

## EXTRACCIÓN DE PLAGUICIDAS EN SUELO EMPLEANDO DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO-COSOLVENTES

## EXTRACTION OF PESTICIDES IN SOIL USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE -CO-SOLVENTS

## EXTRACÇÃO DE PRAGUICIDAS EM SOLO UTILIZANDO DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICA- CO-SOLVENTE

José R. Forero, Henry I. Castro, Jairo A. Guerrero<sup>1</sup>

Recibido: 18/09/09 – Aceptado: 15/12/09

### RESUMEN

En este estudio se evaluó la eficiencia de tres solventes orgánicos (acetato de etilo, metanol y acetona) empleados como cosolventes en la extracción con fluidos supercríticos (EFS) de una mezcla de plaguicidas con diferentes características fisicoquímicas. Los análisis se realizaron por medio de cromatografía de gases con detección simultánea por microcaptura electrónica ( $\mu$ ECD) y nitrógeno-fósforo (NPD) acoplados en paralelo. Se hicieron extracciones a muestras de suelo fortificadas con los plaguicidas empleando dióxido de carbono supercrítico ( $\text{CO}_2\text{SC}$ ) como fase extractante a 35 °C y 14 MPa adicionando 10 mL de cada cosolvente. Se encontró que el metanol ofrece la mayor eficiencia en el proceso de extracción obteniendo valores de recuperación entre 51,24 y 123,50%.

**Palabras clave:** plaguicidas, suelo, extracción, cosolventes, fluidos supercríticos.

### ABSTRACT

In this study, three organic solvents (ethyl acetate, methanol and acetone) were used as co-solvent in supercritical fluid extraction (SFE) of a mixture of pesticides with different physical and chemical properties present in soil. These pesticides were determined by gas chromatography with electronic microcapture detector ( $\mu$ ECD) and nitrogen-phosphorus detector (NPD), coupled in parallel. The extractions were performed on spiked soil samples using supercritical carbon dioxide ( $\text{CO}_2\text{SC}$ ) as the extracting phase to 35 °C and 14 MPa, using 10 mL of each cosolvent and it was found that methanol offers the greatest efficiency in the

<sup>1</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia. jaguerrero@unal.edu.co

extraction process obtaining recovery values between 51.24 and 123.50%.

**Key words:** pesticides, soil, extraction, co-solvent, supercritical fluid.

## RESUMO

No estudo se avaliou três solventes orgânicos (acetato de etila, metanol e acetona), como co-solvente em a extração com fluido supercrítico (EFS) de uma mistura de praguicidas com diferentes propriedades física e química (organoclorados, organofosforados, organonitrogenados e piretróides) presentes no solo, determinadas por cromatografia gaseosa com injeção pulsed splitless e detecção simultânea por  $\mu$ ECD e nitrogênio-fósforo (NPD) acoplados em paralelo, as extrações foram realizadas em amostras de solo fortificadas, usando dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), como a fase de extração a 35 °C 14 MPa, com 10 mL de cada solvente e constatamos que o metanol oferece a maior eficiência da remoção de todos os praguicidas e obter recuperação valores entre 51,24 e 123,50%.

**Palavras-chave:** praguicidas, solo, extração, co-solvente.

## INTRODUCCIÓN

El suelo es un cuerpo dinámico natural y complejo que ocupa gran parte de la superficie terrestre; se encuentra compuesto principalmente por materia orgánica, minerales y organismos, y sirve de sustrato para el crecimiento de las plantas. Las características del suelo varían constantemente en función del clima, el material parental, la topografía, los organismos vivos y el manejo que se le dé en los cultivos.

Dado que el suelo es la base de la vida vegetal y animal, es importante estudiar la presencia en el suelo de agentes químicos exógenos tales como fertilizantes, plaguicidas, coadyuvantes, entre otros (1, 2). La presencia de plaguicidas en el suelo se puede dar por distintas causas teniendo en cuenta que este recibe la mayor parte de los plaguicidas que se emplean en la protección de cultivos, llegando a él por distintas vías como tratamientos directos, tratamientos aéreos o por residuos vegetales presentes después de la cosecha. Debido a lo anterior surge la necesidad de desarrollar e implementar metodologías confiables, rápidas y de bajo impacto ambiental para el análisis de residuos de plaguicidas presentes en el suelo (1).

Dado que el suelo es una matriz compleja y variable, una de las etapas de mayor relevancia en el proceso de análisis de residuos de plaguicidas es el tipo de extracción empleado, ya que esta es una de las etapas que más influye sobre los resultados obtenidos, toda vez que recibe el efecto de las características propias del suelo, tales como contenido de materia orgánica, textura, humedad y pH, y otros factores independientes del suelo, como el tiempo transcurrido desde la aplicación y las propiedades intrínsecas del plaguicida (1, 3-5).

Actualmente, para efectos del análisis de plaguicidas en suelos, existe una gran variedad de métodos de extracción que incluyen tanto el uso de solventes como el empleo de técnicas novedosas, como la microextracción en fase sólida. Cada uno de estos procedimientos tiene ventajas y desventajas, varias de ellas relacionadas con costos, rapidez, selectividad e impacto ambiental, etc. (6-9).

La extracción con fluidos supercríticos (EFS) comenzó a emplearse en la década de 1980, con el propósito de analizar residuos de plaguicidas presentes en suelos, aprovechando algunas de las propiedades que presentan estos fluidos, tales como poder de solvatación, alta difusividad, baja viscosidad y tensión superficial nula (10). En este sentido, el dióxido de carbono supercrítico (CO<sub>2</sub> SC) es uno de los solventes más usados en la EFS debido a que posee características consideradas ideales: baja toxicidad, baja inflamabilidad, condiciones críticas bajas (7,38 MPa y 31 °C), entre otras (8, 11, 12); sin embargo, el uso de CO<sub>2</sub> SC puro en la extracción de residuos de plaguicidas es limitado debido a su baja polaridad. No obstante, distintos investigadores (5, 13-15) han evaluado el efecto de la adición de pequeñas cantidades de solventes orgánicos, empleados como modificadores, en la extracción de numerosos compuestos presentes en diferentes matrices. En este trabajo se evaluó la eficiencia de tres cosolventes, acetato de etilo (AcOEt), acetona (Me<sub>2</sub>CO) y metanol (MeOH) en la extracción de plaguicidas en suelo empleando CO<sub>2</sub> SC.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra y preparación de suelo blanco

La muestra de suelo blanco, libre de plaguicidas, se tomó del horizonte superficial a una profundidad de 0-20 cm, en las inmediaciones de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, el cual no tiene historia de aplicación de plaguicidas, se secó a temperatura ambiente, se eliminaron ramas, hojas y piedras y se tamizó por una malla No. 10 (2 mm U.S. Standard Sieve Series). El suelo fue ca-

racterizado como un suelo franco arcilloso (20,88% arena, 46,88% arcilla y 32,24% limo) con un bajo contenido de materia orgánica (3,24%), con una humedad de 4,04% y un pH en suelo saturado de 5,29.

### Materiales de referencia, reactivos y soluciones

Los estándares de plaguicidas empleados en este trabajo se obtuvieron del Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemania), cada uno con una pureza mayor al 95%. Las disoluciones madre se prepararon a una concentración aproximada a 500 µg/mL en acetato de etilo y se almacenaron en frascos ámbar a -20°C. La mezcla de plaguicidas se preparó en acetato de etilo, tomando diferentes volúmenes de cada una de las soluciones madre hasta obtener un rango de concentraciones entre 1,6 µg/mL y 98,3 µg/mL. La mezcla se almacenó en frasco ámbar a -20 °C. Los solventes empleados en este estudio fueron acetato de etilo, acetona (grado análisis de residuos) y metanol (grado HPLC) proporcionados por J. T. Baker® (México D.F., México) Los gases empleados en la extracción y en la determinación cromatográfica fueron CO<sub>2</sub> anaerobio, nitrógeno (N<sub>2</sub>) grado 5,0, hidrógeno (H<sub>2</sub>) grado 4,5 y aire sintético seco; estos fueron proporcionados por Criogás Colombia (Grupo Indura).

### Instrumentos, equipos y procedimientos

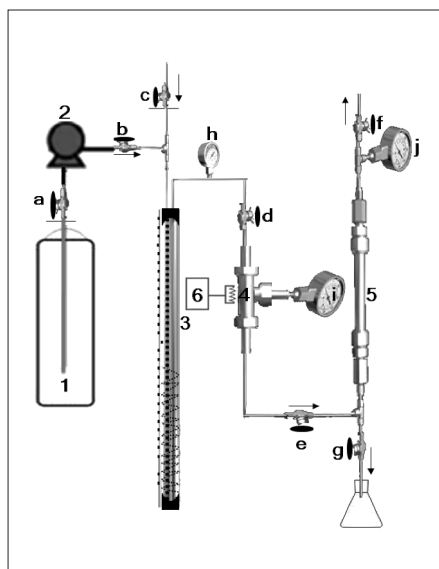
#### Obtención de extractos

Las extracciones se llevaron a cabo en un equipo de extracción supercrítica diseñado y ensamblado en el Laboratorio de Alta Presión del Departamento de Quími-

ca de la Universidad Nacional de Colombia (Figura 1). Este equipo se encuentra configurado con reservorio de CO<sub>2</sub>, una bomba neumática (Haskel® modelo AGT-7/30, CA. USA), un reservorio-saturador de cosolvente de 150 mL, una celda de extracción de 40 mL, un separador de 50 mL, un controlador de temperatura (WATLOW serie SD 31, MI, USA,  $\pm 1$  °C) con termocupla tipo K conectada a una resistencia de 300 watts que rodea la celda de extracción y válvulas de paso (WHITEY series SS-1VS4 y SS-1VR4, OH, USA) y manómetros análogos (BOURDON HAENNI, Vendôme, Cedex, France, 700 bar). Dicho equipo permite hacer extracciones con CO<sub>2</sub> supercrítico adicionado con cosolventes en modo estático.

Las extracciones con cada cosolvente se dividieron en dos grupos, extracciones de blanco de matriz (sin plaguicidas, realizadas para identificar posibles interferentes) y extracciones de muestras blanco de suelo fortificadas con los plaguicidas. En cada caso se emplearon porciones de 10 g de suelo previamente tamizado. Las muestras de suelo fueron fortificadas a las concentraciones indicadas en la Tabla 1 (concentración final de plaguicida en el suelo en mg/kg) empleando 512  $\mu$ L de la mezcla de plaguicidas. Dicha fortificación se realizó dividiendo la muestra de suelo en 6 partes; en el centro de cada una se agregó, gota a gota, la mezcla de plaguicidas y posteriormente se homogeneizó con una espátula; una vez fortificada se dejó evaporar el solvente al aire durante 30 minutos.

Las condiciones de extracción empleadas para el blanco de matriz y muestras fortificadas fueron a 35 °C, 14 MPa



**Figura 1.** Equipo de extracción supercrítica. (1) Reservorio de CO<sub>2</sub>, (2) bomba neumática, (3) reservorio-saturador de cosolvente, (4) celda de extracción de 40 mL, (5) separador de 150 mL, (6) Controlador de temperatura, válvulas de paso (a-g) y manómetros análogos (h-j).

(en modo estático). En cada extracción se empleó 10 mL de cada uno de los cosolventes (AcOEt, Me<sub>2</sub>CO y MeOH), los cuales fueron ubicados en el reservorio-saturador. El CO<sub>2</sub> fue burbujeadado a través de cada cosolvente con el fin de saturarlo previo a su paso hacia la celda de extracción. Cada muestra fue sometida a cuatro etapas de extracción cada una de quince minutos para un total de una hora de extracción; en cada etapa se recolectó el extracto obtenido, y finalmente se unieron para obtener el extracto final; este se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis. El número de réplicas de extracción fueron dos para los blancos de matriz y tres para las muestras fortificadas.

**Tabla 1.** Concentraciones finales de los plaguicidas en el suelo fortificado

Plaguicida	mg kg <sup>-1</sup>	Plaguicida	mg kg <sup>-1</sup>
Captan	0,249	Clorpirifos	0,115
Diazinón	0,936	4,4´-DDT	0,082
Fenamifos	0,169	Diclorvos	0,916
$\gamma$ -HCH	0,098	Dimetoato	0,605
HCB	0,098	Endosulfan ( $\alpha + \beta$ )	0,180
Pirazofos	0,465	Malation	0,615
Deltametrina	0,082	Metalaxil	0,889
Tetradifón	0,293	Metamidofos	1,571
Iprodión	0,422	Monocrotofos	0,659
$\beta$ -Ciflutrina	0,309	Metilparation	0,433
Diclofluanid	0,169	Profenofos	0,198
$\lambda$ -Cihalotrina	0,098	Cipermetrina	0,148
Permetrina	0,163	Fenamifos	3,356
Tebuconazol	1,588	Difenoconazol	1,246
Isofenfos	0,334	Propargite	5,031
Acefato	1,571	Heptenofos	0,892
Clorotalonil	0,214		

**Análisis de extractos**

Los extractos obtenidos se concentraron a sequedad, cada uno por separado, se reconstituyeron en AcOEt y se analizaron en un cromatógrafo de gases HP6890 plus, equipado con un inyector automático 7683 Agilent Technologies (Palo Alto, CA., USA) y con control electrónico de presión, dotado con un inyector (división/sin división) conectado a un divisor de flujo (Y) de borosilicato acoplado a una columna capilar HP-5 (30 m, 0,32 mm d.i., 0,25  $\mu$ m), acoplada a un detector de microcaptura electrónica  $\mu$ -ECD<sup>63</sup> Ni y con una columna capilar HP-50 (30 m, 0,32 mm d.i., 0,25  $\mu$ m), acoplada en paralelo a un detector de nitrógeno-fosforo NPD. Las condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de los plaguicidas fueron las siguientes: volumen de

inyección 2  $\mu$ L en modo sin división, con un pulso de presión de 65 psi durante 0,8 min; tiempo de purga de 0,6 min, flujo de purga 40 mL min<sup>-1</sup> y temperatura de inyector de 256 °C. El gas portador fue nitrógeno. El programa de temperatura en el horno fue de 52 °C (0 min), a 100 °C, a una velocidad de 4 °C min<sup>-1</sup>; posteriormente la temperatura se incrementó hasta 110 °C a 2 °C min<sup>-1</sup>; a continuación se llevó hasta 130 °C, a una velocidad de 20 °C min<sup>-1</sup>, luego hasta 195 °C a 4 °C min<sup>-1</sup> y finalmente se llegó a 280 °C a una velocidad de 5 °C min<sup>-1</sup>. El tiempo total del análisis fue de 64,25 min. La temperatura del detector  $\mu$ -ECD fue 310 °C, con un flujo de gas auxiliar de 10 mL min<sup>-1</sup> (N<sub>2</sub>). El detector NPD se trabajó a 330 °C con flujos de gas auxiliar de 10 mL min<sup>-1</sup>, H<sub>2</sub> de 3 mL min<sup>-1</sup> y aire de 60 mL min<sup>-1</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Evaluación de la selectividad y especificidad de la metodología

En las Figuras 2a y 2c se muestran los resultados obtenidos al analizar el extracto del blanco de matriz utilizando MeOH como cosolvente. Es evidente que para ninguno de los detectores empleados se obtuvieron señales significativas de los plaguicidas objeto de estudio, por lo cual se puede afirmar que el método utilizado es específico. Por otra parte, en las Figuras 2b y 2d se encuentran los cromatogramas de una muestra fortificada a las concentraciones indicadas en la Tabla 1 y extraída con MeOH como cosolvente. Para evaluar la selectividad del método se determinó la resolución entre las señales cromatográficas obtenidas para cada plaguicida, encontrándose valores cercanos o superiores a 1,5; de otra parte, se comprobó que las impurezas de la matriz no interfieren con los analitos de interés. Por tanto, se puede concluir que el método de análisis resultó ser adecuado para realizar los estudios de recuperación con el uso de AcOEt, Me<sub>2</sub>CO y MeOH como cosolventes.

### Influencia de los cosolventes en la extracción

La evaluación de los resultados de cada uno de los cosolventes se realizó determinando los porcentajes de recuperación para cada uno de los plaguicidas bajo ensayo. La Figura 3a presenta un gráfico comparativo de los resultados encontrados con Me<sub>2</sub>CO y MeOH. En esta figura se puede observar que ciertos compuestos como heptenofos, acefato, metamidofos, triflumuron y monocrotofos no fueron extraídos con Me<sub>2</sub>CO, mientras que con MeOH se obtuvieron recuperaciones superiores al 70%; este hecho puede atribuirse a la mayor afinidad que tiene el

MeOH con estas sustancias, pues cada una de ellas se caracteriza por presentar polaridades relativamente altas. Por otro lado, estos resultados concuerdan con diferentes estudios en los que se emplea MeOH en el proceso de extracción de moléculas de alta polaridad (12, 15).

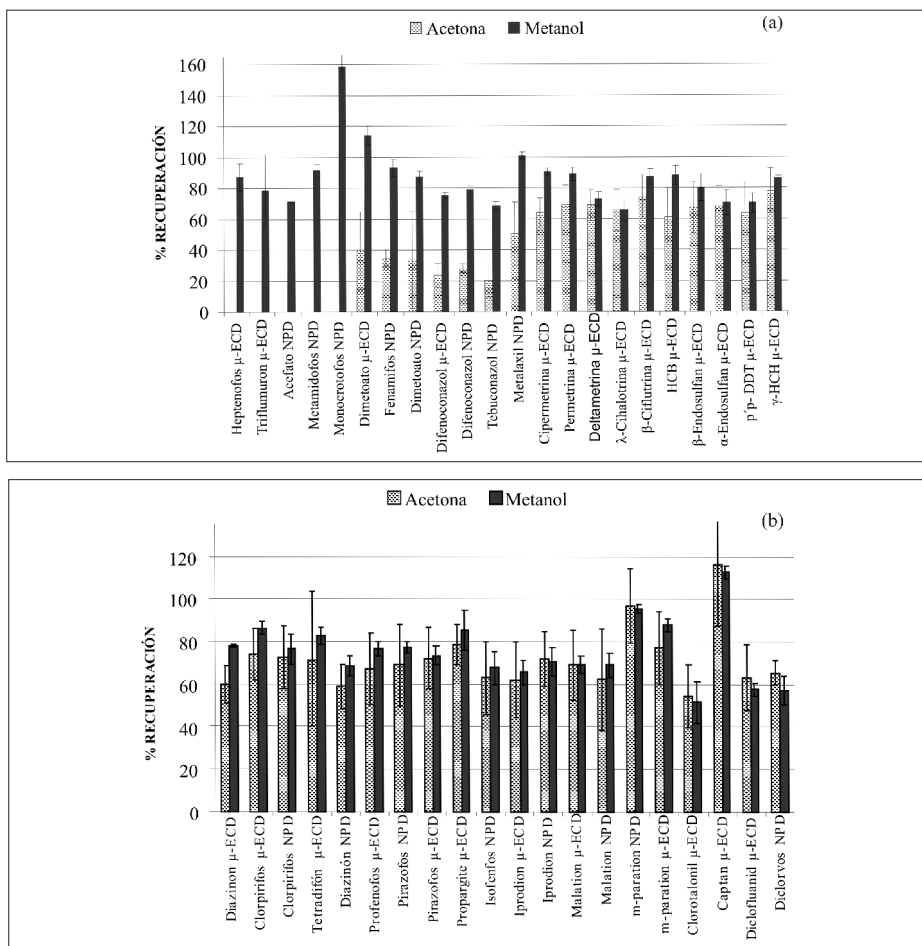
En la Figura 3a también se aprecia que compuestos como dimetoato, metalaxil, fenamifos, tebuconazol y difenoconazol presentan recuperaciones mayores al usar MeOH con respecto a Me<sub>2</sub>CO; esto pone en evidencia que el empleo de MeOH como cosolvente mejoró la eficiencia en la extracción. Este incremento en la tasa de recuperación se puede atribuir principalmente a la interacción que tuvo cada plaguicida con el solvente, pues como se observa, los compuestos que presentan estructuras similares, como el difenocnazol y el tebuconazol, manifestaron mejoras en sus porcentajes de recuperación en la misma proporción (12).

Por otro lado, en la Figura 3a se observa que los porcentajes de recuperación obtenidos para los plaguicidas piretroides y organoclorados son muy similares empleando los dos cosolventes, e inclusive la dispersión de los resultados se encuentra dentro del mismo rango, a excepción de permetrina y cipermetrina. Además se ve que con metanol como cosolvente, los promedios de los porcentajes de recuperación son mayores en todos los casos, y este es un hecho que indica que la eficiencia en la extracción no sólo es función de la polaridad de las moléculas sino también de muchos otros factores (12).

En la Figura 3b, se encuentran los porcentajes de recuperación de los plaguici-







**Figura 3.** Porcentajes de recuperación y coeficientes de variación de los plaguicidas obtenidos en la extracción con CO<sub>2</sub>-SC-cosolvente de suelo fortificado, detectados por  $\mu$ ECD y NPD (n = 3).

das restantes, y se puede observar que en general los resultados hallados son similares para MeOH y Me<sub>2</sub>CO. Por otra parte, en las Figuras 3a y 3b se evidencia que al emplear MeOH se presentan los mayores porcentajes de recuperación con los coeficientes de variación más bajos (barras de error), para todos los plaguicidas hecho que reafirma que este cosolvente ofrece los mejores resultados en el proceso de extracción.

En cuanto a los resultados establecidos al usar AcOEt como cosolvente, se encontró que de los 32 plaguicidas analizados, 19 presentaron porcentajes de recuperación inferiores al 40%, mientras que los compuestos restantes arrojaron coeficientes de variación superiores al 30%. A partir de estos hechos se concluye que el empleo del AcOEt como cosolvente no resulta conveniente en las condiciones de trabajo empleadas para el presente estu-



dio. La baja eficiencia en la extracción de plaguicidas encontrada con AcOEt se puede atribuir a diferentes factores como (i) baja polaridad en comparación a los demás cosolventes, lo cual limita la interacción que pueda tener la fase extractante con los analitos; (ii) presencia de una baja cantidad de AcOEt en el fluido supercrítico o un bajo grado de saturación, que puede ocasionar un enmascaramiento del efecto modificador, y (iii) una mezcla no adecuada entre el AcOEt y el CO<sub>2</sub> para la extracción de estos plaguicidas (16).

Finalmente, los resultados mostraron que a medida que la polaridad del solvente orgánico se incrementa (MeOH > Me<sub>2</sub>CO > AcOEt), los porcentajes de recuperación de los plaguicidas aumentan y la dispersión de los resultados disminuye.

## CONCLUSIONES

De los cosolventes empleados, el acetato de etilo mostró los porcentajes de recuperación más bajos para los plaguicidas en estudio, lo cual hace que el empleo de este cosolvente en las condiciones de trabajo del presente estudio resulte ser poco adecuado. Por otro lado, al emplear acetona como cosolvente se halló que cerca del 65% de los plaguicidas presentan un porcentaje de recuperación superior al 60%, y el mayor coeficiente de variación correspondió al 34,82%.

Al emplear metanol, se encontró que solo clorotalonil y diclofluanid presentaron porcentajes de recuperación inferiores al 60%, y los coeficientes de variación hallados resultaron ser los más bajos de los tres cosolventes empleados. En consecuencia, el empleo de metanol como cosolvente es la mejor alternativa para la ex-

tracción de los plaguicidas del presente estudio en suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento al Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, al Laboratorio de Alta Presión perteneciente al grupo de investigación Estudio de Cambios Químicos y Bioquímicos de Alimentos Frescos y Procesados, del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dierkmeier, G. *Plaguicidas, residuos, efectos y su presencia en el medio* (1a. ed.). 2001, La Habana (Cuba).
2. Yanggen, D. C. y Espinosa, P. *Los plaguicidas: impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador* (1. ed.). 2003, Ecuador, CIP e INIAP, 199 p.
3. Toledo, C. *Dinámica de plaguicidas sobre el suelo. Contaminación de suelos y sedimentos*. 1999. Laboratorio Químico de Monitoreo Ambiental, Laqma Ltda.
4. Dean, J. R. Effect of soil-pesticide interactions on the efficiency of supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*. 1996. **745** (1-2): 221-233.
5. Castelo-Grande, T., Augusto, P. A., Barbosa, D. Removal of pesticides from soil by supercritical extraction—A preliminary study. *Chemical*

- Engineering Journal*. 2005. **111** (2-3): 167-171.
6. Dabrowska, H., Dabrowski, L., Bi-ziuk, M., Gaca, J., Namienik, J. Solidphase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run. *Journal of Chromatography A*. 2003. **1003** (1-2): 29-42.
  7. Hussen, A.; Rikard Westbom, R.; Megersa, N.; Mathiasson, L.; Bjorklund, E. Selective pressurized liquid extraction for multi-residue analysis of organochlorine pesticides in soil. *Journal of Chromatography A*. 2007. **1152** (1-2): 247-253.
  8. Lesueur, C.; Gartner, M.; Mentler, A.; Fuerhacker, M. Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Talanta*. 2008. **75** (1): 284-293.
  9. Pérez, M.; Cortada, C.; Apraiz, D.; Molton, J.; Font, G. SPME of 52 pesticides and polychlorinated biphenyls. Extraction efficiencies of the spme coatings poly (dimethylsiloxane), polyacrylate, poly (dimethylsiloxane) - divinylbenzene, carboxenpoly (dimethylsiloxane), and carbo-waxdivinylbenzene. *Journal of Separation Science*. 2001. **24** (1): 39-48.
  10. Kreuzig, R.; Koinecke, A.; Bahadir, M. Use of supercritical fluid extraction in the analysis of pesticides in soil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2000. **43** (1-3): 403-409.
  11. Koinecke, A.; Kreuzig, R.; Bahadir, M. Effects of modifiers, adsorbents and eluents in supercritical fluid extraction of selected pesticides in soil. *Journal of Chromatography A*. 1997. **786** (1): 155-161.
  12. Rissato, S. R.; Galhiane, M. S. Multiresidue analysis of pesticides in soil by supercritical fluid extraction/gas chromatography with electron-capture detection and confirmation by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. **53** (1): 62-69.
  13. Lehotay, S. J. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods. *Journal of Chromatography A*. 1997. **785** (1-2): 289-312.
  14. Stefani, R.; Buzzi, M.; Grazzi, R. Supercritical fluid extraction of pesticide residues in fortified apple matrices. *Journal of Chromatography A*. 1997. **782** (1): 123-132.
  15. Motohashi, N.; Nagashima, H.; Párkányi, C. Supercritical fluid extraction for the analysis of pesticide residues in miscellaneous samples. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2000. **43** (1-3): 313-328.
  16. Luque de Castro, M.; Valcárcel, M.; Tena, M. Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico (1a. ed.), vol. 1, 1993, Barcelona, Editorial Reverté, S. A., 469 p.