

Niveles de Plaguicidas Clorados en el Río de la Plata

Lucio J. JANIOT, Aldo M. ORLANDO* y Otmario E. ROSES **

*Servicio de Hidrografía Naval. Armada Argentina. Montes de Oca 2124.
(1271) Buenos Aires. Argentina

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

RESUMEN. Sobre 16 muestras de agua tomadas en la margen sur y a lo largo de una transecta en el límite exterior del Río de la Plata medio, se investigaron 14 plaguicidas clorados de los cuales se detectaron alfa, gamma y delta hexaclorociclohexano (HCH), heptacloroepoxi, p, p'DDE y p, p'DDD. El análisis se hizo sobre las muestras de agua y material en suspensión sin separar las fases. Los resultados indican mayor presencia de los isómeros del HCH respecto del grupo del DDT y de los clorodienos. La distribución observada permite suponer la existencia de un efecto de dilución en la gran masa de agua, así como resuspensión de sedimentos sobre los que los biocidas se encontrarían adsorbidos. Se indica la metodología aplicada para la determinación y los valores hallados del límite de detección de plaguicidas clorados en el mismo tipo de muestras.

SUMMARY. "Levels of Chlorinated Pesticides in the River Plate (Argentina)". The presence of 14 chlorinated pesticides in 16 water samples picked from the South shore and along a transect in the outer boundary of the River Plate was investigated. Six of them were detected: alpha, gamma and delta hexachlorocyclohexane (HCH), heptachlorepoxyde, p,p'DDE and p,p'DDD. The analysis was made on the entire sample (water and suspended material). Results shows a higher frequency of appearance of HCH isomers with respect to the other pesticides. The observed distribution supports our opinion on the existence of a dilution effect in the river as a whole, so as the resuspension of sediments with adsorbed pesticides. The applied methodology and the values obtained in the determination of chlorinated pesticides detection limits in the same type of sample is also indicated.

INTRODUCCION

El Río de la Plata tiene la forma de un ancho embudo delimitado por la República Argentina y la República Oriental del Uruguay. Su longitud es de 270 km y su ancho mínimo y máximo de 32 km y 320 km, respectivamente ¹. Sus principales tributarios son los ríos Paraná y Uruguay. El río Bermejo es el que da el principal aporte de material suspendido al Paraná y éste a su vez, al Río de la Plata. Esto da características especiales al agua de este último en cuanto a cantidad y tipo de material particulado y disuelto.

Las muestras de agua de este río ofrecen por lo tanto una matriz compleja, en especial para los análisis por cromatografía en fase gaseosa y detección por captura elec-

PALABRAS CLAVE: Plaguicidas clorados; Río de la Plata; Niveles; Límites de Detección.
KEY WORDS: Chlorinated Pesticides; River Plate; Levels; Detection Limits.

trónica (GLC-ECD), de hidrocarburos clorados en bajas concentraciones, debido a sustancias interferentes en tiempos de retención iguales o similares a los de interés. Por eso es de fundamental importancia el conocimiento exacto de los parámetros analíticos, en particular de los límites de detección.

En los estudios del medio ambiente como los que se efectúan en el Río de la Plata, se intenta conocer los niveles de concentración de ciertos indicadores de contaminación en algún compartimiento del mismo, para poder establecer valores de referencia a partir de los cuales determinar su tendencia en el tiempo y apreciar los deslizamientos que puedan afectar al ecosistema.

Desde 1981 y hasta 1987 el Servicio de Hidrografía Naval de la Armada Argentina efectuó un monitoreo en la zona intermedia del Río de la Plata, durante el cual se evaluó, entre otros, el nivel de concentración de plaguicidas clorados en muestras de agua sin filtrar ².

En este trabajo se presentan y discuten las concentraciones halladas de biocidas clorados en la campaña efectuada en junio de 1987 y se agrega en forma de anexo la descripción de la metodología empleada en la determinación del límite de detección.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Drogas. El cobre metálico actividad se obtuvo tratando limaduras de cobre con ácido clorhídrico 1:1 durante media hora en lavadora ultrasónica y lavándolas de inmediato con agua destilada, acetona y hexano, en ese orden. El sulfato de sodio anhidro, la alúmina neutra y el cloruro de sodio utilizados fueron de calidad pro-análisis. Los dos primeros fueron calentados en mufla hasta destrucción de materia orgánica (500-600 °C) y el cloruro de sodio se secó a 105 °C.

Los patrones de pesticidas fueron provistos por la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos de Norteamérica: alfa, gamma y delta HCH, heptacloro, aldrin, epóxido de heptacloro, o,p'DDE, dieldrin, o,p'DDD, endrin, o,p'DDT, p,p'DDD y p,p'DDT, todos ellos de pureza superior al 99%.

Solventes. Acetona y hexano normal, calidad nanogrado, aptos para análisis de residuos de plaguicidas. La pureza se controló por cromatografía gaseosa, previa concentración 1:100.

Agua destilada libre de compuestos orgánicos. Se preparó utilizando un destilador totalmente de vidrio y sometiendo el agua posteriormente a extracción con una mezcla acetona-hexano (1:1).

Material de vidrio. Tanto los botellones de muestreo como el material usado en el análisis se trataron con mezcla sulfocrómica, con solución tibia de detergente y se enjuagaron repetidas veces con agua potable, agua destilada, acetona, hexano normal y, finalmente, cuando el tipo de material lo permitió, se lo calentó en mufla a 450 °C para secar y destruir trazas de materia orgánica remanente. El material volumétrico se secó haciéndole pasar una corriente de aire seco y tibio.

Instrumental. Cromatógrafo en fase gaseosa Varian modelo 3700 con detector de captura electrónica (⁶³Ni), provisto de: a) columna de vidrio de 2,00 m x 2 mm de diámetro interno empacada con 1,5% SP 2250/1,95% SP 2401 sobre supelcoport 100-120

y b) columna de iguales características empleada con 2% OV 101 / 3% OV 210 sobre Chromosorb W HP 100/120.

Para la columna indicada en a) se utilizaron las siguientes condiciones operativas:

Temperatura de inyección: 210 °C.

Temperatura de columna: 185 °C.

Temperatura de detector: 240 °C.

Gas portador (Nitrógeno): 30 cm³/min. Para la indicada en b) se utilizaron las mismas condiciones, pero la temperatura de la columna fue de 175 °C y la del inyector de 190 °C.

Metodología

Muestreo. Las muestras (agua y material en suspensión de las estaciones indicadas en la figura 1) se tomaron durante la campaña de junio de 1987, en botellones de vidrio ámbar de 3,8 litros a unos 20-30 cm de profundidad. El botellón cerrado y alojado en un contenedor metálico se arrojó desde la proa de la embarcación y se abrió al alcanzar la profundidad deseada, retirando la tapa con una cuerda de teflon. Las muestras se conservaron a 4 °C y se procesaron dentro de las siguientes 24 horas.

Atslamiento y valoración de los pesticidas en las muestras de agua. El agua se extrajo 3 veces consecutivas con la mezcla acetona-hexano 1:1, usando 25 ml por litro de agua en cada extracción. Los 3 extractos se reunieron en uno, que se lavó con solución acuosa de cloruro de sodio al 5%. En todos los casos se formó una emulsión que se rompió por congelamiento³. Los extractos se concentraron en evaporador rotatorio hasta 2 ó 3 ml y finalmente en atmósfera inerte de nitrógeno hasta 1 ml. El *clean-up* se hizo por cromatografía sólido-líquido en microcolumnas de alúmina desactivada al 5%. La efectividad del adsorbente y el volumen necesario de elución se verificaron sembrando una solución mezcla de patrones de pesticidas. La columna se eluyó con hexano normal y se colectó una sola fracción³. Este *clean-up* se aplicó en las muestras de las estaciones 3, 4 y 15 y el agregado de cobre metálico se hizo en las estaciones 3 y 15.

El punto 3 corresponde a un lugar próximo a la desembocadura del efluente cloacal de Obras Sanitarias de la Nación, situado aproximadamente a 1500 m de la costa.

Los extractos con o sin *clean-up* se analizaron por cromatografía gaseosa y detección por captura electrónica, cuantificándose los resultados por el método del estándar externo. La confirmación se hizo por inyección en columnas de diferente polaridad⁴ y preparación de derivados obtenidos por tratamiento con potasa alcohólica posterior al tratamiento con ácido sulfúrico⁵.

El porcentaje de recuperación del método estuvo comprendido entre un mínimo de 82% para el heptacloro y un máximo de 104% para el p,p'DDD. Los límites de detección se detallan en el anexo.

RESULTADOS

Se consignan en la tabla 1.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En 16 muestras de agua del Río de la Plata tomadas en las estaciones indicadas en la figura 1 se investigaron alfa, gamma y delta HCH, heptacloro, epóxido de hepta-

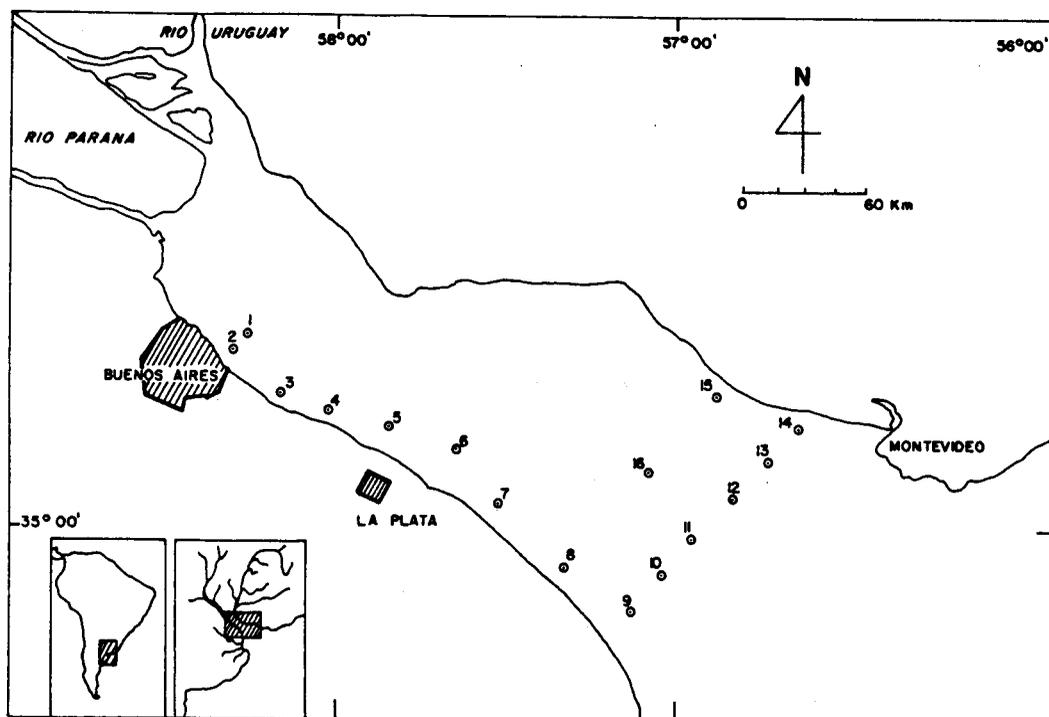


Figura 1. Estaciones hidrográficas de muestreo en el Río de la Plata. Campaña junio 1987

Estac. N°	gamma HCH	alfa HCH	delta HCH	Hept. epoxi	p,p'DDE	p,p'DDD
1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	1,0	1,7	nd	nd	5,2	6,3
3	520,0	1,9	1,7	2,3	6,1	nd
4	0,9	1,3	nd	1,8	nd	nd
5	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7	0,9	1,3	nd	nd	nd	nd
8	nd	nd	nd	nd	nd	nd
9	nd	nd	nd	nd	nd	nd
10	nd	nd	nd	nd	nd	nd
11	nd	nd	nd	nd	nd	nd
12	2,0	1,5	1,0	nd	nd	nd
13	nd	nd	nd	nd	nd	nd
14	1,8	1,4	1,2	nd	nd	nd
15	1,0	1,4	nd	nd	nd	nd
16	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 1. Plaguicidas clorados hallados en cada punto de muestreo. Las concentraciones se expresan en nanogramos por litro (ng/l). nd = no detectado.

cloro, aldrin, dieldrin, endrin, o,p' y p,p'DDE, o,p' y p,p'DDD y o,p' y p,p'DDT, de los cuales se hallaron alfa, gamma y delta HCH, heptacloroepoxi, p,p'DDE y p,p'DDD. Además de los correspondientes a los pesticidas citados, aparecieron en los cromatogramas muchos otros picos cuyos tiempos de retención no coincidían con los de los biocidas investigados y no se identificaron. En 9 de las 16 muestras no se detectó la presencia de pesticidas; en las 7 restantes los valores máximos hallados (en ng/l) fueron los siguientes: alfa HCH = 1,9; delta HCH = 1,7; gamma HCH = 520,0; epóxido de heptacloro = 2,3; p,p'DDE = 6,1; p,p'DDD = 6,3.

Si bien los lugares de muestreo están esparcidos y no representan el área de estudio como un todo con respecto al Río de la Plata medio, las concentraciones informadas en dichos puntos muestran claramente dos características importantes:

a) Los pesticidas presentes con mayor frecuencia son los isómeros del hexaclorociclohexano, seguidos de los análogos del DDT y por último de los clordienos (en este caso sólo el epóxido de heptacloro).

b) La diferencia que existe entre las muestras del centro del cauce y las correspondientes a áreas costeras en cuanto a concentración y presencia de biocidas, que es mayor en las últimas. Esa diferencia permite suponer que las áreas costeras están más contaminadas que las del centro del río debido a escorrentía de riachos, canales, etc. y a la adsorción preferencial de estos biocidas sobre material en suspensión con alta carga de materia orgánica.

El gamma HCH tiene, sin embargo, la mayor solubilidad acuosa entre los compuestos citados⁶, lo que permitiría explicar su mayor presencia, aunque no sus elevadas concentraciones, en algunos puntos. Éstas se deberían a vertimientos más o menos recientes, ya que los autores han observado una degradación rápida del gamma HCH en aguas de este río (trabajo en avance).

Las mayores concentraciones y el mayor número de plaguicidas (o sus productos de transformación) se hallaron en las cercanías de la desembocadura del efluente cloacal de Obras Sanitarias mencionado con anterioridad, a saber: alfa, gamma y delta HCH, epóxido de heptacloro y p,p'DDE.

Los valores en las estaciones 12, 14 y 15 pueden explicarse si se tiene en cuenta el tipo de material suspendido en esa área (limo y arcillas coloidales) con capacidad de adsorción de compuestos hidrofóbicos como los biocidas clorados, y que dicho material es resuspendido por turbulencia.

Es importante destacar que las muestras más próximas a la costa fueron tomadas a no menos de 800 metros, lo que implica que, probablemente, el efecto de dilución en la masa de agua del río respecto a descargas costeras sea la causa responsable de disminuir las concentraciones a los valores hallados.

ANEXO

Determinación del Límite de Detección de Plaguicidas Clorados en Agua del Río de la Plata

Para efectuar esta determinación se analizaron dos muestras de agua del mismo origen, una de las cuales fue adicionada de una cantidad conocida de plaguicidas (muestra cargada), manteniendo la otra en las condiciones iniciales (muestra no cargada). En la muestra no cargada se identificaron y cuantificaron algunos picos coincidentes en sus tiempos de retención con los de plaguicidas, que se restaron a los correspondientes en la muestra cargada. Con los valores de concentración obtenidos del análisis de esta última y corregidos por los de la muestra sin carga (7 replicados en cada caso) se calculó la varianza, el desvío estándar y el límite de detección para cada plaguicida, como se indica más adelante.

Se define como *límite de detección* (o *límite de detección real*, en adelante LDR), a "la mínima concentración de sustancia que se puede identificar, medir e informar con un 99% de confianza, en que la concentración del analito es mayor que cero y determinada a partir del análisis de una muestra con matriz dada y que contenga el analito" ⁷. Para poder establecer el LDR, debe determinarse previamente el *límite de detección estimado* (en adelante LDE), entendiéndose por tal "el valor de concentración que corresponde a la región de la curva estándar donde hay cambio significativo de sensibilidad, denotado por inflexión, a bajas concentraciones de analito" ⁷.

La determinación del LDE se efectúa con soluciones hexánicas de los plaguicidas, mientras que la del LDR debe hacerse mediante el análisis del agua del río tal cual y con el agregado de los mismos plaguicidas utilizados para el LDE, en cantidades tales de obtener una concentración, en agua, de 1 a 5 veces el LDE. Esta cantidad se determina empíricamente, de modo de obtener alturas de pico similares en el trazado cromatográfico.

En resumen, los pasos a seguir son:

- 1) Determinación del LDE.
- 2) Cuantificación de picos en la cromatografía gaseosa de extractos de agua sin agregado de plaguicidas.
- 3) Cuantificación de picos en la cromatografía gaseosa de extractos obtenidos a partir de la muestra de agua a la que se le han agregado plaguicidas.
- 4) Determinación del LDR con los datos obtenidos en las dos operaciones anteriores.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumental

El descripto en el texto principal. Se usó para esta determinación la columna consignada en *Materiales y métodos (Instrumental, punto a)*, en las condiciones operativas allí descriptas.

Reactivos

Drogas de la cantidad de las que se describen en el texto principal.

Determinación del LDE a partir de las soluciones estándar de calibración

Se prepararon las siguientes soluciones de pesticidas (I a VI) en n-hexano. Las cifras indican concentraciones en ng/ml.

Pesticida	I	II	III	IV	V	VI
Aldrin	20,0	8,0	4,0	2,0	0,8	0,2
Dieldrin	80,0	40,0	20,0	10,0	4,0	1,0
Endrin	79,0	31,6	15,8	7,9	3,2	0,8
A y D HCH	18,0	7,2	3,6	1,8	0,7	0,2*
Gamma HCH	24,0	9,6	4,8	2,4	1,0	0,2
Heptaclor	11,0	4,4	2,2	1,1	0,4	0,2
Hept. epox.	30,0	12,0	6,0	3,0	1,0	0,3
o,p'DDT	29,0	11,6	5,8	2,9	1,2	0,3
p,p'DDT	106,0	42,4	21,2	10,6	4,2	1,1
o,p' y p,p'DDE	40,0	16,0	8,0	4,0	1,6	0,4*
o,p'DDD	142,0	56,4	28,2	14,2	5,7	1,4
p,p'DDD	132,0	52,8	26,4	13,2	5,3	1,3

(*) Las soluciones de delta HCH y p,p'DDE tienen las mismas concentraciones que las respectivas de alfa HCH y o,p'DDE.

Se inyectaron por triplicado cinco microlitros de cada una de estas soluciones de calibración. De los gráficos respectivos de señal *versus* concentración, siguiendo el criterio mencionado antes, se obtuvieron los siguientes LDE para cada analito:

Aldrin:	1,0	Gamma HCH:	0,9	o,p'DDE:	1,9
Diieldrin:	7,3	Heptacoloro:	7,5	p,p'DDE:	1,9
Endrin:	1,8	Hept. epox.:	1,4	o,p'DDD:	1,1
Alfa HCH:	0,9	o,p'DDT:	16,1	p,p'DDD:	2,1
Delta HCH:	0,9	p,p'DDT:	6,6*		

(*) El extracto hexánico de la muestra es 1000 veces más concentrado que la solución acuosa, por cuanto el extracto obtenido de ésta se concentra a 1 ml (es decir que los plaguicidas de 1 litro de agua se hallan contenidos en 1 ml de solución hexánica en el extracto final).

Determinación del LDR

Cuantificación de áreas de picos cromatográficos de muestras de agua de río adicionadas de plaguicidas. A siete litros de agua del Río de la Plata se agregaron cantidades conocidas de una solución acetónica de pesticidas, tal que una vez evaporado espontáneamente el solvente orgánico diera estas concentraciones finales:

Aldrin:	2,7 ng/l	Delta HCH:	2,4 ng/l	o,p'DDE:	5,3 ng/l
Diieldrin:	6,6 ng/l	Heptacoloro:	1,4 ng/l	p,p'DDE:	5,3 ng/l
Endrin:	6,3 ng/l	Hept. epox.:	1,4 ng/l	o,p'DDD:	3,0 ng/l
Alfa:	2,4 ng/l	o,p'DDT:	22,9 ng/l	p,p'DDD:	6,3 ng/l
Gamma HCH:	3,2 ng/l	p,p'DDT:	14,0 ng/l		

La muestra creada se homogeneizó por agitación en un recipiente de diez litros de capacidad y se separaron alícuotas de 1 litro. Tanto las alícuotas del agua sin añadido de pesticidas como las cargadas fueron extraídas tres veces con 25 ml de hexano normal en cada oportunidad.

A los extractos hexánicos reunidos en uno se les separó el agua remanente por congelamiento y el volmen se llevó a 1 ml, como se indicó para las muestras en el texto principal.

De cada extracto se inyectaron en el cromatógrafo 5 microlitros, por triplicado, calculándose la concentración media obtenida del análisis. Esta media es la que se tomó como valor unitario de cada muestra y fue promediada con las seis restantes del mismo lote. Los valores de concentración hallados (en ng/l) junto a los del desvío estándar sobre 7 replicados se detallan en la tabla 2 (pág. siguiente).

Determinación de picos interferentes en muestras de agua sin adición de pesticidas. Siete litros de agua de río, sin agregado de pesticidas, fueron procesados de la misma manera que la descripta para el agua adicionada de pesticidas. Los picos presentes en la muestra, con los mismos o diferentes tiempos de retención de pesticidas, constituyen el fondo ("background"). Las áreas de dichos picos, considerados como de plaguicidas de los respectivos tiempos de retención, corresponden a las siguientes concentraciones:

Pesticida	Concentración (ng/l)	Pesticida	Concentración (ng/l)
Aldrin	0,322	Delta HCH	0,824
Alfa HCH	1,875	Hept. epox.	0,508
Gamma HCH	2,036	o,p'DDE	1,363

Estos valores, si bien inferiores al LDE, fueron considerados sólo para ser restados de los de la muestra cargada.

Pesticida	Concentración (ng/l)	σ_{n-1}
Aldrin	1,9780	0,3319
Dieldrin	7,2870	0,8249
Endrin	6,0219	1,1408
Alfa HCH	4,2996	0,4211
Gamma HCH	2,6820	0,3936
Delta HCH	2,1070	0,3161
Heptacoloro	0,4470	0,2537
Heptacoloro epox.	2,6546	0,3882
o,p'DDT	22,2057	1,4972
p,p'DDT	9,8539	2,0021
o,p'DDE	4,3220	0,8607
p,p'DDE	2,9119	0,8841
o,p'DDD	3,2266	1,1422
p,p'DDD	5,7119	1,0391

Tabla 2. Valores de concentración hallados en las muestras cargadas.

Establecimiento del LDR

Para el cálculo del LDR, los valores de concentración de cada pico en la muestra sin carga se redondearon al primer decimal y estos valores se sustrajeron de los correspondientes en las muestras cargadas.

Con los valores de la sustracción (x_i), se calcula la varianza S^2

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \left[\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n} \right]$$

A partir de S^2 se calcula S y este valor se multiplica por el correspondiente de "t" de Student para $n-1$ individuos ($n-1=6$). De esta forma se obtuvieron los siguientes LDR:

Pesticida	LDR (en ng/l) *	Pesticida	LDR (en ng/l) *
Aldrin	1,0	Hept. epox.	1,2
Dieldrin	2,6	o,p'DDT	4,2
Endrin	6,0	p,p'DDT	6,3
Alfa HCH	1,3	o,p'DDE	2,7
Gamma HCH	1,0	p,p'DDE	2,8
Delta HCH	1,2	o,p'DDD	5,9
Heptacoloro	0,8	p,p'DDD	3,3

(*) Estos límites de detección están siendo sustancialmente disminuidos en trabajos de los mismos autores posteriores a éste, con columnas capilares para la misma matriz de muestra.

AGRADECIMIENTOS. A la Srta. María Cristina Brunetti, cartógrafa, por el diseño y ejecución de gráficos. Los trabajos de campo y de laboratorio fueron posibles gracias al apoyo económico de la Comisión Administradora del Río de la Plata y el Servicio de Hidrografía Naval de la Armada Argentina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Urien, C.M. (1972) *"The Rio de la Plata Estuary Environments"*. The Geological Society of America. Memoir 133 pp: 212-34
2. Servicio de Hidrografía Naval (Argentina). Servicio de Oceanografía, Hidrografía y Meteorología de la Armada (Uruguay), Comisión Administradora del Río de la Plata *"Plan para la Evaluación de la Contaminación en el Río de la Plata. Informe de Avance."* Ed. 1989.
3. Janiot, L. y O.E. Roses (1990) *Acta Farm. Bonaerense* **9**: 127-30
4. *"Manual of Analytical Quality Control for Pesticides and Related Compounds in Human and Environmental Samples"*. EPA-600/1-79-008.
5. Hernández Hernández, F., F.J. López.Benet, J. Medina Escriche y J.C. Barberá Ubeda (1987) *J.Amer. Off. Anal. Chem.* **70**: 727-33
6. Brooks, G.T. (1979) *"Chlorinated Insecticides"*, Vol. I, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pág. 190
7. EPA (1982) *Test Method* 608