

INFLUENCIA DEL METODO DE EXTRACCION EN LA RECUPERACION DE CLOROTALONIL Y ETIL CLORPIRIFOS EN FRIJOL

Phaseolus vulgaris

C. López¹, M. Zapata¹,
A. Guzmán¹, G. Ramírez²

RESUMEN

Los métodos de análisis de residuos de plaguicidas hacen énfasis en la utilización de la licuadora para mezclar y homogenizar las muestras. Este procedimiento trajo muchos problemas cuando la matriz a analizar fue el frijol cargamanto. Se optó entonces por probar la extracción utilizando ultrasonido. Los porcentajes de extracción mejoraron con este método.

ABSTRACT

The analysis methods of pesticides residues make emphasis in the use of the blender to mix and homogenize the sample. This procedure presents troubles when the sample's matrix are

beans. Instead of it, we used sonicate extraction. This method gives higher percent of extraction.

PALABRAS CLAVES: Clorotalonil, clorpirifos, GC-ECD, licuadora, ultrasonido, residuos, pesticida, inyección con división de flujo.

KEY WORDS: Chlorothalonil, chlorpyrifos, GC-ECD, pesticides.

INTRODUCCION

El clorpirifos [0,0-dietil 0-(3,5,6-tricloro-2-piridilfosforotioato)] conocido comercialmente como

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Laboratorio de Análisis de Residuos de plaguicidas, A. A. 1226, Medellín, COLOMBIA

² Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Laboratorio de Análisis de Residuos de plaguicidas, A. A. 1226, Medellín, COLOMBIA.

LORSBAN Y DURSBAN, es un insecticida organofosforado registrado por la DOW CHEMICAL COMPANY en 1965. Toxicológicamente catalogado en categoría III con DL_{50} de 160 mg/kg, es moderadamente persistente en suelos y efectivo contra larvas de mosquitos, mosca común, mosca de la raíz de la col, áfidos etc. Los clorpirifos son derivados del ácido fosfórico y pueden ser metil o etil, ambos con acción plaguicida.(1)

Por su parte el clorotalonil (2,4,5,6-tetracloroisofaltonitrilo) es el ingrediente activo del fungicida comercialmente conocido como DACIONIL BRAVO (Diamond Shamrock Corporation). Se registró en 1969 por su efectividad para el control de plagas que atacan la papa; mas tarde se empezó a usar en pastos, flores, semillas y vegetales. Su actividad fungicida se atribuye a su acción como agente alquilante sobre los tioles celulares (2). Está clasificado según su toxicidad en categoría III, con una LD_{50} de 96 mg/Kg

Los pesticidas analizados sufren descomposición por factores como la temperatura, el pH y el solvente utilizado para la extracción. El clorpirifos sufre incremento de la hidrólisis a medida que aumenta el pH y la temperatura. Los productos de degradación son el [0,0-diethyl-0-(3,5,6-tricloro-2-piridinil) fosfato] y el 3,5,6-tricloro 2 piridinol.(3). Por su parte, el

clorotalonil según Baller y col (2) se degrada notablemente en suelos húmedos y a pH de 9.0. Los posibles productos de degradación son el 4-hidroxi-2,5,6-tricloroisofaltonitrilo y el 3-ciano-2,4,5,6-tetraclorobenzamida. Ensayos realizados disolviendo el clorotalonil en metanol y acetona mostraron que el primero virtualmente descompone el producto en tanto que en acetona se produce un 30% de disminución en la respuesta.(4)

El primer paso en los métodos de análisis de residuos implica una extracción del analito. La realización de este proceso utilizando licuadora de alta velocidad, se ha convertido en una operación estándar en la cual el tamaño de partícula de la muestra se reduce, aumentando de esta forma la interacción entre la muestra y el solvente de extracción, lo cual conlleva a la obtención de resultados analíticos aparentemente altos. No obstante, en nuestro caso particular, se observó que cuando la muestra era frijol cargamento seco, los porcentajes de recuperación obtenidos eran muy bajos, independiente del solvente utilizado, acetona o acetonitrilo. Se ha señalado que la descomposición del clorotalonil en el frijol se inicia desde la molienda (5) y que el proceso de degradación comienza, cuando los residuos del pesticida sobre la superficie del frijol, son puestos en contacto con los compuestos naturales por la trituración o licuada de la muestra. Con el fin de comprobar esta hi-

pótesis se optó por utilizar como medio alterno de extracción el ultrasonido y comparar los resultados obtenidos por ambos métodos; se utilizaron como solventes la acetona y el acetonitrilo.

PARTE EXPERIMENTAL

REACTIVOS

Los pesticidas clorotalonil, metil clorpirifos y etil clorpirifos con pureza mayor del 99%, se adquirieron de CHEM SERVICE. Las soluciones patrón se prepararon en hexano y se preservaron a 4°C. Los solventes utilizados con pureza del 99.4% para análisis de residuos orgánicos: hexano, acetona y acetonitrilo, fueron obtenidos de J.T.BAKER. Para secar los extractos se utilizó sulfato de sodio anhidro del 99.5%, de Carlo Erba.

EQUIPO

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases HP 5890 series IIA Plus, equipado con inyector split-splitless, detector de captura de electrones (ECD) con fuente de Ni-63, programador electrónico de presión (EPC) y software de cromatografía HP 3365 Analyzer 1. Se utilizó una columna capilar Rtx-1 (100% dimethylpolysiloxano) de 30 m de longitud, diámetro interno de 0.53 mm y espesor de 1µm de RESTEK Corporation.

El helio se usó como gas portador a un flujo de 5.00 mL/min por columna y como gas auxiliar se utilizó nitrógeno. El flujo total a la salida del detector fue de 60.0 ml/min. Las temperaturas de trabajo fueron: horno 200°C, inyector 270°C y detector 300°C. El tiempo durante el cual la válvula de división de flujo permaneció cerrada fue de 30 segundos.

El frijol, antes de su extracción, se molió finamente en un molino de dientes marca Condux-Werk Wolfgang Bel Hanau tipo LV 15M. La extracción se realizó en un equipo de ultrasonido marca Ultrasonic Cleaner ULB-220, y en una licuadora a prueba de explosión marca Waring modelo 34BL97. La concentración de las muestras extraídas se realizó en un rotaevaporador marca Buchi modelo B-480.

PROCEDIMIENTO

EXTRACCION CON ULTRASONIDO

Los estudios de recuperación utilizando el ultrasonido se realizaron de acuerdo al siguiente procedimiento:

10 g de frijol exactamente pesados y finamente molidos se doparon con 200 µL de soluciones patrón de 5 ppm de clorotalonil y etil clorpirifos. Inmediatamente se extrajo la muestra con 25

ml. de acetona, dejándola 20 minutos en agitación con ultrasonido. La muestra extraída se filtro al vacío, utilizando papel Schleicher & Schuell 595. Los lavados se realizaron con 5 porciones de 5 ml del mismo solvente. Los extractos obtenidos se llevaron hasta casi sequedad, por rotaevaporación a temperatura entre 30-35°C. Posteriormente se redisolvieron en hexano; antes de aforar a 25 ml. se agregaron 200 µL de metil clorpirifos de 5 ppm, como estándar interno. Los extractos se analizaron por cromatografía gaseosa, previo secado con aproximadamente 2 g de sulfato de sodio anhidro; se utilizó el modo de inyección sin división de flujo. El volumen inyectado fue de 2.0 µL.

Este mismo procedimiento se empleó utilizando acetonitrilo como solvente de extracción. La tabla # 1 muestra los porcentajes de recuperación promedios obtenidos con cada uno de los solventes y la desviación estándar resultante de tres réplicas por nivel. Como límite de detección se empleó la señal mínima detectable en un blanco de frijol: 0.003 ppm para el clorotalonil y de 0.0029 para el etilclorpirifos. Ver figura #1.

EXTRACCION CON LICUADORA

La extracción utilizando licuadora se efectuó siguiendo el procedimiento que se describe a continuación:

10 g muestra de frijol pesados exactamente y finamente molido se doparon con 200 µL de clorotalonil y etil clorpirifos de 5 ppm. Inmediatamente se extrajeron, pasando la muestra de frijol al vaso de la licuadora donde se agregaron 25 ml. de acetona. Antes de tapar el vaso, sobre la boca del mismo, se colocó papel de aluminio, lavado previamente con acetona y hexano. La muestra se agitó durante 15 s, manteniendo la velocidad en posición 1. Una vez licuada la muestra, se filtro al vacío; los lavados se realizaron con aproximadamente 25 ml. de solvente, en porciones de 5 ml. La muestra se redujo hasta casi sequedad rotaevaporando a temperatura entre 30-35°C; antes de aforar a 25 mL con hexano, se adicionaron 200 µL de metilclorpirifos de 5 ppm, como patrón interno. Este mismo procedimiento se empleó utilizando acetonitrilo como solvente de extracción.

Las muestras se analizaron por cromatografía gaseosa y se cuantificaron utilizando soluciones estándar. La figura # 2, corresponde al estándar de 0.04 ppm, en la cual los picos se presentan en el siguiente orden:

1. Clorotalonil, 2. Metil clorpirifos (estándar interno), 3. Etilclorpirifos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla 1. Porcentajes de recuperación promedio obtenidos utilizando acetona y acetonitrilo como solventes de extracción, y empleando como método de extracción licuadora y ultrasonido.

PESTICIDA	Nivel de dopado (ppm)	Solvente de extracción	%R +/- SD Licuadora	%R +/- SD Ultrasonido
Chlorothalonil	0.01	Acetona	82.0 +/- 0.02	107.0 +/- 0.17
	0.04	Acetona	63.0 +/- 0.12	84.0 +/- 0.031
	0.01	Acetonitrilo	66.0 +/- 0.07	87.0 +/- 0.18
	0.04	Acetonitrilo	36.0 +/- 0.02	68.0 +/- 0.07
Etilchlorpirifos	0.01	Acetona	66.0 +/- 0.02	101.0 +/- 0.11
	0.04	Acetona	39.0 +/- 0.05	75.0 +/- 0.023
	0.01	Acetonitrilo	39.0 +/- 0.03	103.0 +/- 0.12
	0.04	Acetonitrilo	28.0 +/- 0.02	88.0 +/- 0.04

El porcentaje de recuperación se determinó a partir de la relación entre la concentración del plaguicida encontrado después de la fortificación y extracción y, la concentración del patrón utilizado:

$$\%R = \frac{\text{Concentración del analito extraído} \times 100}{\text{Concentración del patrón}}$$

Los resultados de la tabla 1 muestran que los porcentajes de recuperación son mas altos cuando se utiliza el ultrasonido, lo cual se comprueba al aplicar el Test Student presentándose diferencia significativa entre los dos métodos ($P=0.001$), ésto sugiere que es más eficiente la extracción con ultrasonido. Así mismo se observa que el etilclorpirifos sufre mayor pérdida

cuando se extrae con licuadora. Sin embargo, estudios realizados sobre la eficiencia de la extracción de clorpirifos en naranjas, usando acetona y licuadora, mostraron eficiencias del 90%.(6). Los porcentajes de recuperación mayores del 100% se toman como válidos, teniendo en cuenta que la EPA acepta porcentajes de recuperación hasta del 130% en aguas.

Al analizar las figuras # 3 y 4 se observa que el acetonitrilo es mejor solvente de extracción, ya que por ser menos polar que la acetona arrastra menos interferencias. Por otra parte, se observa en la figura # 4, correspondiente a una muestra extraída con licuadora, un pico después de diez minutos, el cual se cree que proviene de algún componente de la tapa de la licuadora, ya que es difícil impedir que se pongan en contacto. Este efecto se observa con ambos solventes.

De la tabla 1 se observa que tanto la acetona como el acetonitrilo presentan porcentajes de recuperación semejantes durante la extracción con ultrasonido, se recomienda la acetona por su costo y baja toxicidad, además es más fácil la eliminación del solvente residual.

CONCLUSIONES

Para el análisis de los plaguicidas clorotalonil y etilclorpirifos en muestras de frijol cargamanto seco se recomienda utilizar como método de extracción el ultrasonido durante 20 min y la acetona como solvente.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Antioquia y a la Secretaría de Agricultura de Antioquia el apoyo financiero y logístico prestado para la realización de este proyecto y a las personas, que de una u otra forma colaboraron en la realización el mismo.

LABORATORIO ESPECIALIZADO DE ANALISIS (LEA)

Presta el servicio de verificación de la calidad a materias primas, medicamentos, alimentos, cosméticos y similares

Mayores Informes
En el Telefax: 210 54 56

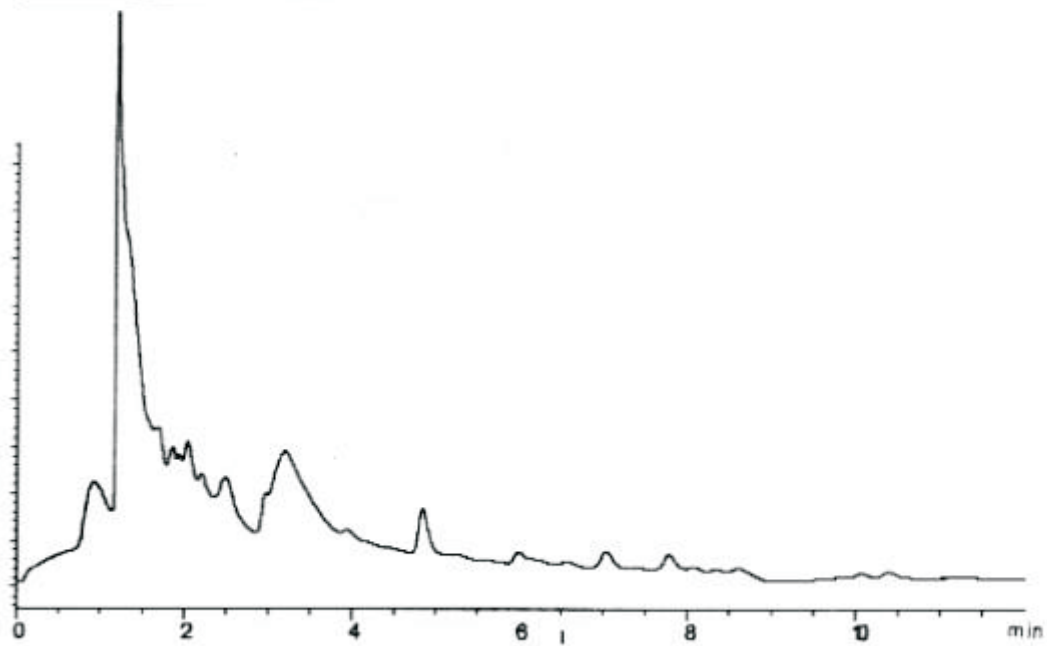


Figura 1. Blanco de Frijol

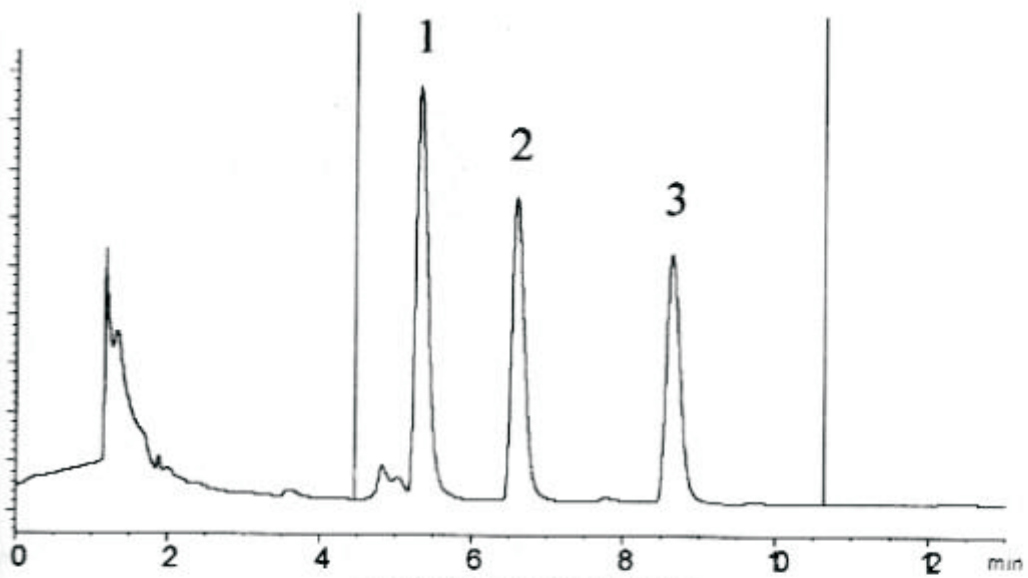


Figura 2. Estandar 0.04 ppm

Influencia del Método de Extracción en la recuperación de clorotalonil y etil clorpirifos en frijol

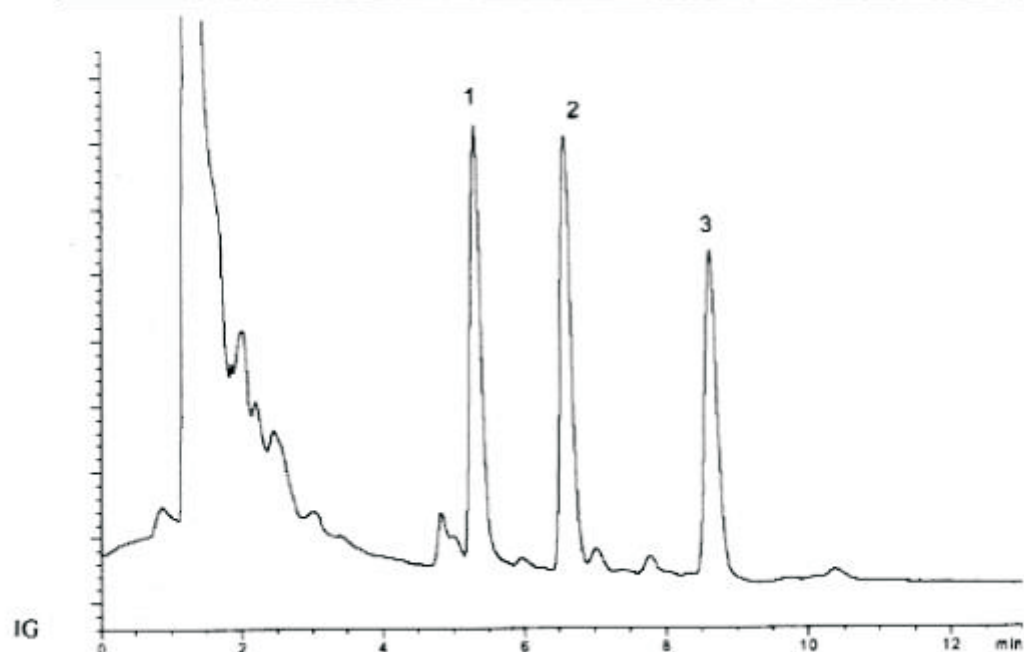


Figura 3. Muestra Extraída con Acetonitrilo en Baño Ultrasonico

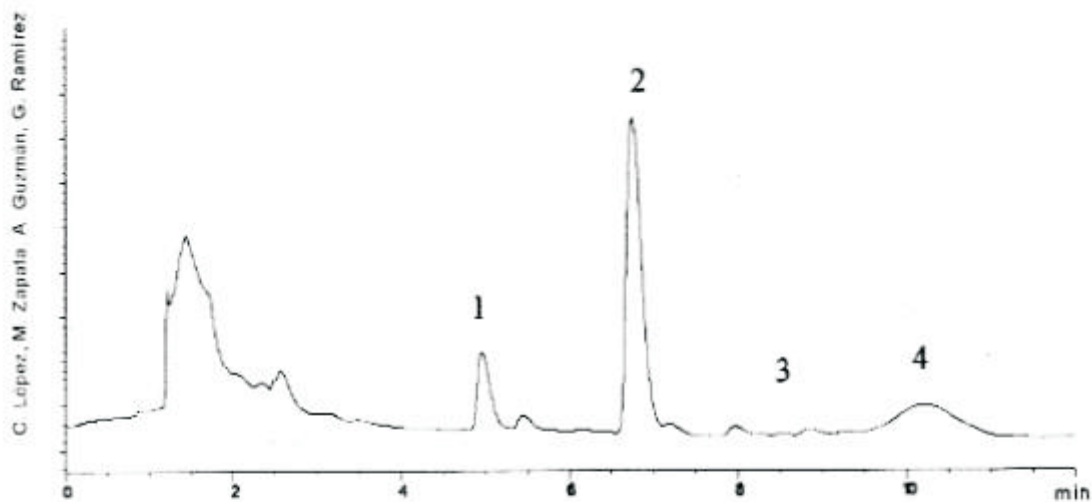


Figura 4. Muestra Extraída con Acetona en Licuadora

C. López, M. Zapala, A. Guzman, G. Ramirez

BIBLIOGRAFIA

- (1) Cremlyn, R. "Plaguicidas Modernos y su acción bioquímica", Ed. Limusa. Méjico (1986). Capítulo 6
- (2) Salkowski, Mary B., "Effect of pH on the Hydrolysis of Chlorothalonil" (1977), J. Agric. Food Chem. 25, 208-210.
- (3) Macalady, D.L., Wolfe, N. L., "New Perspectives on the Hydrolytic Degradation of the Organophosphorothioate Insecticide Chlorpyrifos. J. Agric. Food Chem (1983), 31, 1139-1147.
- (4) Cairns, T., Sherma, J., "Emerging Strategies for Pesticide Analysis" (1992) CRC Press Chapter 12
- (5) Zweig, G., Sherma Joseph "Pesticides and Plant Growth Regulators". (1986) Vol. XV.
- (6) Iwata, Y., O'Neal, J., Barkley, J. and al. "Chlorpyrifos Applied to California Citrus.: Residue Levels on Foliage and on and in Fruit". J. Agric. Food Chem (1983), 603-612.

**CENTRO DE INFORMACION Y DOCUMENTACION
DE MEDICAMENTOS, PRODUCTOS
NATURALES Y ALIMENTOS DE LA
UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
(CIDUA)**

Ofrece información actualizada, científica y especializada sobre medicamentos, productos naturales y alimentos, a los profesionales o entidades que forman parte del área de la salud y a todas las personas interesadas.

Mayores Informes en el Teléfono: 210 54 55