

Extracción y Clean-up para Análisis de Residuos de Pesticidas en Muestras de Agua y Material en Suspensión del Río de la Plata

LUCIO J. JANIOT * y OTMARO E. ROSES **

* Servicio de Hidrografía Naval, Armada Argentina, Montes de Oca 2124, (1271) Capital Federal, Argentina.

** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, (1113) Capital Federal y Hospital Naval Central "Cirujano Mayor Dr. Pedro Mallo", Patricias Argentinas 351, (1405) Capital Federal, Argentina.

RESUMEN. En esta nota se describe el procedimiento usado por los autores para la preparación de extractos y su posterior clean-up, de muestras de agua y material en suspensión del Río de la Plata, para análisis de plaguicidas clorados. Se mencionan procedimientos alternativos y algunos resultados obtenidos.

SUMMARY. "Extraction and Clean-up for Pesticide Residues Analysis in Suspended Material and Water Samples of the Río de la Plata". This note briefly describes procedures used by authors to carry out the extraction and clean-up of chlorinated pesticides in suspended material and water samples from the Río de la Plata. Some alternative procedures and results obtained are mentioned.

INTRODUCCION

Las muestras biológicas y del medio ambiente natural (agua, sedimentos, etc.) no se pueden analizar directamente para estudiar residuos de pesticidas, debido a que sus niveles suelen ser muy bajos y los de las sustancias interferentes demasiado altos. Usualmente y como etapa previa al análisis es necesario extraer los compuestos buscados, purificarlos y concentrarlos ¹.

Para la extracción se debe usar un solvente o una mezcla de solventes que tenga por lo menos un 80% de eficiencia, que sea lo suficientemente selectivo como para requerir un mínimo de limpieza del extracto y que no interfiera en la determinación final ².

Pese a las diferentes alternativas ofrecidas, algunos laboratorios optan por una técnica particular, ya sea por razones económicas o de disponibilidad de material y reactivos. La técnica empleada por nosotros es el motivo de esta nota.

nica particular, ya sea por razones económicas o de disponibilidad de material y reactivos. La técnica empleada por nosotros es el motivo de esta nota.

MATERIALES Y DROGAS

Material de vidrio

Es el que se describe en la metodología. A continuación sólo se detalla la forma de limpieza del mismo.

No volumétrico. Debe tratarse con mezcla sulfocrómica y lavarse con solución tibia de detergente, enjuagando varias veces con agua potable, destilada y acetona. Se seca en estufa a 300 °C Previo a ser usado se enjuaga dos veces con solvente de calidad nanogrado.

Volumétrico. Se procede como en el caso

PALABRAS CLAVE: Plaguicidas; Clean-up; Río de la Plata
KEY WORDS: Resticides; Clean-up; Río de la Plata

del material no volumétrico hasta el enjuague con acetona. Luego se lo hace con éter de petróleo y se seca por escurrimiento o por corriente de aire seco y tibio.

Filtros de vidrio

Se limpian por calentamiento en mufla a 480 °C.

Filtros de celulosa

Se extraen exhaustivamente en Soxhlet por varias horas, con los solventes que se usen para la extracción de la muestra.

Drogas

Son las que se consignan en la metodología. Se describen solamente las condiciones de pureza y su tratamiento.

Solventes

Deben ser de calidad "grado analítico para residuos de pesticidas", y se los controla por concentración 1:100 y análisis por cromatografía gaseosa. En caso de necesidad se los redestila con columna de fraccionamiento tipo "Vigreux" totalmente en vidrio.

Drogas sólidas

Sulfato de sodio, alúmina, sílice, etc., se limpian por calentamiento en mufla a efectos de destruir la materia orgánica y dar el grado de actividad adecuado en las que lo requieran.

Agua destilada

Debe ser libre de compuestos orgánicos (ésteres ftálicos, clorofenoles, etc.).

METODOLOGIA

Extracción de la fase acuosa

Se extrae la muestra en ampolla de decantación con tres alícuotas de hexano normal, a razón de 20 ó 30 ml cada una, por

litro de muestra. El solvente se agrega al recipiente que contenía originalmente la muestra para asegurar el arrastre de lo que quedara luego de trasvasarla a la ampolla. Después de cada agregado se agita enérgicamente durante dos minutos invirtiendo la ampolla y liberando la presión dos o tres veces. Se dejan decantar las fases durante diez minutos.

Los extractos se reúnen y se lavan con solución acuosa de cloruro de sodio al 5%. Generalmente presentan una emulsión que se puede romper en forma efectiva por congelamiento en dos etapas: se congela la emulsión hasta llegar a -15 °C, se la deja alcanzar nuevamente la temperatura ambiente y luego se la vuelve a congelar. La separación se produce con rendimiento cuantitativo.

Extracción del material en suspensión

Se filtra el agua por succión, recogiéndose aquél en filtros de fibra de vidrio o de celulosa. El diámetro de poro condiciona el rango de tamaño de partícula obtenido. Nosotros habitualmente usamos filtros de vidrio de 0,4-0,8 μm de tamaño de poro y filtros de celulosa de 0,45 μm . Los filtros secos por succión se pasan con pinzas metálicas (no contaminadas) al recipiente donde luego se efectúa la extracción. Esto se hace por agitación continua con el azeótropo acetona-hexano (59:41 v/v) o por reflujo en Soxhlet durante ocho a doce horas con la misma mezcla. Para algunos estudios en que se pueda trabajar con pequeñas cantidades de material en suspensión es conveniente separar las fases por centrifugación, con lo que se evita la interferencia del sistema de filtración y los filtros mismos, que obliga a blancos exhaustivos.

Tratamiento posterior a las extracciones

Los extractos obtenidos se concentran a pequeño volumen (1 ó 2 ml) en evapora-

dor rotatorio o "Kuderna-Danish"³. La limpieza de extractos se realiza usando alúmina neutra activada a 500-600 °C y desactivada con 5% (p/p) de agua destilada. Se utilizan columnas de 25 cm de largo por 1 cm de diámetro interno, con robinete de teflon, que se cargan con 8 a 9 gramos de alúmina y 1-2 gramos de sulfato de sodio en la parte superior.

La elución de los pesticidas de la columna se hace con hexano en dos agregados consecutivos. La cantidad total de solvente de elución es de un volumen de columna, entendiéndose por esto el volumen ocupado por el adsorbente. Para la columna descrita es de alrededor de 10 ml por cada fracción. En todos los casos es conveniente verificar el perfil de elución de la columna sembrando un estándar y eluyendo de la misma manera que las muestras.

ALGUNAS CONSIDERACIONES DE INTERES

1. En algunos extractos suele haber gran cantidad de pigmentos, de color amarillo o amarillo verdoso (probablemente carotenoides y/o clorofilas del fitoplancton). Al sembrar el extracto en la columna aparece la mancha en el tope de la misma. Con el volumen de elución usado en esta técnica, el corrimiento y separación de la mancha es suficiente como para separar los pigmentos de los pesticidas. Si algún eluato presentara una ligera coloración deberá usarse una segunda columna.

2. En las muestras en cuyo cromatograma pudiera aparecer un perfil de picos o picos individuales que hicieran sospechar de la presencia de bifenilos o terfenilos policlorados, se impone el uso de una columna de sílice a continuación de la de alúmina. En este caso debe tenerse presente que, dadas las pequeñas cantidades con que se trabaja, el uso de un segundo adsorbente puede hacer que no se logre una buena

recuperación, con lo que para algunos solutos se tendría una concentración por debajo del límite de detección.

3. En las condiciones de trabajo descritas, cada columna es apta para una sola muestra.

4. La alúmina utilizada puede recuperarse evaporando el hexano y calentándola en mufla a 500-600 °C durante cuatro horas. Se la puede mantener activada en recipientes de vidrio con cierre esmerilado en estufa a 130 °C.

5. En muestras próximas a desagües cloacales o de zonas pantanosas, es frecuente que en los sedimentos aparezcan compuestos de azufre que interfieren en el cromatograma, solapando los picos de tiempos de retención cortos hasta el del aldrin o aún el del epóxido de heptacloro (a veces aparece azufre elemental en el extracto). De los tratamientos sugeridos para evitar este inconveniente⁴, en nuestra experiencia resultó útil el uso de cobre metálico activado. El cobre se activa por tratamiento con solución acuosa de ácido clorhídrico 1:1 durante media hora en lavadora ultrasónica. Posteriormente se lo lava varias veces con agua, acetona y hexano, en ese orden. Se lo agrega al extracto en pequeña cantidad. Se observa ennegrecido en la superficie del cobre en forma casi instantánea, lográndose una desulfuración completa. Una alternativa es colocar el cobre en el fondo de la columna cromatográfica de clean-up.

6. En todos los casos es importante efectuar siempre un ensayo en blanco, para comprobar la limpieza del material utilizado.

7. Las dos técnicas mencionadas para la extracción de filtros con material en suspensión (extracción en Soxhlet y agitación continua) dan, según nuestra experiencia, porcentajes de recuperación similares: alrededor de 85 y 87%, respectivamente.

8. El uso de florisil resultó poco efectivo

e impráctico por la pobre recuperación y por dificultades en la estandarización. Para muestras con una matriz similar (agua y material en suspensión) del Río Paraná, Hess *et al.* tuvieron el mismo de inconvenientes.

9. Si bien algunas técnicas separan los eluatos en dos fracciones de un volumen de columna cada uno, en experiencias propias la recuperación para el gamma-HCH varió de 8% a 24% en la primera fracción y de 90% a 78% en la segunda. Por lo expuesto optamos por recoger un solo eluato,

usando como cantidad total de solvente de eluación la de dos volúmenes de columna.

10. La lipieza de extractos con ácido sulfúrico fumante es práctica y sencilla, pero lleva a la destrucción de dieldrin, endrin y los pesticidas fosforados ⁶.

11. Hemos ensayado con éxito el clean-up en microcolumnas, usando para ello las pipetas Pasteur con tapón de lana de vidrio en el fondo de las mismas ⁷. Se emplean volúmenes pequeños de solventes y drogas sólidas y se ahorra tiempo de análisis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. "Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater" (1985) 16th. ed., Part 509 A, "Organochlorine Pesticides", pág. 538, APHA, AWWA, WPCF, Washington, U.S.A.
2. Sherman, J. (1979) "Manual of Analytical Quality Control for Pesticides and related compound in Human and Environmental Samples", EPA-600/1-79-008
3. EPA (1982) Test Method 625
4. EPA (1982) Test Method 608
5. Hess, D.; Battaglia de Nochetto, G. ; Lenardon, A.M. (1984) *Comunicación personal*
6. Hernández Hernández, F., F.J. López Benet, J. Medina Escriche y J.C. Barberá Ubeda (1987) *J. Amer. Off. Anal. Chem.* 70: 727-33
7. Fuse, J.A., Lenardón, A.M. (1983) *Comunicación personal*