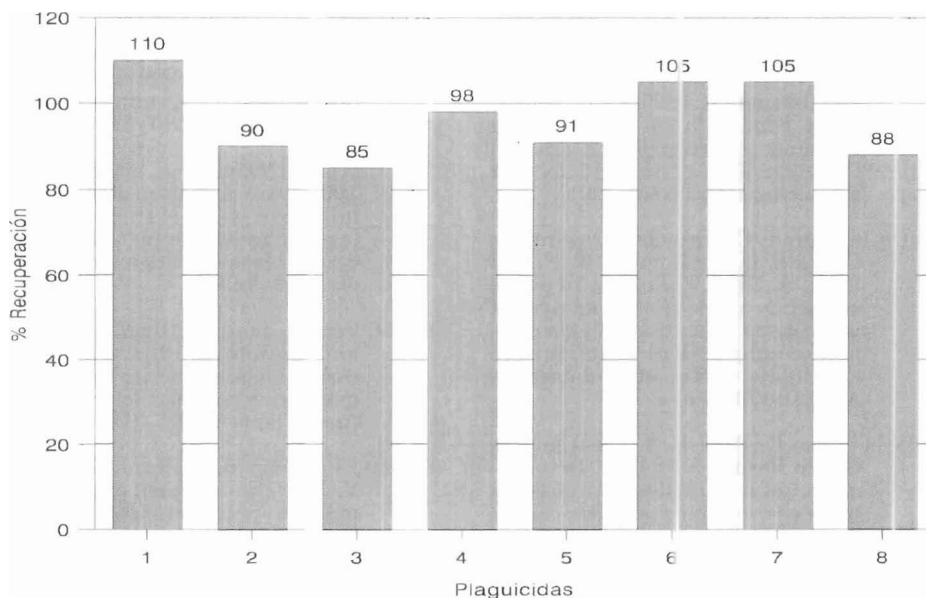


Figura 1. Eficiencia en la recuperación de plaguicidas carbamatos utilizando cartuchos de 250 mg de Carbo-pack. Flujo 5 mL/min, 100 mL H₂O y 5 g NaCl, cartucho invertido (condición 6).

Conclusiones

En función de los resultados obtenidos para cada condición ensayada, se seleccionó como mejor condición de extracción, la descrita como condición 6 (elución con cartucho invertido), por permitir una mayor

eficiencia en la extracción de los 8 carbamatos estudiados dentro de un intervalo óptimo de porcentaje de recuperación de 85 y 105% con coeficientes de variación entre 1,66 y 8,25% respectivamente.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) por el financiamiento para la adquisición del

Cromatógrafo de Gas y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de L.U.Z (CONDES) por el financiamiento del proyecto No. 1096-94.

Literatura citada

1. Barceló, D. 1993. Environmental protection agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *J. of Chromatography*. 643, 117-143.
2. Crescenzi, C.; Di Corcia, A.; Madbouly, M. and Samperi, R. 1995. Pesticide Stability Studies upon Storage in a Graphitized Carbon Black Extraction Cartridge. *Environmental Science & Technology*, 29, 9, 2185 - 2190.
3. De la Colina, C.; Dánchez-Rasero, F.; Cancela, D. G.; Romero, T. E. and Peña, A. 1995. Use of a solid phase extraction method for the analysis of pesticides in groundwater by gas chromatography with electron capture and flame photometric detectors. *Analyst*. 120, 1723-1728.
4. De la Colina, C.; Peña, H. A.; Dios Cancela, G. and Rasero, S. F. 1993. Determination of organophosphorous and nitrogen containing pesticides in water samples by solid phase extraction with gas chromatography and nitrogen phosphorus detection. *J. of chromatography A*. 655, 127-132.
5. Di Corcia, A. and Marchetti, M. 1992. Method development for monitoring pesticides in environmental waters: liquid-solid extraction followed by liquid chromatography. *Env. Sci. Tech.* 26, 66-74
6. Di Corcia, A. and Marchetti, M. 1991. Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis. *Anal. Chem.* 63, 580 - 585.
7. Di Corcia, A.; Marchese, S. and Samperi R. 1994. Determination of phenol pollutants in water at trace levels: Extraction by a reversible graphitized carbon black cartridge. *Anal. Chem.* 65, 1490 - 1494.
8. Di Corcia, A.; Samperi, R.; Marcomini, A. and Stelluto, S. 1993. Graphitized carbon black extraction cartridges for monitoring polar pesticides in water. *Anal. Chem.* 65, 907-912.
9. Font, G.; Mañé, J.; Molto, J. C. and Pico, Y. 1993. Solid phase extraction in multi-residue pesticides analysis of water. *J. of Chromatographic Science*, 642, 135-161.
10. Holland, P.; McNaughton, D. and Malcolm, C. 1994. Multiresidue analysis of pesticides in wines by solid-phase extraction. *J. ACAC International*, 77 (1), 79-86.

11. Lacorte, S.; Lartiges, S.; Garrigues, P. and Barcelo, D. 1995. Stability of organophosphorus pesticides on disposable solid-phase extraction precolumns. *Environ. Sci. Technol.* 29, 431-438.
12. Miliadis, G. E. 1993. Gas chromatographic determination of pesticides in natural waters of Greece. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 50, 247-252.
13. Nash, G. R. 1990. Solid-phase extraction of Carbofuran. *J. of A.O.A.C.* 73, 3, 438-442.
14. Perkin-Elmer Corporation. 1993. The AutoSystem GC Operators Manual.
15. Scott, A.; Senseman, T. L.; Lavy, J. D.; Mattice, B. M. and Briggs, W. S. 1993. Stability of various pesticides on membranous solid-phase extraction media. *Environ. Sci. Technol.* 27, 516.
16. Toussaint R., J ; Liberatore, A.; Gonzalez, Z. y Flores, H. 1995. Plaguicidas organofosforados y carbamatos, toxicología, diagnóstico - clínica y tratamiento. Manual, Caracas - Venezuela.