

INSTITUTO DE PARASITOLOGIA "LOPEZ-NEYRA"
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA

DETERMINACION DE PESTICIDAS CLORADOS EN AGUAS

MIGUEL MONTEOLIVA

SUMMARY

Several techniques of extraction of pesticides from water, prior to the gas-chromatography analysis, have been studied. The results indicate that for small quantities of residues of organochlorine pesticides, the quantitative technique is the adsorption in column of Amberlite XAD-2 resin.

RESUMEN

Se estudia comparativamente varios procedimientos de extracción de plaguicidas en aguas, previo al análisis por cromatografía gaseosa y se concluye que para pequeñas cantidades de residuos de pesticidas organoclorados el procedimiento cuantitativo es la adsorción en columna de resina (Amberlita XAD-2).

INTRODUCCION

Aunque en España no existe legislación al respecto, en otros países (USA, Canadá) sí se dan niveles máximos permitidos de diferentes pesticidas clorados en aguas. Así en 1975 (6) en USA se acepta como máximo tolerable para el agua de consumo los siguientes valores (en microgramos por litro): 1,0 para el aldrin, 50,0 para el DDT, 0,1 para el heptacloro, y 4,0 para el lindano, entre otros.

Los métodos analíticos para la determinación de residuos de pesticidas clorados, generalmente terminan en una cromatografía gaseosa, pero requieren un paso previo de extracción y

purificación del medio en que estos residuos se encuentran. En el caso concreto de las aguas se han utilizado diferentes vías: La extracción directa con disolventes basado en que el coeficiente de reparto agua disolvente es favorable al segundo (7) (15) (19), la destilación en corriente de vapor (3) (17) o la fijación en columna de diferentes tipos de resinas. Amberlita XAD-2 (2) (16) (14) (13) (9) (11) (12), Tenax (4) (18) espuma de poliuretano (13) (10). En unos y otros casos, con metódicas diferentes y dispositivos variados. En el presente trabajo estudiamos comparativamente algunos de estos procedimientos y con técnicas y dispositivos originales.

MATERIAL Y METODOS

A) *Extracción de los pesticidas*

A.1) Por arrastre en corriente de vapor y captación en trampa de hexano

Se realiza de dos formas. Sin retorno de agua destilada al matraz y con retorno. Para ello se emplea el dispositivo de la figura 1 (modificado de Monteoliva y col. (1969) (8). En el matraz se coloca 500 ml. del agua problema con unas perlas de vidrio perforadas, para regular la ebullición y en la rama E, 5 ml, de hexano. Con la llave C abierta y la D cerrada, el agua que destila después de pasar por la capa de hexano, donde quedan atrapados los pesticidas, retorna al matraz, volviendo a destilar y permitiendo así una extracción exhaustiva. Si la llave C está cerrado y la D abierta, no hay retorno, desechándose por F y permitiendo sólo un pase por la capa de hexano. En el primer caso la operación se da por terminada a las 4 horas de iniciada la destilación, y en el segundo cuando han destilado 400 ml. de agua. El primer refrigerante hace que el agua destilada llegue a la capa de hexano en forma líquida y la misión del segundo es evitar la pérdida de hexano por volatización. Terminada la operación se extrae la capa de hexano y sin más tratamiento puede utilizarse para la inyección en el cromatógrafo.

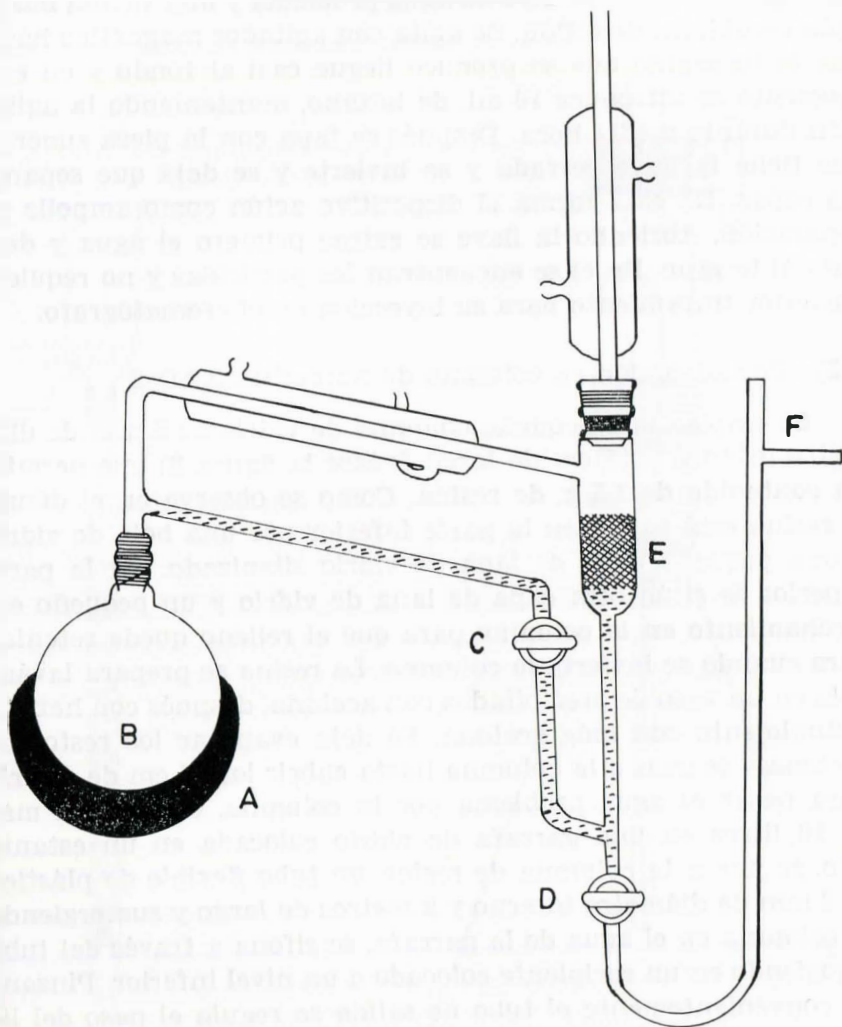


FIGURA 1

A.2) Por extracción directa con hexano

Para ello se utiliza el dispositivo de la figura 3, consistente en un matraz Erlenmeyer de algo más de un litro de capacidad en el que se coloca un litro de agua problema y una varilla imantada recubierta de teflón. Se agita con agitador magnético hasta que el torbellino que se produce llegue casi al fondo y en este momento se introduce 10 ml. de hexano, manteniendo la agitación durante media hora. Después se tapa con la pieza superior que tiene la llave cerrada y se invierte y se deja que separen las capas. De esta forma el dispositivo actúa como ampolla de separación. Abriendo la llave se extrae primero el agua y después el hexano. En él se encuentran los pesticidas y no requiere posterior tratamiento para su inyección en el cromatógrafo.

A.3) Por adsorción en columna de Amberlita XAD-2

Se emplea una pequeña columna de vidrio de 5 mm de diámetro interno y 15 cm de largo (véase la figura 2) que permite un contenido de 1,5 g. de resina. Como se observa en el dibujo la resina está sujeta en la parte inferior por una bola de vidrio y una pequeña capa de lana de vidrio silanizado. En la parte superior se sitúa otra capa de lana de vidrio y un pequeño estrechamiento en la columna para que el relleno quede retenido para cuando se invierta la columna. La resina se prepara lavándola en un vaso de precipitados con acetona, después con hexano y finalmente con más acetona. Se deja evaporar los restos de acetona y se pasa a la columna hasta cubrir los 15 cm de altura. Para pasar el agua problema por la columna, se colocan más de 10 litros en una garrafa de vidrio colocada en un estante alto, se une a la columna de resina un tubo flexible de plástico de 3 mm de diámetro interno y 2 metros de largo y sumergiendo la columna en el agua de la garrafa, se sifona a través del tubo recogiendo en un recipiente colocado a un nivel inferior. Pinzando convenientemente el tubo de salida se regula el paso del líquido por la columna. El flujo de agua debe ser de alrededor de 30 gotas por minuto. Se da por terminada la operación cuando en el recipiente inferior se recogen 10 litros de agua.

Para la elución la columna se coloca con el embudo hacia arriba y sobre un tubo de ensayo de 25 ml. y se vierte en el embudo y por este orden, 2,5 ml. de acetona, 5 ml. de n-hexano,

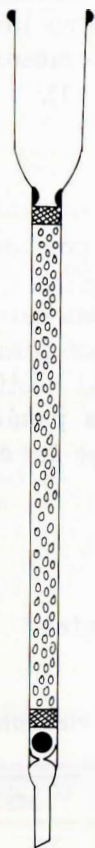


FIGURA 2

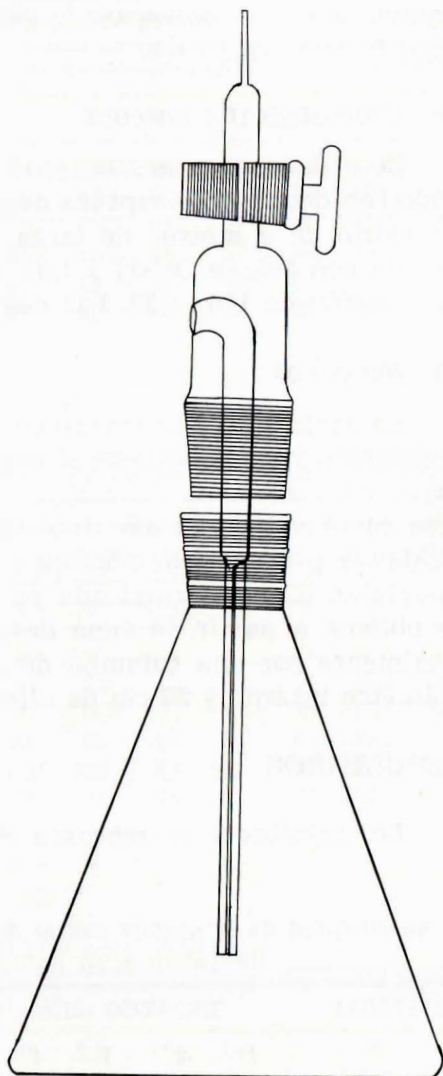


FIGURA 3

2,5 ml. de acetona y finalmente cuando han pasado los anteriores reactivos 10 ml. de agua sin pesticidas. Recogidos todos los eluatos en el tubo de 25 ml. se agita manualmente y se deja reposar para que se separe la capa de hexano. De esta se toma para la cromatografía.

B) Cromatografía gaseosa

Se utiliza un cromatógrafo de gases Carlo Erba 2200 equipado con detector de captura de electrones con Ni⁶³. La columna de vidrio de 2 metros de larga y 3 mm de diámetro interior rellena con 2% de OV-17 y 1,5% de QF-1 sobre Chromosorb W. Atenuación de 100 × 32. Las demás condiciones en (1).

C) Reactivos

La acetona y el n-hexano de la casa Merck. Se purifican por destilación y se comprueba si están exentos de residuos con ensayos en blanco. La Amberlita XAD-2 de la casa BDH que se lava como se ha indicado anteriormente. Las soluciones de pesticidas se preparan en acetona a partir de sustancias puras comerciales. El agua empleada para las soluciones de pesticidas se obtiene a partir de agua destilada y desionizada pasándola finalmente por una columna de Amberlita XAD-2 de 1,8 cm de diámetro interno y 20 cm de alto.

RESULTADOS

Los resultados se expresan en las tablas siguientes:

TABLA I

Variabilidad de la medida con el detector de captura de electrones.
Respuesta a un nanogrammo de pesticida

PESTICIDA	ENSAYOS (altura en mm en el papel)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	122	135	137	146	137	139	134	135	135	2,4
heptacloro	139	146	148	148	143	142	141	145	144	1,1
aldrin	77	75	78	77	73	72	75	76	75	1,1
DDE	48	49	52	55	53	50	51	49	50	1,1
TDE	18	22	23	20	20	21	22	21	20	0,7
DDT	15	14	16	15	14	16	15	15	15	0,3

TABLA II

Recuperación de 4 microgramos de cada pesticida ensayado disuelto en 5 litros de agua y por adsorción en columna de Amberlita. Pasando después 5 litros de agua exenta de pesticidas

PESTICIDA	ENSAYOS (en % de recuperación)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	92	95	91	93	93	92	92	93	92,6	1,1
heptacloro	60	61	58	58	58	60	61	60	59,5	1,2
aldrin	20	22	24	24	23	23	21	22	22,3	1,3
DDE	43	45	44	45	43	44	45	44	44,1	0,7
TDE	61	60	62	61	62	61	63	62	61,5	0,9
DDT	35	35	33	36	35	34	35	36	34,8	0,9

TABLA III

Recuperación de 4 microgramos cada pesticida en 10 litros de agua por adsorción en Amberlita y sin pasar posteriormente agua exenta de pesticidas

PESTICIDA	ENSAYOS (en % de recuperación)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	107	100	99	99	98	101	98	97	99,8	2,9
heptacloro	91	93	94	93	92	92	92	91	92,2	0,9
aldrin	72	73	72	73	71	73	72	72	72,2	0,6
DDE	85	85	84	86	85	84	85	86	85,0	0,7
TDE	101	102	99	102	103	98	102	98	100,6	1,3
DDT	74	78	76	77	78	76	75	76	76,2	1,2

TABLA IV

Recuperación de los pesticidas adicionados a 10 litros de agua, en función de la concentración

PESTICIDA	microgramos/10 litros (% recup.)							MEDIA	
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	X	+—
lindano	105	101	104	102	103	100	101	102,2	1,6
heptacloro	99	99	97	98	95	96	93	96,7	2,7
aldrin	75	76	74	72	71	73	74	73,5	1,5
DDE	89	86	87	84	85	83	83	85,2	2,0
TDE	98	99	100	101	99	98	97	98,8	1,2
DDT	88	86	84	85	79	78	76	82,2	4,2

TABLA V

Recuperación de 2 microgramos de pesticida en 500 ml. de agua por destilación sin retorno

PESTICIDA	ENSAYOS (en % de recuperación)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	64	65	64	63	65	64	64	64	64,1	0,6
heptacoloro	76	78	77	76	76	75	76	76	76,2	0,8
aldrin	98	99	101	100	99	98	97	98	98,7	1,2
DDE	78	79	76	78	78	77	77	79	77,7	0,9
TDE	71	72	70	71	71	72	71	70	71,0	0,7
DDT	76	78	78	79	77	77	78	78	77,6	0,8

TABLA VI

Recuperación de 2 microgramos de pesticida en 500 ml. de agua por destilación con retorno. Tiempo de la operación, 4 horas

PESTICIDA	ENSAYOS (en % de recuperación)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	81	80	79	80	78	78	80	81	79,6	1,1
heptacloro	81	84	82	82	81	83	82	83	82,2	0,9
aldrin	93	92	94	94	93	93	94	92	93,1	0,8
DDE	74	73	72	73	74	72	73	73	73,0	0,7
TDE	70	69	70	68	71	69	69	70	69,5	0,8
DDT	96	94	95	93	95	94	93	94	94,2	0,9

TABLA VII

Recupera microgramos de pesticida en 1 litro de agua por agitación con hexano

PESTICIDA	ENSAYOS (en % de recuperación)								MEDIA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	X	+—
lindano	95	96	98	97	97	96	96	97	96,5	0,9
heptacloro	89	87	87	86	89	88	87	88	87,6	1,0
aldrin	99	101	100	98	99	98	100	101	99,5	1,1
DDE	98	100	99	98	99	99	100	101	99,2	0,9
TDE	100	102	99	98	99	97	98	99	99,0	1,4
DDT	92	93	94	93	92	92	94	93	92,8	0,8

TABLA VIII

VALORES PROMEDIOS DE LAS ANTERIORES TABLAS

TABLA	LINDANO		HEPTACLORO		ALDRIN		DDE		TDE		DDT	
	media	+—	media	+—	media	+—	media	+—	media	+—	media	+—
Tabla I	100,0	2,4	100,0	1,1	100,0	1,1	100,0	1,1	100,0	0,7	100,0	0,3
" II	92,6	1,1	59,5	1,2	22,3	1,3	44,1	0,7	61,5	0,9	34,8	0,9
" III	99,8	2,9	92,2	0,9	72,2	0,6	85,0	0,7	100,6	1,8	76,2	1,2
" IV	102,2	1,6	96,7	2,0	73,5	1,5	85,2	2,0	98,9	1,2	82,2	4,2
" V	64,1	0,6	76,2	0,8	98,7	1,2	77,7	0,9	71,0	0,7	77,6	0,8
" VI	79,6	1,1	82,2	0,9	93,1	0,8	73,0	0,7	69,5	0,8	94,2	0,9
" VII	96,5	0,8	87,6	1,0	99,5	1,1	99,2	0,9	99,0	1,4	92,8	0,8

TABLA IX

Recuperación máxima según el pesticida y el procedimiento ensayado y concentración del pesticida en el agua en p.p.m.

	LINDANO	HEPTACLORO	ALDRIN	DDE	TDE	DDT
% recuperac.	99,8	92,2	99,5	99,2	100,6	94,2
p.p.m.	0,0004	0,0004	0,002	0,002	0,0004	0,004
procedimiento	resina	resina	ex. hexano	ex.	resina	destil.

DISCUSION

Los procedimientos elegidos e inspirados en la bibliografía, lo han sido por su simplicidad, puesto que, en un solo paso, se obtiene una solución del pesticida en hexano en condiciones adecuadas para su inyección en el cromatógrafo. Las modificaciones en los métodos descritos en los artículos reseñados, se han hecho con la finalidad de simplificar el material utilizado y emplear disolventes comunes de laboratorio.

Como puede observarse en las anteriores tablas, el error de la medida de ocho observaciones es bajo en todos los pesticidas ensayados y del mismo orden del error de la propia determinación cromatográfica (Tabla I), lo que indica que los procedimientos de extracción de los pesticidas del agua son todos ellos repetitivos y el error de la medida recae en su mayor parte, bien en la respuesta del detector al pesticida, bien en la medida de los microlitros inyectados con la microjeringa.

Los diferentes pesticidas ensayados no responden de igual forma a los procedimientos ensayados. Como puede observarse en la Tabla IX el mayor porcentaje de recuperación para el lindano, heptacloro y TDE se obtiene por adsorción en resina de Amberlita XAD-2, mientras que para el aldrin y el DDE va mejor la extracción directa con hexano y para el DDT el sistema de arrastre en corriente de vapor. Las limitaciones de volumen de muestra en los procedimientos de extracción directa y de destilación, hace que estos deban de utilizarse cuando la cantidad de pesticida en la muestra lo permita. En términos generales el mejor procedimiento de los testificados es la adsorción a Amberlita, puesto que une a un porcentaje de recuperación elevado la posibilidad de tratar un gran volumen de agua y la consiguiente menor concentración de pesticida. La recuperación es excelente a niveles de 0,4 microgramos de plaguicida en un litro de agua (4×10^{-10}). La extracción directa con hexano (Tabla VII) es la que presenta porcentajes más elevados y uniformes de recuperación pero tiene la limitación del volumen de muestra y solo puede utilizarse en aguas limpias que contenga poca materia orgánica pues a la vez que se extraen los pesticidas se extraería también los componentes grasos que impurificarían el extracto. En este último caso el procedimiento de elección sería el arrastre en corriente de vapor (Tablas V y

VI) con recuperación baja, variable según el plaguicida, y según se haga con retorno o sin retorno, pero aceptable, aunque en el caso del lindano es bastante baja.

El proceso de adsorción del pesticida disuelto en agua sobre la resina es reversible como se observa en la Tabla II. Si después de fijar el pesticida en la columna se pasa un gran volumen de agua sin pesticidas, parte de los adsorbidos se eluyen dando una recuperación muy baja, salvo para el caso del lindano que aparentemente se fija con mayor fuerza a la resina.

La concentración del pesticida en agua apenas influye en la adsorción a la resina como puede observarse en la Tabla IV, en que los porcentajes de recuperación son equivalentes entre 50 nanogramos y 400 nanogramos por litro.

En consecuencia, podemos deducir de los resultados obtenidos que para bajas concentraciones de pesticidas y en aguas limpias el mejor procedimiento de extracción es la adsorción en una columna de Amberlita XAD-2, para más elevadas concentraciones y aguas limpias puede utilizarse la extracción directa con hexano, mientras que para aguas muy sucias el procedimiento de elección es la destilación en corriente de vapor.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a doña Francisca [redacted] ción, la confección de las figuras y la ayuda técnica prestada. Asimismo a la C.A.I.C.Y.T. la subvención concedida.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—AFENZA, J. M., MONTEOLIVA, M.: *Ars Pharm.*, 17, 371-380 (1976).
- 2.—COBURN, J. A., VALMANIS, I. A., CHAU, A. S. Y.: *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 60, 224-228 (1977).
- 3.—DFWAN, R. S., [redacted]
- 4.—LEONI, V., PUCETTI, G., COLOMEO, R. J., D'OVIDIO, A. M.: *J. Chromatogr.*, 125, 399-408 (1976).
- 5.—MALLET, V. N., BRUN, G. L., McDONALD, R. N., BERKANE, J.: *J. Chromatogr.*, 160, 81-88 (1978).
- 6.—MCNEIL, E. E., OTSON, R., MILES, W. F., RAJABALEE, F. J. M.: *J. Chromatogr.*, 132, 277-286 (1977).
- 7.—MESTRES, R., ILLES, S., GUNTHER, F. A., OTT, D. E.: *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 31, 13-20 (1971).
- 8.—MONTEOLIVA, M., FUNES, A., GARCIA-PERIGRIN, E., ZAFRA, M. F., RES, M.: *Ars Pharm.*, [redacted]

- 9.—MUSTY, P. R., NICKLESS, G.: *J. Chromatogr.*, *89*, 185-190 (1974).
- 10.—MUSTY, P. R., NICKLESS, G.: *J. Chromatogr.*, *100*, 83- 93 (1974).
- 11.—MUSTY, P. R., NICKLESS, G.: *J. Chromatogr.*, *120*, 369-378 (1976).
- 12.—NAVRATIL, J. D., SIEVERS, R. E., WALTON, H. F.: *Anal. Chem.*, *49*, 2260-2263 (1977).
- 13.—REES, G. A. V., AU, L.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, *22*, 561-566 (1979).
- 14.—RENBURG, L.: *Anal. Chem.*, *50*, 1836-1838 (1978).
- 15.—RIPLEY, B. D., WILKINSON, R. J., CHAU, A. S. Y.: *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, *57*, 1033-1042 (1974).
- 16.—TATEDA, A, FRITZ, J. S.: *J. Chromatogr.*, *152*, 329-340 (1978).
- 17.—VEITH, G. D., KIWUS, L. M.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, *17*, 631-636 (1977).
- 18.—VERSINO, B., KNOPPEL, H., DE GROOT, M., PEIL, A., POELMSN, J., SCHAUEM-BERG, G., VISSERS, H., GEISS, F.: *J. Chromatogr.*, *122*, 365-378 (1976).
- 19.—WU, C., SUFFET, I. H.: *Special Technical Publication n.º 582*, 90-107 (1975). Amer.