

# Optimización de la Extracción en Fase Sólida de Residuos de Plaguicidas Organofosforados en Agua Potable Empleando Cartuchos de Carbón Grafitado

I. Buscema<sup>1</sup>, G. Ettiene<sup>1</sup>, D. Medina<sup>1</sup> y A. Prieto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía Maracaibo - Venezuela.

## Resumen

Se optimizó un método de análisis para la determinación de residuos de 21 plaguicidas organofosforados de diferentes polaridades en agua potable, empleando extracción líquido-sólido con cartuchos de carbón grafitado y cromatografía de gas. La extracción se realizó pasando 100 mL de muestra de agua potable a través de 250 mg de carbón grafitado previamente acondicionado, a un flujo de 5 mL/min. La elución se realizó con 2 x 0,5 mL de acetona y 2 x 2,5 mL de acetato de etilo/acetona (80:20) en posición normal. Seguidamente, el cartucho se invirtió y se adicionaron 2 x 2,5 mL de acetato de etilo/acetona (80:20). Los extractos se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se concentraron hasta 1 mL con nitrógeno, se les adicionó como estándar interno trifenilfosfato y se inyectó 1 µL en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer, usando un detector nitrógeno-fósforo. Los porcentajes de recuperación oscilaron entre 2-104% con coeficientes de variación entre 1,66-8,25 %. Recuperándose 17 de los 21 plaguicidas. Estos resultados indican que la extracción líquido-sólido empleando cartuchos de carbón grafitado es eficiente y reproducible para la determinación de plaguicidas organofosforados en muestras de agua potable.

**Palabras clave:** Plaguicidas organofosforados, Extracción Líquido-sólido, Carbón Grafitado.

## Introducción

El uso de los plaguicidas organofosforados en Venezuela se ha extendido a partir de la prohibición de uso de los plaguicidas organoclorados, que tienen una alta persistencia en el ambiente y son extremadamente tóxicos (19).

Los plaguicidas organofosforados han resultado ser muy eficientes en el control de plagas a un costo bajo y menos persistentes en el ambiente. Sin embargo, son sustancias tóxicas y representan un riesgo para la salud humana, ya que prácticas

---

Recibido el 16-7-2002 ● Aceptado el 19-5-2003

<sup>1</sup>Autores de correspondencia e-mail: ibuscema@luz.ve, gettiene@yahoo.com, dmedinav@yahoo.com

convencionales de tratamientos de agua no remueven los plaguicidas solubles, los cuales pueden afectar la calidad del agua para consumo humano (10,13,19). Una vez aplicadas a los cultivos, estas sustancias pueden llegar a las aguas naturales por escorrentía, por volatilización o por acción del viento (20). Este hecho establece la necesidad de desarrollar y/o optimizar métodos analíticos para extraer, recuperar y cuantificar plaguicidas organofosforados a bajos niveles de concentración (13). La Comunidad Económica Europea establece límites permisibles de 0,5 mg/L para pesticidas totales en agua potable (9), y en Venezuela 0,2 mg/L para organofosforados en aguas de río y potable (12).

Los métodos analíticos empleados para la detección y cuantificación de residuos de plaguicidas organofosforados en aguas naturales son la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta resolución (3,6,15,17). En ambos casos, se requiere la separación de los analitos del resto de la muestra. Muchos de

estos métodos están basados en el empleo de la extracción con solventes orgánicos, tóxicos y peligrosos, y posterior limpieza del extracto para eliminar otros contaminantes, lo que requiere un largo tiempo de análisis (2). La técnica de extracción líquido-sólido se ha utilizado en el área de preparación de muestras ambientales (1,2,7,11,16,17,21), sobre todo para concentrar analitos presentes en soluciones muy diluidas tales como aguas naturales (18,19). Esta técnica de extracción ha dado recuperaciones equivalentes o superiores cuando se compara con la extracción líquido-líquido (3,11,13,17). Este procedimiento reduce el tiempo de extracción, no se forman emulsiones, no requiere limpieza posterior del extracto y el cartucho puede ser usado hasta 10 veces, lo que hace al método económico.

Este trabajo describe un procedimiento de extracción líquido-sólido para evaluar plaguicidas organofosforados en agua potable, empleando cartuchos de carbón grafitado como fase sólida.

## Materiales y métodos

Estándares de 21 plaguicidas organofosforados de alta pureza (>95%, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemania) y del estándar interno trifenilfosfato (Riedel de Haën), se utilizaron para preparar, por pesada, soluciones madre de concentraciones entre 1000 y 2000 µg/mL, en acetato de etilo grado HPLC (J.T. Baker). Se prepararon soluciones patrón por dilución de las soluciones madre a concentraciones entre 0,1 y

5,0 µg/mL, en acetato de etilo. Estas soluciones fueron protegidas de la luz y almacenadas a 5°C. Los análisis se realizaron en un cromatógrafo de gases, Auto System Perkin-Elmer, equipado con un detector termiónico (nitrógeno-fósforo), un inyector automático (Perkin-Elmer), un inyector split-splitless operado en el modo splitless, y 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). Los datos cromatográficos se procesaron en un computador personal equipado con el software Nelson 2600 (Perkin- Elmer). Se utilizó helio calidad UAP como gas de arrastre, aire con 20% Oxígeno e hidrógeno calidad UAP como gases del detector y nitrógeno en la evaporación de los extractos (todos los gases obtenidos comercialmente, los suministró AGA de Venezuela, C.A).

En la extracción líquido-sólido se emplearon cartuchos conteniendo 250 y 400 mg de carbón grafitado (Envi-

Carb, Supelco), reservorios de 75 mL (Supelco), colocados sobre un soporte conectado a una bomba de vacío (Gast).

Para evaluar la eficiencia en la recuperación de los plaguicidas organofosforados se ensayaron seis condiciones de extracción, empleando muestras de agua potable de diferentes volúmenes (cuadro 1). Cada condición se ensayó 6 veces.

El acondicionamiento del cartucho de carbón grafitado se realizó con 5,0 mL de una mezcla acetato de etilo/acetona (80:20), 1,0 mL de acetona grado HPLC (Fisher) y 14 mL

**Cuadro 1. Condiciones de extracción de los plaguicidas organofosforados.**

Condición	Cantidad de carbón grafitado (mg)	Volumen de muestra (mL)	Flujo (mL/min)	Elución
I	250	1000	50	-Posición normal: 2x 0,5 mL Acetona 3x 2,5 mL Acetato de etilo/ Acetona (80:20)
II	250	1000	5 20 85	Idem condición 1
III	250	250	5 20 85	Idem condición 1
IV	250	100	5 20	Idem condición 1
V	400	100	5 20 85	Idem condición 1
VI	250	100	5 50	-Posición Normal: 2x 0,5 mL Acetona 2x 2,5 mL Acetato de etilo/ Acetona (80:20)- Posición Invertida: 2x 0,5 mL Acetona 2x 2,5 mL Acetato de Etilo/ Acetona (80:20)

de ácido acético al 2% v/v (ácido acético glacial grado analítico, Fisher). Seguidamente, se pasó a través del cartucho a diferentes flujos la muestra salpicada con los plaguicidas organofosforados (cuadro 1).

Previamente, se adicionó a la muestra cloruro de sodio grado analítico (Riedel de Haën), para lograr el efecto «salting out». Luego, el cartucho se secó al vacío durante 20 min. Los plaguicidas retenidos en el cartucho se eluyeron ensayando dos formas de elución: 1) Cartucho en posición normal y 2) Cartucho en posición normal e invertida (cuadro 1). La elución se realizó con acetona, seguido de la mezcla acetato de etilo

acetona (80:20) (cuadro 1).

Los extractos se recogieron en tubos de ensayo conteniendo  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro (Riedel de Haën), se evaporaron bajo una corriente de  $\text{N}_2$  en un baño de agua a 35°C hasta un volumen final de 1,0 mL, luego estos se transfirieron a un vial, se adicionó el estándar interno trifenílfosfato (TPP), y se inyectó por duplicado en el cromatógrafo de gas. Adicionalmente, se evaluó la factibilidad de reutilizar los cartuchos de carbón grafitado en extracciones sucesivas. Para ello, una vez realizada la elución, se sometieron a lavado con 20 mL de metanol (J.T. Baker) antes de una nueva extracción.

## Resultados y discusión

### Separación cromatográfica

El empleo de un programa de temperatura en el horno, que se presenta en el cuadro 2, aunado a las demás condiciones, permitió obtener una adecuada separación cromatográfica. El tiempo total de la corrida cromatográfica fue de 35 min. No hubo interferencias cromatográficas al analizar los extractos. Los tiempos de retención no mostraron variación significativa entre las corridas, lo que demuestra la buena precisión del análisis cromatográfico.

El orden de elución de los plaguicidas organofosforados fue similar a los reportados por Di Corcia *et al.* 1993 y Holland *et al.* 1994, permitiendo los tiempos de retención diferenciar claramente la separación de los mismos sin solapamientos.

La fase estacionaria 5% fenil

metil silicona es una fase no polar, lo que se comprueba con la rápida elución de los plaguicidas polares: mevinphos, omethoate, metamidophos, monocrotophos, acephate, dimethoate, dichlorvos y con la tardía elución de los plaguicidas menos polares.

### Extracción

Para la condición I descrita en la parte experimental (cuadro 1) los porcentajes de recuperación para todos los plaguicidas utilizados en este trabajo oscilaron entre 2 y 112%, para mevinphos (85%), paraoxon (112%), malathion (70%), parathion (74%), chlofenvinphos (78%) y tetrachlorvinphos (85%), las recuperaciones para estos plaguicidas se ubica en el intervalo óptimo entre 70 y 130% sugerido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos (2), lo cual indica que estas condiciones

## Cuadro 2. Condiciones Instrumentales Óptimas de la Cromatografía de Gas.

Cromatógrafo	Auto System, Perkin-Elmer
Gas de arrastre	Helio a 10 mL/min.
Gas 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	Estandar Interno

de extracción son eficientes sólo para 6 de los 21 plaguicidas.

Mayores porcentajes de recuperación obtuvo, Clara De La Colina *et. al.* 1995, empleando un flujo de extracción de 30 mL/min, para diazinon (90,64%), methidathion (69,77%), Azinphos (82%) y fenitrothion (74,06%), probando así la eficiencia a menor flujo de extracción.

Se procedió a incrementar la cantidad de NaCl a 10 g y se realizaron extracciones a tres flujos diferentes (condición II) 85, 20 y 5 mL/min, obteniéndose el mayor número de plaguicidas recuperados al flujo de 5 mL/min. Las bajas recuperaciones obtenidas para la mayoría de los plaguicidas estudiados pudo ser a causa de la elución de la fase sólida con el paso de volumen de muestra, lo que disminuyó su concentración (6,7).

La adición de mayor cantidad de NaCl a la muestra, para incrementar el efecto salino «salting out», no logró la recuperación de la mayoría de los plaguicidas.

Los ensayos realizados bajo la condición III con muestras de agua potable salpicadas con los plaguicidas organofosforados a niveles entre 0,1 y 3,0 mg/L y flujos de extracción de 5 y 20 mL/min, disminuyendo el volumen de muestra de agua a 250 mL, muestran que sólo monocrotophos (106%) y paraoxon (77,5%), son recuperados usando 20 mL/min. Una de las posibles razones que puedan explicar la baja recuperación del resto de los plaguicidas es su polaridad y el flujo de extracción (usando 20 mL/min), ya que en éste caso los plaguicidas estarían menos tiempo en contacto con la fase sólida para que se produzca la adsorción de estos.

A un flujo de 5 mL/min se recuperaron monocrotophos (112%), paraoxon (78,9%), fenchlorphos (84,3%), tetrachlorvinphos (71,5%) y azinphos (86,33%).

Con el fin de mejorar la eficiencia de las recuperaciones obtenidas, se redujo el volumen de muestra a 100 mL, salpicando con la mezcla de

plaguicidas organofosforados para obtener niveles entre 0,6 y 3,0 mg/L a un flujo de extracción de 85, 20 y 5 mL/min. (condición IV).

Los porcentajes de recuperación obtenidos a 85 mL/min no fueron satisfactorios, lográndose como mayor valor de recuperación, 44,9% para paraoxon. A un flujo de 20 mL/min sólo se recuperó paraoxon (70,68%). La justificación de los resultados puede estar relacionado con la polaridad de los plaguicidas, ya que en presencia de plaguicidas polares, la fase sólida compite en la adsorción de estos compuestos junto con la muestra (6,7).

Ensayando con un flujo de extracción de 5 mL/min se recuperaron eficientemente: mevinphos (95%), omethoate (71,81%), monocrotophos (98,12%), dimethoate (83,37%), diazinon (73,66%), paraoxon (88%), fenclorphos (71%), malathion (84%), parathion (77,07%), methidathion (87,37%), tetrachlorvinphos (92,37%) y azinphos (80,33%).

La poca eficiencia en la recuperación del resto de los plaguicidas pudo estar asociado a la polaridad de estos, perdiéndose con el paso de la muestra (6, 11).

Se realizó un ensayo empacando un cartucho con 400 mg de carbón grafitado, para la condición V, sugerido por Di Corcia *et al.* 1993. La muestra de agua fue salpicada con los plaguicidas organofosforados, para obtener niveles entre 5 y 100 mg/L y entre 20 y 200 mg/L, manteniendo el volumen de muestra y manteniendo los flujos de extracción de 5, 20 y 85 mL/min.

Para esta condición los

porcentajes de recuperación oscilaron entre 0,41 y 101% a un flujo de 5 mL/min, con excepción de acephate que no se recuperó. La extracción fue eficiente para: mevinphos (101%), monocrotophos (91%), dimethoate (75%), diazinon (76%), paraoxon (95%), malathion (87%), parathion (79%), chlorfenvinphos (80%), methidathion (85%) y tetrachlorvinphos (90%).

Cuando las extracciones se realizaron a un flujo de 20 mL/min, 11 plaguicidas fueron recuperados con eficiencia: mevinphos (116%), monocrotophos (96%), dimethoate (84%), diazinon (76%), paraoxon (93%), malathion (91%), parathion (82%), chlorfenvinphos (86%), methidathion (83%), phorate (76%) y tetrachlorvinphos (88%). Un aumento en la recuperación puede observarse en 6 de los 21 plaguicidas organofosforados, aunado al incremento de la superficie de contacto del carbón grafitado, el cual se comporta como una fase reversa natural, con un pequeño número de complejos químicos oxigenados. Estos sitios activos pueden tener una profunda influencia sobre la adsorción de los plaguicidas polares que se encuentran en el agua (4, 8).

Realizando la extracción a un flujo de 5 mL/min y manteniendo el acondicionamiento del cartucho, se varió el proceso de elución, (condición VI). Este se modificó invirtiendo la posición del cartucho de carbón grafitado (4, 8).

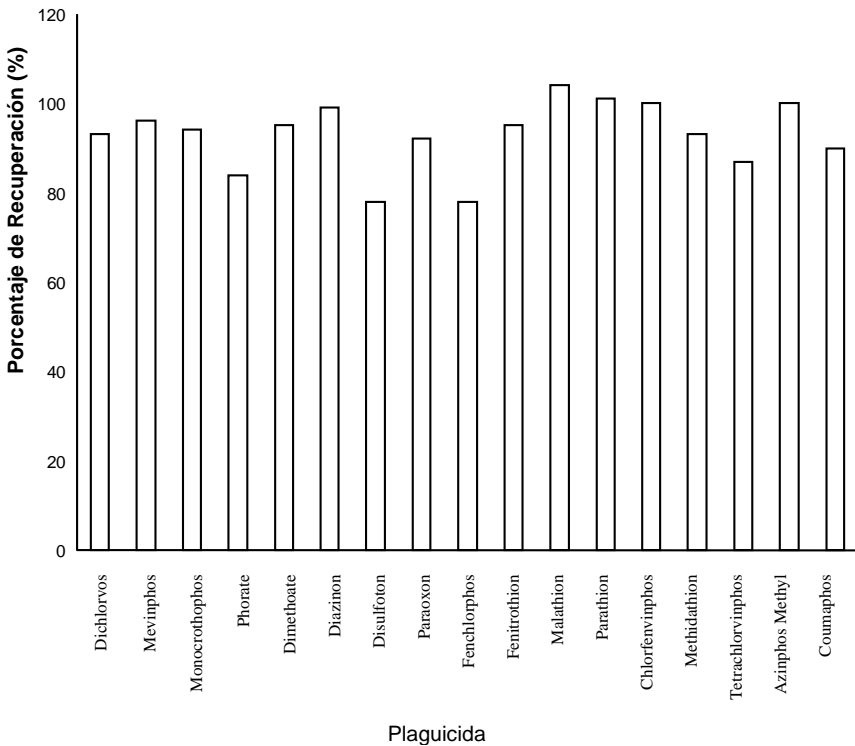
En éste ensayo se recuperaron eficientemente 17 de los 21 plaguicidas organofosforados (figura 1): mevinphos (96%), monocrotophos (94%), dimethoate (95%), diazinon (99%),

disulfoton (78%), dichlorvos (93%) paraoxon (92%), malathion (104%), parathion (101%), chlorfenvinphos (100%), methidathion (93%), phorate (84%), fenclorfos (78%), fenitrothion (95%), azinphos (100%), coumaphos (90%) y tetrachlorvinphos (87%).

Resultados similares obtuvieron Crescenzi *et al.*, 1995, empleando ésta modalidad de elución: dimethoate (93%), diazinon (95%), disulfoton

(94%), malathion (99%), parathion (99%), fenitrothion (98%), y azinphos metil (103%).

Di Corcia *et al.*, 1993, empleando la elución reversa de los plaguicidas desde el cartucho conteniendo 300 mg de carbón grafitado, obtuvieron menores porcentajes de recuperación: omethoate (31%), monocrotophos (90%), dimethoate (83%), mevinphos (90%) y dichlorvos (85%).



**Figura 1. Eficiencia en la recuperación de plaguicidas organofosforados utilizando cartuchos de 250 mg de carbón grafitado, flujo 5mL/min, 100 mL de muestra y 5 g de NaCl, cartucho invertido (Condición 6).**

## Conclusiones

En función de los resultados obtenidos, se seleccionó como mejor condición de extracción, el procedimiento optimizado descrito como condición VI (elución con cartucho invertido), permitiendo la extracción eficiente de 17 plaguicidas organofosforados, dentro de un intervalo óptimo de porcentajes de recuperación de 78-105% con coeficientes de variación entre 1,66 y

8,25%, respectivamente, lo que permite extraer simultáneamente con eficiencia y rapidez residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de agua potable.

Los cartuchos de carbón grafitado pueden ser empleados mas de una vez para la extracción de plaguicidas, regenerando su capacidad extractora cuando se usan los solventes en la etapa de acondicionamiento.

## Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al CONDES por el

confinanciamiento No. 1098-99 y FONACIT

## Literatura citada

1. Barceló D., S. Chiron, A. Fernández-Alba, A. Valverde and M. F. Aplendurada. 1996. Herbicide metabolites in surface water and groundwater. ACS Symposium Series. 630. American Chemical Society. Washinton DC. 253-273.
2. Barceló D. 1993. Environmental protection agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *Journal of Chromatography*. 643: 117-143.
3. Chiron S., A. A. Fernández and D. Barceló. 1993. Comparison of on line solid phase disk extraction to liquid-liquid extraction for monitoring selected pesticides in environmental waters. *Environ. Sci. Technol.* 27: 2352-2359.
4. Crescenzi, C., A. Di Corcia, M. Madbouly and R. Samperi. 1995. Pesticide stability studies upon storage in a graphitized carbon black extraction cartridge. *Environmental Science & Technology*, 29 (9): 2185-2190.
5. De la Colina C., F., Dánchez-Rasero, D. G., Cancela, T. E. Romero and A. Peña. 1995. Use of a solid phase extraction method for the analysis of pesticides in groundwater by gas chromatography with electron capture and flame photometric detector. *Analyst*. 120: 1723-1728.
6. De la Colina C., H. A. Peña, G. Dios Cancela and S. F. Rasero. 1993. Determination of organophosphorous and nitrogen containing pesticides en water samples by solid phase extraction with gas chromatography and nitrogen phosphorus detection. *J. Of. Chromatography*. 655: 127-132.
7. Di Corcia A. and M. Manchetti. 1992. Method development for monitoring pesticides in environmental waters: liquid-solid extraction followed by liquid chromatography. *Env. Sci. Tech.* 26: 66-74.
8. Di Corcia A., R. Samperi, A. Marcomini and S. Stelluto. 1993. Graphitized carbon black extraction cartridges for monitoring polar pesticides in water. *Anal. Chem.* 65: 907-912.
9. EC Council Directive Relating to the quality of water intended for human



- consumption (1980/778/EEC), off. J. Env. Commun. N°L 229/11-29.
10. Ferrando, W.D., Alarcon, V., Fernandez-Casalderrey, A., Gamón, M. And E. Andreu-Moliner. 1992. Persistence of some pesticides in aquatic environment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 48: 747-755.
  11. Font, G., J. Mañez, J.C. Molto and Y. Pico. 1993. Solid phase extraction in multiresidue pesticides analysis of water. J. of Chromatographic Science. 642: 135-161.
  12. Gaceta Oficial de la Republica de Venezuela. 1992. Año CXIX-Mes IV. N°34892.
  13. Gil Garcia M., G.M., Martinez, E.M. Pablos, F.A. Garrido and J.L. Martinez Vidal. 2000. Determination of binary and ternary mixtures of pesticides in wetland waters by gas chromatography using partial least squares analysis. Journal of AOAC 83 (5): 1068-1075.
  14. Holland, P., D. Mcnaughton and C. Malcolm. 1994. Multiresidue analysis of pesticides in wines by solid-phase extraction. of AOAC 77 (1), 79-86.
  15. Kobayashi H., K. Ohyama, N. Tomiyama, Y. Jimbo, O. Matano and S. Goto. 1993. Determination of pesticides in river water by gas chromatography mass spectrometry-selected-ion monitoring. of chromatography. 643: 197-202.
  16. Mc Donnel T., J. Rosenfeld and A. Rais-Firouz. 1993. Solid-phase sample preparation of natural water with reserved-phase disks. J. of Chromatography. 629: 41-53.
  17. Medina D., A. Prieto, G. Ettiene. I Buscema and A. De Vargas. 1999. Persistence organophosphorus pesticide residues in Limon River waters. Bull. Contam. Toxicol. 63: 39-44.
  18. Miliadis G. E. 1993. Gas chromatographic determination of pesticides in natural waters of Greece. Bull. Env. Contam. Toxicol. 50: 247-252.
  19. Picó Y., J.C. Moltó, M. Redondo, E. Viana, J. Manes and G. Font. 1994. Monitoring of the pesticide levels in natural waters of Valencia Community (Spain). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53: 230-237.
  20. Primo, Y. y D. Carrasco. 1977. Química Agrícola II, Plaguicidas y fitorreguladores, Editorial Alhambra, S.A. Primera edición, España.
  21. Scott A., T.L. Senseman, J.D. Lavy, B.M. Mattice and W.S. Briggs. 1993. Stability of various pesticide on membranous solid-phase extraction media. Environ. Sci. Technol. 27: 516-519.