

Determinación de glifosato en muestras de agua en la Cuenca del Río Catatumbo

José Manuel Sánchez^{1*}, Gretty Ettiene² y Zulay Rivas¹

¹Calle 134 entre Av. 17 y 25 C, N° 17-300, Sector Plaza de las Banderas, Edificio ICLAM.

²Facultad de Agronomía, Departamento de Química, Universidad del Zulia

Recibido: 02-12-04. Aceptado: 31-05-05

Resumen

El glifosato es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, utilizado para eliminar malezas indeseables (pastos anuales y perennes, hierbas de hoja ancha y especies leñosas) en ambientes agrícola, forestales y paisajísticos. Es el herbicida empleado en el plan Colombia desde el año 2001, para la erradicación de los cultivos de amapola. Estas fumigaciones constantes realizadas específicamente al norte de Santander pueden afectar a los ríos Zulia y Tarra los cuales desembocan directamente en el río Catatumbo. Por esta razón se consideró necesario evaluar los niveles residuales de glifosato en muestras de aguas del río Catatumbo. Se aplicó un método de extracción líquido-líquido para eliminar los compuestos orgánicos de las muestras de agua empleando diclorometano. La fase acuosa conteniendo el glifosato fue concentrada a un volumen final de 5 mL por evaporación con rotavapor. La cuantificación para la determinación de glifosato en las muestras de agua del río Catatumbo se realizó por cromatografía iónica con un detector de conductividad. El eluente contenía 9 mmol/L de Na₂CO₃ y 4 mmol/L de NaOH. Se obtuvo límites de detección de 62 µg/L para el instrumento y 3,1 µg/L para el método analítico. La desviación estándar relativa (RSD) entre corrida fue de 4,32% y entre muestra 8,40%. El coeficiente de correlación de la curva fue de 0,998. Los iones inorgánicos comunes no interfirieron en el análisis. El promedio de recuperación para el glifosato en las muestras reales de agua fue de 99 ± 6%. No se detectaron niveles residuales de glifosato en las muestras de agua analizadas en los diferentes puntos de muestreo del río Catatumbo.

Palabras clave: Análisis ambiental; cromatografía iónica; glifosato; herbicida; río Catatumbo.

Determination of glyphosate in water samples in the catatumbo river

Abstract

Glyphosate is the active ingredient in herbicides and is widely used in various applications for weed and vegetation control. The glyphosate is the herbicide used in the Colombia plan from year 2001, for the eradication of the poppy cultures. These constant fumigations made specifically to the north of Santander can affect the rivers Zulia and Tarra which end directly at the Catatumbo river. Therefore it was considered necessary to evaluate residual levels of glyphosate in

* Autor para la correspondencia. E-mail: jsanchez@ICLAM.gov.ve; jmsp_sanchez@hotmail.com; Teléfono: 0416-8603553; 0261-2007208.

water samples of the Catatumbo river. A method for the determination of glyphosate in water was developed with the emphasis on the clean-up procedure. The organics compounds in the water were extracted with dichloromethane and the sample was concentrated by rotary evaporation. The determination of glyphosate was achieved by means of ion chromatography with suppressed conductivity detection. The eluent contained 9 mmol/L Na_2CO_3 and 4 mmol/L NaOH. The detection limits of the instrument were $0.062\mu\text{g}/\text{mL}$, $1.24\mu\text{g}/\text{L}$ for water. A RSD of 4.32% and 8.40% was found for the within and between run precisions. The correlation coefficient of the calibration curve for peak height was 0.998. Common inorganic ion did not interfere. The recovery was $99 \pm 6\%$ for water. Residual levels of glyphosate in the samples of analyzed water in the different points from sampling were not detected.

Keywords: Environmental analysis; glyphosate; herbicide; ion chromatography; Catatumbo river.

Introducción

Los herbicidas son los principales grupos de plaguicidas usados en la agricultura, siendo aplicados en los suelos o en muchos casos transportados a los suelos después de su aplicación. Esto puede ocasionar la contaminación de los sistemas acuáticos (1).

Los factores más importantes en el transporte de los herbicidas hacia los cuerpos de agua naturales son la dispersión aérea por los vientos, la volatilización y el arrastre por aguas de lluvia y riego, causando daños o efectos adversos a los organismos acuáticos. La acción tóxica de los herbicidas, en los sistemas acuáticos es función de la concentración de los mismos y del tiempo que permanecen sin ser degradados por el medio ambiente. Los riesgos en el uso de los herbicidas no solo dependen de la toxicidad, sino también, de la concentración y circunstancias en que se empleen, del tiempo y la continuidad en que las personas, animales y la fauna estén expuestos al producto (2).

La contaminación de fuentes no puntuales en aguas superficiales y aguas subterráneas por herbicidas constituye un problema ambiental importante en las últimas décadas. Si bien, avances significativos se han hecho para controlar la contaminación en fuentes puntuales, poco progreso se ha obtenido en las áreas de contaminación de fuentes no puntuales en aguas superficiales

y aguas subterráneas. Esto debido a la temporada, variabilidad inherente y multiplicidad de orígenes de la contaminación por fuentes no puntuales (3).

La persistencia de los residuos de herbicidas en el suelo y su movimiento en el sistema agua-suelo es un aspecto clave de su comportamiento en el ambiente. Los herbicidas son primeramente trasladados del campo a las aguas superficiales por las aguas de lluvia. Las cantidades perdidas en el campo y transportadas a las aguas superficiales dependen de varios factores, incluyendo las características del suelo, topografía, climatología, prácticas agrícolas y de las propiedades químicas y ambientales de cada herbicida. Los efectos combinados de estos factores, en magnitudes de espacio y tiempo de las concentraciones de los herbicidas que fluyen íntegramente a lo largo del sistema del río son en parte desconocidos. Las reacciones químicas y el desplazamiento físico influyen en la persistencia de estos químicos en el suelo, pero con diferentes implicaciones ambientales. Cuando los químicos son suficientemente resistentes a la degradación y son adecuadamente solubles para ser transportados en el agua, pueden reaccionar cantidades significativas con la misma. Las lluvias y el transporte de los ríos son los principales procesos involucrados en la transferencia de agua-suelo de estos químicos (3, 4).

El glifosato es un tipo de ácido amino que tiene un grupo fosfato fuertemente ionizable, como resultado de esto, sus constantes de disociación pK_{a1} , pK_{a2} , pK_{a3} y pK_{a4} son 0,78, 2,29, 5,96 y 10,98, respectivamente, por lo que es un compuesto hidrofílico (5). Esto es notable por la estructura zwitterion (compuesto neutral que tienen unidad formal de cargas eléctricas de signos opuestos) del glifosato de pH 1 a 10, el cual acrecentará la habilidad de este compuesto para ser extraído por mecanismos de intercambio iónico (6). Por lo tanto, es posible analizar el glifosato usando la cromatografía iónica por derivatización post-columna y detector UV. La determinación de glifosato por cromatografía iónica con un detector supresor de conductividad ha sido poco reportada (5).

El sistema hidrográfico del río Catatumbo constituye una cuenca binacional, la cual es compartida por la República de Colombia y la República Bolivariana de Venezuela en porcentajes del 70 y 30%, respectivamente. Nace al este de la cordillera oriental de Colombia, en el departamento del norte de Santander y abarca un área de 25.565 Km² hasta la desembocadura del río en el Lago de Maracaibo, de los cuales 16.243 Km², pertenecen a Colombia. El Río Catatumbo geográficamente se encuentra ubicado entre las coordenadas 72°45'00"y 73°26'19" de longitud Oeste y entre 7°46'30" y 9°31'05" de latitud Norte. Sus límites geográficos son: Por el Norte la Sierra de Perijá en la República de Colombia y la Cuenca del río Santa Ana, la Ciénega de Juan Manuel y la Sierra de Perijá en territorio venezolano. Por el Sur, los Andes colombianos. Por el Este, la Cuenca del río Escalante y la Cordillera de Mérida. Por el Oeste, la Cuenca de los ríos Magdalena, Ciénega de Castillo y la laguna de Zapatosa en territorio colombiano. El sistema del río Catatumbo se puede dividir en tres grandes sub-cuencas; la del río Zulia, la del río Tarrá-Socuavo y la del río Catatumbo.

En este trabajo se determinaron los niveles residuales de glifosato en muestras de agua de la cuenca del río Catatumbo me-

diante la técnica de cromatografía iónica previa etapa de extracción.

Parte Experimental

Muestreo

Las zonas estudiadas las constituyeron el río Catatumbo y sus afluentes (Figura 1). Como criterio para seleccionar las estaciones a muestrear se consideró: 1) Fácil acceso a los sitios de muestreo, 2) Mayor cobertura del problema y 3) Confluencia de ríos.

Se seleccionaron 6 estaciones de muestreo (Tabla 1), los cuales reflejan los problemas derivados por la alta cuenca proveniente de Colombia y la explotación agrícola.

Se realizaron 4 muestreos en las 6 estaciones por un período de un año (2002), tomando en cuenta las épocas de sequía (Enero-Marzo, Julio-Agosto) y lluvia (Mayo-Junio, Octubre-Noviembre), predominantes en la zona. Se recolectaron en total 144 muestras de agua.

Recolección de las muestras

En cada estación se capturaron en forma aleatoria las muestras de agua por duplicado con una frecuencia diaria, durante tres días. Las muestras son de tipo compuesta e integradas con la columna de agua del río. Compuestas porque se capturaron sucesivamente tres muestras parciales, una en el centro del cauce del río y las otras dos en el punto de la corriente más cercano a cada margen, para luego ser mezcladas. A las mismas se les midió pH y temperatura en el sitio de muestreo utilizando un HYDROLAB (QUANTA).

Extracción del glifosato

La extracción se realizó siguiendo el procedimiento desarrollado por Yan Zhu y colaboradores (5). Para la extracción de glifosato en agua se utilizó 250 mL de la muestra, se paso por una membrana de filtro de 0,45 μ m de poro (MILLIPORE) para eliminar la cantidad de sedimento suspendido, luego se realizó una extracción con 100 mL de diclorometano (Burdick Jacsonck, grado

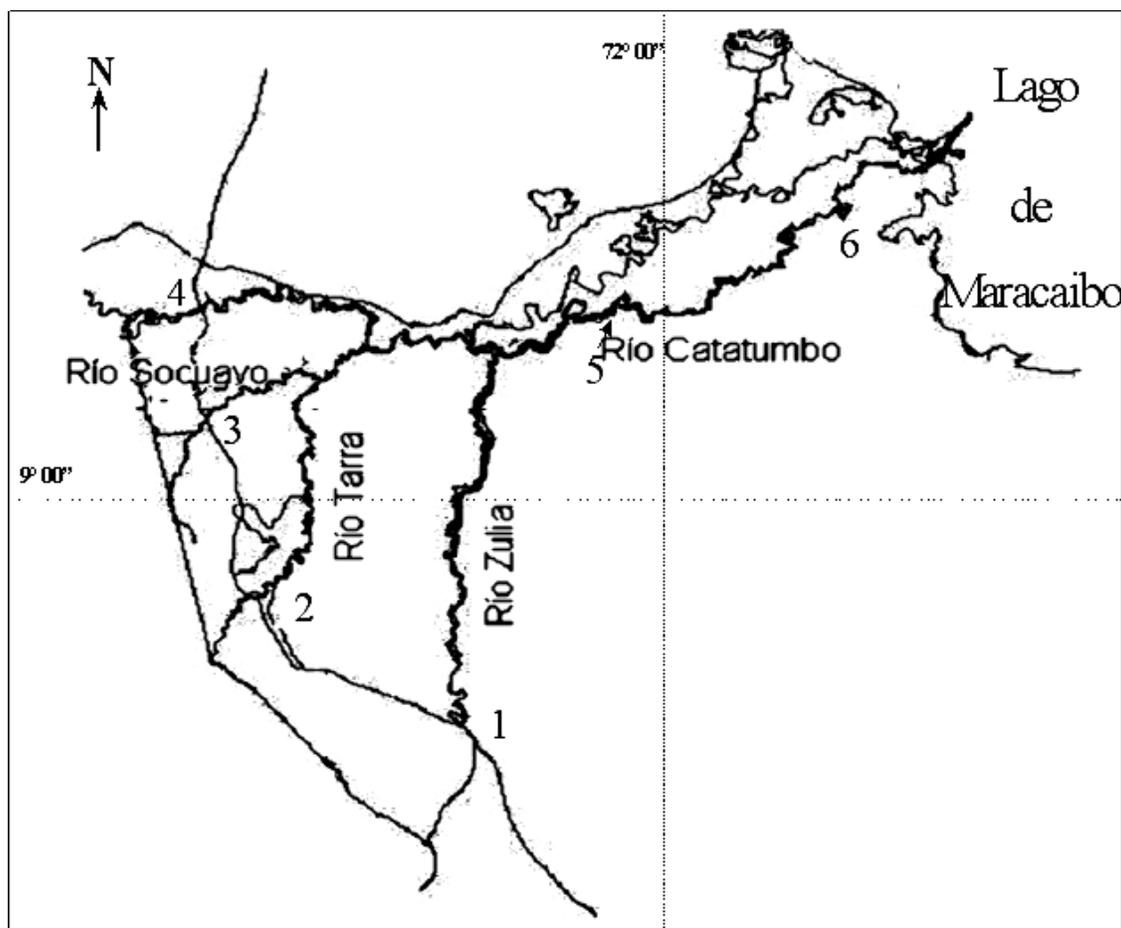


Figura 1. Ubicación de las Estaciones de Muestreo: 1. (RZPV: Río Zulia, Puente Venezuela); 2. (RTPP: Río Tarra, Puente Perú); 3. RSPP: (Río Socuayo, Puente Paraguay); 4. (RCPE: Río Catatumbo, Puente Ecuador) 5. (RCSB: Río Catatumbo, Sector Borrachera) y 6 (RCST: Río Catatumbo, Sector Tasajeras).

HPLC) para remover los compuestos orgánicos. La fase acuosa conteniendo el glifosato fue concentrado a un volumen de 5 mL por evaporación con un rotavapor (marca BÜCHI modelo R-144 con un baño de agua modelo waterbath B-480).

La eficiencia en la extracción de glifosato en agua se evaluó mediante el estudio de recuperación. Se usaron muestras de agua de los diferentes puntos de muestreo del río, a los cuales se fortalecieron con cantidades conocidas de glifosato 5, 15 y 30 ppm (adi-

ción estándar). El promedio de recuperación para el glifosato en las muestras reales de agua fue de $99 \pm 6\%$, para $n= 18$.

Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico se realizó empleando las mismas condiciones instrumentales planteadas por Yan Zhu y colaboradores (5). Se utilizó un cromatógrafo iónico marca DIONEX, modelo System 2000i/SP equipado con una columna iónica AS4A-SC de 4 mm, una pre-columna AG4A-SC de 4 mm, un supresor regenerador ASRS-I de 4

Tabla 1
Sitios de muestreo de la Cuenca del Río
Catatumbo

| Sub-Cuencas | Estación |
|---------------|-------------------------------------|
| Río Catatumbo | 1) Puente Ecuador |
| Río Tarra | 2) Puente Paraguay |
| Río Socuavo | 3) Puente Perú |
| Río Zulia | 4) Puente Venezuela |
| Río Catatumbo | 5) Río Catatumbo (La borrachera) |
| | 6) Río Catatumbo (Tasajera) |

mm y un detector de conductividad utilizado a 30 μ S. Se prepararon por dilución adecuada patrones acuosos del herbicida en concentraciones comprendidas entre 2 y 50 ppm, partiendo de una solución Stock de 2000 ppm, la cual se preparó por pesada a partir de la sal pura de glifosato con un 99 \pm 0,5% de pureza (Chem Service, Inc.).

Un desionizador marca MILLIPORE modelo Milli-Q A10, se utilizó para obtener agua libre de iones. En todos los casos el agua empleada para la preparación de los patrones presentó una conductividad de 0,056 μ S/cm a 25°C y una resistividad mínima de 18 M Ω /cm.

Adicionalmente, se evaluaron los tiempos de retención de los iones inorgánicos: ortofosfatos (PO_4^{3-}) 0,81 ppm, nitritos (NO_2^-) 1,0 ppm, cloruros (Cl) 34,74 ppm, sulfatos (SO_4^{2-}) 9,74 ppm, fluoruros (F) 18,77 ppm, nitratos (NO_3^-) 0,419 ppm, con la finalidad de descartarlos como posibles interferencias en el tiempo de retención de glifosato. Como la sal de glifosato es medianamente ácida y de fuerte retención, se seleccionó un eluente fuerte y de alto pH 11,44 (carbonato de sodio (Na_2CO_3) y el hidróxido de sodio (NaOH)). Se utilizó como eluente una mezcla de 9 mmol/L de Na_2CO_3 y 4 mmol/L de NaOH (5) a un flujo de 1 mL/min. El volumen de inyección fué de 10 μ L para patrones

y muestras. Los resultados se adquirieron empleando un integrador marca Dionex, modelo 4400.

La curva de calibración se preparó desde 2 hasta 50 ppm (rango dinámico), el cual se preparó a partir de la sal de 99 \pm 0,5% de pureza (Chem Service, Inc.), la misma se determinó por altura de pico. La ecuación de la regresión lineal fue:

$$H = 3354x + 1347, r = 0,998$$

donde H es la altura de pico, x la concentración (ppm) y r es el coeficiente de correlación.

Debido a que el glifosato es un compuesto multivalente que posee grupos funcionales cargados positivamente (grupo amino secundario) o negativamente (grupo carboxílico y fosfórico) en soluciones acuosas, la influencia del pH en la solución de glifosato es un factor muy importante en la eficiencia de la extracción y el análisis (5).

Resultados y Discusión

Una vez seleccionado el eluente (9 mmol/L de Na_2CO_3 y 4 mmol/L de NaOH) se realizaron corridas de un blanco y de patrones acuosos de glifosato de diferentes concentraciones para obtener el tiempo de retención del mismo, el cual fué de 8,43 \pm 0,11 min. Los tiempos de retención del glifosato disminuyeron ligeramente al aumentar la concentración del mismo.

Los compuestos no ionizables o débilmente ionizables con pKa mayores a 7,0 no afectan la determinación de glifosato porque casi no tienen conductividad. Los resultados indicaron que no hay interferencias de aniones inorgánicos comunes tales como cloruros, fosfatos, nitrato, nitrito, sulfato, porque sus tiempos de retención son muy cortos en relación al tiempo de retención del glifosato (Tabla 2). Por esta razón, esta técnica de análisis presenta una buena selectividad. Cabe destacar que los aniones inorgánicos arriba mencionados fueron evalua-

dos por otros métodos en agua, por lo que fue necesario conocer sus tiempos de retención en relación con el glifosato.

Se realizaron estudios de precisión entre corridas (repetibilidad) y entre muestras (reproducibilidad) para la determinación de glifosato en muestras de agua. Se analizaron tres alícuotas por cada muestra y se evaluaron por triplicado. La desviación estándar relativa (RSD) entre corridas fue de 4,32% y entre muestra fue de 8,4% para el agua, lo que muestra una buena repetibilidad y reproducibilidad del análisis. Una solución estándar de glifosato de 10 ppm fue utilizada para evaluar la repetibilidad del equipo. El RSD de los datos analíticos para 5 inyecciones fue de 1,05% lo que muestra una alta precisión. Los límites de detección fueron de 62 $\mu\text{g/L}$ para el instrumento, 3,1 $\mu\text{g/L}$ para el método.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de glifosato en los diferentes puntos de muestreo y épocas del año para las muestras de agua, encontrándose por debajo del límite de detección. Esto indica que el río no ha sido afectado por el uso indiscriminado de glifosato que se está empleando para la eliminación de la amapola en Colombia y en los cultivos para controlar la maleza.

En la Tabla 4 se observan los límites permisibles de glifosato establecidos por algunas organizaciones mundiales en varios tipos de agua. Es importante destacar que las normas venezolanas no contemplan este herbicida. Comparando los resultados obtenidos de glifosato en agua con los valores permitidos por la EQGs de Canadá para los tipos de agua de vida acuática y agrícola, estos ríos pueden ser usados para tal fin ya que los valores obtenidos de glifosato en estos ríos están por debajo de los límites permisibles según lo establecido por esa guía.

El agua de estos ríos podría ser usada para agua potable, previo tratamiento, debido a que las concentraciones obtenidas de

Tabla 2
Tiempos de retención de algunos iones inorgánicos

| Aniones | Tiempo de retención (min.) |
|--------------------|----------------------------|
| PO_4^{3-} | 4,69 |
| NO_2^- | 2,32 |
| SO_4^{2-} | 3,22 |
| F^- | 1,83 |
| Cl^- | 2,16 |
| NO_3^- | 3,33 |
| Glifosato | 8,43 |

Tabla 3
Resultados de glifosato en las muestras de agua de los diferentes sitios y épocas de muestreo del río Catatumbo

| Puntos de muestreo | Épocas del año | |
|--------------------|---|---|
| | Sequía (Enero-Marzo, Julio-Agosto 2002) | Lluvia (Mayo-Junio, Octubre-Noviembre 2002) |
| | Agua ($\mu\text{g/L}$) | Agua ($\mu\text{g/L}$) |
| RTPP | < 1,24 | < 1,24 |
| RCPE | < 1,24 | < 1,24 |
| RCSB | < 1,24 | < 1,24 |
| RCST | < 1,24 | < 1,24 |
| RSPP | < 1,24 | < 1,24 |
| RZPV | < 1,24 | < 1,24 |

glifosato están por debajo de los límites permisibles por las diferentes guías internacionales de calidad de agua, excepto la Unión Europea cuyo límite es 0,1 $\mu\text{g/L}$.

Conclusiones

La cromatografía iónica con supresor de conductividad (método electroquímico)

Tabla 4
Límites permisibles por algunas organizaciones Mundiales

| Tipo de muestra | (EQGs) Guía de la Calidad Ambiental Canadiense, 2002 (µg/L) | EEC, Unión Europea, 1998 (µg/L) | USEPA, Estados Unidos, 2000 (µg/L) | Estándar Nacional y Guía para pesticidas en agua. Alemania, 1994 (µg/L) |
|--------------------------|---|---------------------------------|------------------------------------|---|
| Agua Potable | 280 | 0,1 | 700 | 700 |
| Agua: Vida acuática | 65 | - | - | - |
| Agua: Agricultura (cría) | 280 | - | - | - |

es un método eficaz para la determinación de glifosato en muestras acuosas ambientales, con una simple etapa de limpieza.

El método de extracción empleado permitió extraer el glifosato del agua con recuperaciones de $99 \pm 6\%$.

Los resultados obtenidos de las muestras de agua del Río Catatumbo en los diferentes periodos de lluvia y sequía indicaron que el río todavía no ha sido afectado por el uso indiscriminado del glifosato utilizado en la erradicación de los cultivos de Amapola en Colombia, para el periodo de muestreo.

Agradecimiento

Los autores agradecen todo el apoyo y el financiamiento recibido del proyecto ALM-1998-02, aprobado por la Agenda de Investigación Ambiental para la Cuenca del Lago de Maracaibo: Iniciativa Regional, desarrollado por el convenio Petróleos de Venezuela (PDVSA), Fondo Nacional para la Ciencia y Tecnología (FONACIT) y el Instituto

para la Conservación del Lago de Maracaibo (ICLAM).

Referencias Bibliográficas

1. SÁNCHEZ-BRUNETE C., PÉREZ R.A., MIGUEL E., TADEO J. *Journal of Chromatography A* 823: 17-24, 1998.
2. FERRANDO M., ALARCÓN A., FERNÁNDEZ A., GAMON M., MOLINER-ANDREU E. *Bull Environ Contam Toxicol* 48: 747-755, 1992.
3. ALBANIS T. A., HELA D. G., SAKELARIDES T. M., KONSTANTINOU Ik. *Journal of Chromatography A* 823: 59-71, 1998.
4. BABIC S., PETROVIC M., KASTELAN-MACAN M. *Journal of Chromatography A* 823: 3-9, 1998.
5. YAN Z., EIFANG Z., CHANGLUN T., WEIPING L. *Journal of chromatography A* 850: 297-301, 1999.
6. MALLATE., BARCELÓ D. *Journal of Chromatography A* 823: 129-136, 1988.