

ZUBIA	8	23-32	Logroño	1990
-------	---	-------	---------	------

OPTIMIZACIÓN Y LINEALIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE MALATIÓN Y FENITROTIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR NITRÓGENO-FÓSFORO (NPD)*

Fernando Pérez Ortiz de Viñaspre**

Cecilia Sáenz Barrio**

Jesús Sanz Asensio**

Javier Galbán Bernal**

RESUMEN

En este trabajo se han optimizado los rangos de linealidad de respuesta del malatión y del fenitrotión, mediante la utilización de la cromatografía gaseosa, columna capilar, detector de nitrógeno-fósforo (NPD) y como patrones internos el fenitrotión y el clorpirifos respectivamente.

Palabras clave: malatión, fenitrotión, cromatografía de gases, detector NPD.

In this work, Malathion and Fenitrothion linearity is optimized by Gas Chromatography, capillary column, Nitrogen-Phosphorus Detector (NPD) and Fenitrothion and Chlorpyrifos as internal standards.

Key words: malathion, fenitrothion, gas chromatography, NPD detector.

0. INTRODUCCIÓN

Se denominan *pesticidas* o *plaguicidas* a las sustancias que sirven para combatir los parásitos de los cultivos, del ganado, del hombre o de su ambiente.

* Recibido el 30 de Octubre de 1989. Aprobado el 19 de Octubre de 1990.

** Departamento de Química Analítica, Colegio Universitario de La Rioja. C/ Obispo Bustamente, 3. 26001 Logroño.

Su utilización supone un riesgo de contaminación para los alimentos, y como consecuencia, una posible intoxicación de los consumidores; así, muchos países establecen unas normas en las que se especifican las cantidades máximas de pesticidas que pueden admitirse en los alimentos. Estos tratamientos contribuyen a la aparición de estos compuestos en aguas naturales, de abastecimiento industrial y humano; su estudio es importante desde el punto de vista de la potabilidad y calidad del agua, ya que la presencia de estos compuestos en ríos puede llevar consigo la contaminación de nuevos ecosistemas.

Tras su aplicación, los pesticidas van desapareciendo por volatilización, lavado y reacciones de degradación química (fotoquímica, hidrólisis...) o bioquímica, pudiendo dar lugar a metabolitos, cuya toxicidad no está aún determinada.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Debido a que las cantidades de pesticidas que aparecen en agua son muy pequeñas (10-20 ng/mL), se hace difícil su determinación directa, siendo necesario realizar previamente un tratamiento de enriquecimiento y separación de la muestra.

La extracción de estos compuestos en muestras de agua se puede realizar mediante un disolvente: éter de petróleo (Zweig et al., 1972), diclorometano (Turoski et al., 1983; Lee et al., 1983, 1984; Ahmad, 1987; Reupert et al., 1988), hexano (Kiryushina, 1976; Blauchet, 1979; Suett et al., 1979; Babkina et al., 1980), éter etílico (Pressley et al., 1982) o bien utilizando una mezcla de disolventes: diclorometano-hexano (Pressley et al., 1982).

Realizada la extracción, el extracto se concentra en un rotavapor (Babkina et al., 1980) o en baño de agua, y posteriormente se purifica haciéndolo pasar a través de una columna, tipo Florisil (Lee et al., 1983, Pressley et al., 1982), Silica gel (Lee et al., 1984; Farrow et al., 1987; Wells et al., 1987) o Amberlita XAD (Moore et al., 1984). Si fuera necesario, se añade algún agente deshidratante (sulfato sódico anhidro o cloruro cálcico), previamente a su identificación y cuantificación según la técnica analítica elegida.

Las técnicas más utilizadas para la determinación de pesticidas son las cromatografías: cromatografía de gases (G.C.) (Lee et al., 1984, Babkina et al., 1980, Pressley et al., 1982, Koshima et al., 1982), con la que se puede alcanzar una alta selectividad; cromatografía líquida de alta resolución (H.P.L.C.) (Farrow et al., 1987, Van Dyk et al., 1987) y cromatografía de capa fina (T.L.C.) (Barnoux et al., 1978; Chimil, 1980; Petrova et al., 1980).

En la cromatografía de gases, dependiendo del tipo de compuesto a determinar se utilizan diferentes detectores, así, para pesticidas organoclorados el detector es de captura de electrones (ECD) (Lee et al., 1983, 1984; Golovkin et al., 1984), mientras que los pesticidas organofosforados se analizan utilizando detector de nitrógeno-fósforo (NPD) (Koshima et al., 1982; Pressley et al., 1982; Takehara et al., 1982). Otro detector que también se ha utilizado en la determinación de algunos pesticidas es el de ionización de llama (FID) (Barnoux et al., 1978; Blauchet, 1979; Pressley et al., 1982).

En la actualidad, también se utilizan para la investigación de estos compuestos las técnicas acopladas, entre las cuales se puede destacar el acoplamiento cromatografía gaseosa-espectrometría de masas (G.C.-M.S.) (Zweig et al., 1972, Turoski et al., 1983; López Ávila et al., 1985), de gran utilidad para la detección e identificación de metabolitos de pesticidas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

A) Aparatos

Todas las determinaciones cromatográficas se han realizado en un cromatógrafo de gases HP 5890, equipado con detectores ECD y NPD y con un integrador-registrador HP 3390 A.

B) Disoluciones

Todas las disoluciones utilizadas en este trabajo se han obtenido a partir del pesticida puro (99.9%) disuelto en isooctano. Se han preparado disoluciones concentradas a partir de las cuales, se han obtenido otras más diluidas en el momento de su utilización.

1.- *Malatión*.- Líquido de densidad 1.2 g/mL (Riedel-de Haen, Pestanal de alta pureza). Se pesan exactamente 60 mg y se disuelven en 10 mL de isooctano, obteniéndose una disolución de 6,000 µg/mL.

2.- *Clopirifos*.- Se pesan exactamente 48.9 mg del producto sólido (Riedel-de Haen, Pestanal de alta pureza), y se disuelven en 10 mL de isooctano, obteniéndose una disolución de 4,890 µg/mL.

3. *Diazinón*.- Líquido de densidad 1.11 g/mL (Riedel-de Haen, Pestanal de alta pureza). Se pesan exactamente 55.5 mg y se disuelven en 10 mL de isooctano, obteniéndose una disolución de 5,550 µg/mL.

4. *Fenitrotión*.- Se pesan exactamente 30.3 mg del producto sólido (Riedel-de Haen, Pestanal de alta pureza) y se disuelven en 10 mL de isooctano, obteniéndose una disolución de 3,030 µg/mL.

Para la optimización y linealidad del malatón y del fenitrotión, se han utilizado las condiciones experimentales establecidas en un trabajo previo realizado en este mismo departamento (Sáenz et al., 1989), y que aparecen reflejadas en la Tabla 1.

Tabla 1

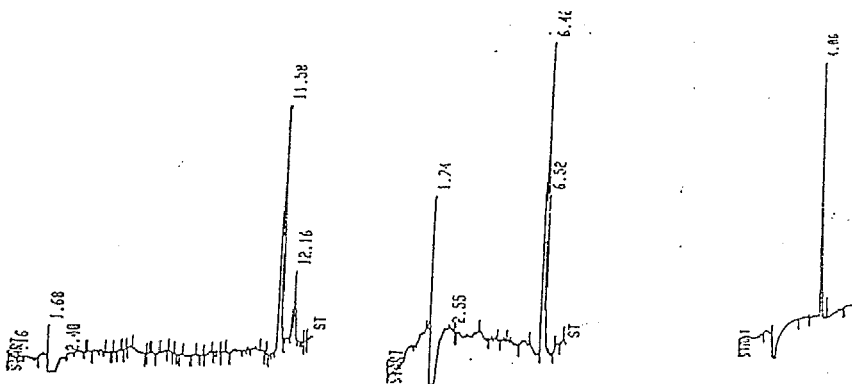
Detector.....	NPD
Temperatura del Detector.....	300 °C
Programa de temperatura del horno	Isotermo
Temperaturas del horno	200 °C, 225 °C, 250 °C
Temperatura Portal de Inyección	275 °C
Flujo gas portador (nitrógeno).....	0.6 mL/min
Flujo gas auxiliar (nitrógeno).....	30 mL/min
Flujo de aire (detector).....	70 mL/min
Flujo de hidrógeno (detector).....	4.0 mL/min
Flujo de venteo de purga	3.0 mL/min
Flujo de Split.....	100 mL/min
Volumen de Inyección.....	1.0 µL
Concentración de pesticida.....	5.0 µg/mL
Columna	Capilar tipo: 5% metil-fenil-silicona. Espesor película: 0.33 µm. Diámetro interno: 0.20 mm. Longitud: 25 m.

2.1. Optimización y linealidad del malatión

La recta de calibrado se realizó utilizando como patrón interno el fenitrotión de concentración 15.09 µg/mL.

Las temperaturas a las que se realizó el estudio, fueron 200 °C, 225 °C y 250 °C. La temperatura de 250 °C tuvo que ser desechada en su utilización al coincidir el tiempo de retención del malatión con el del patrón interno (Figura 1).

Figura 1



Mediante ajuste matemático, por el método de los mínimos cuadrados, los valores experimentales obtenidos se ajustan a sendas rectas, cuyas ecuaciones son:

Ecuación 1: Malatión / Fenitrotión a 200 °C

$$\text{Área Malatión} / \text{Área Fenitrotión} = 0.1426 \times [\text{Malt}] - 0.2775$$

Coefficiente de correlación = 0.9992

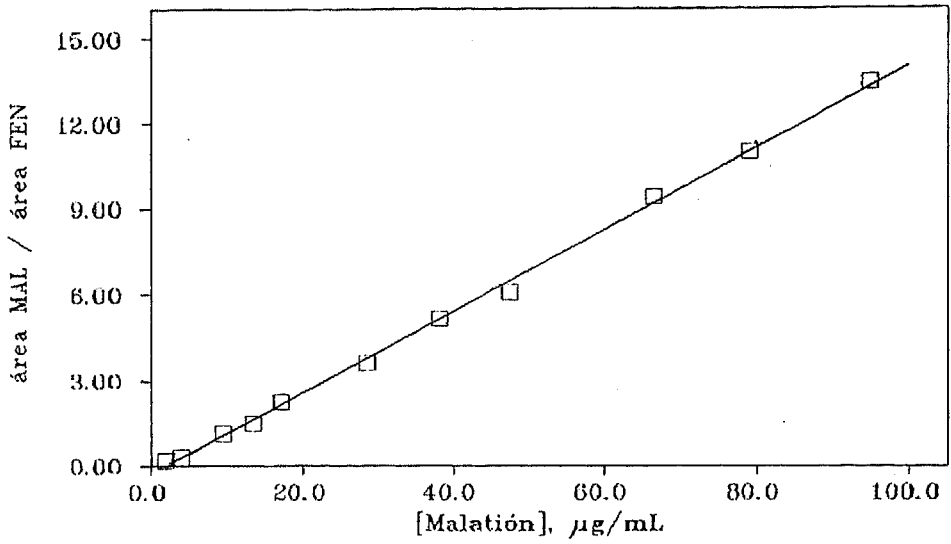
Ecuación 2: Malatión / Fenitrotión a 225 °C

$$\text{Área Malatión} / \text{Área Fenitrotión} = 0.1615 \times [\text{Malt}] - 0.3507$$

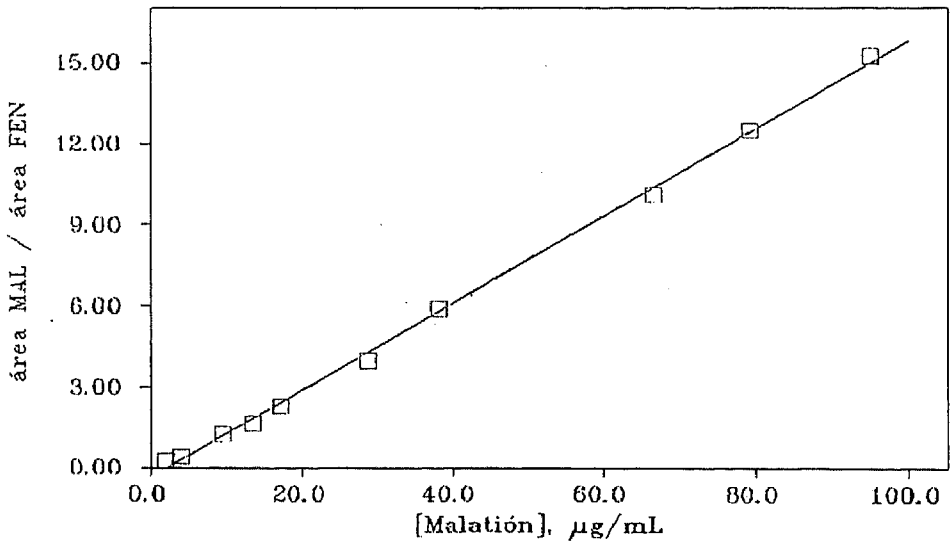
Coefficiente de correlación = 0.9993

Los rangos de linealidad que se obtienen, a ambas temperaturas, alcanzan los 95.0 µg/mL y sus representaciones gráficas se reflejan en las gráficas 1 y 2 respectivamente.

Gráfica 1



Gráfica 2

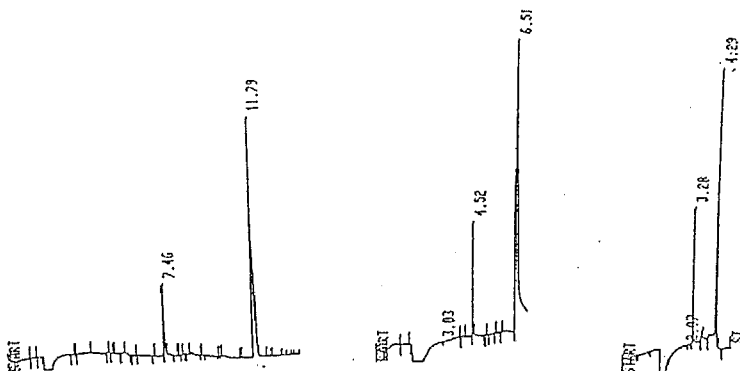


2.2. Optimización y linealidad del fenitrotión

2.2.1. Diazinón como patrón interno

La recta de calibrado del fenitrotión se realizó en un principio utilizando como patrón el diazinón (14.98 µg/mL), ya que, por un lado, los tiempos de retención de ambos pesticidas a las temperaturas de trabajo están perfectamente diferenciados (Figura 2) y, por otro, los valores se ajustan adecuadamente a una correcta linealidad.

Figura 2



Las ecuaciones que se obtienen a 225 °C y 250 °C son:

Ecuación 3: Fenitrotión / Diazinón a 225 °C

$$\text{Área Fenitrotión} / \text{Área Diazinón} = 0.03744 \times [\text{Fen}] - 0.0047$$

Coefficiente de correlación = 0.9998

Ecuación 4: Fenitrotión / Diazinón a 250 °C

$$\text{Área Fenitrotión} / \text{Área Diazinón} = 0.0435 \times [\text{Fen}] - 0.0154$$

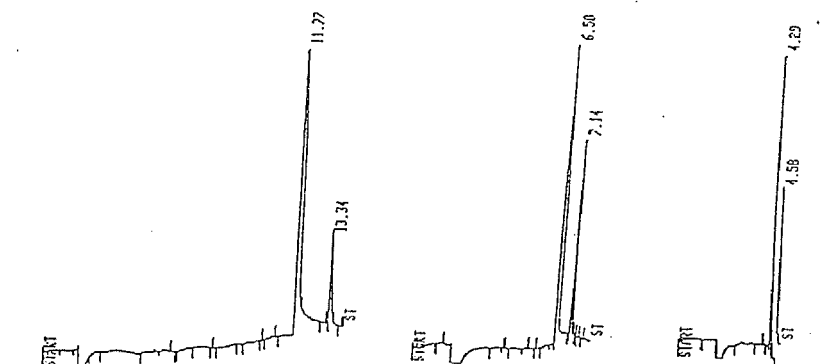
Coefficiente de correlación = 0.9999

Sin embargo, los rangos de linealidad que se obtienen a las distintas temperaturas de experimentación, en cuanto a concentraciones y empleando diazinón como patrón interno, son muy cortos y desechables por ello analíticamente (a 200°C es despreciable; a 225°C hasta 16.6 µg/mL y a 250°C hasta 61.8 µg/mL). Por ello, se sustituyó el diazinón por el clorpirifos como patrón interno.

2.2.2. *Clorpirifos como patrón interno*

Se realizó el estudio empleando una concentración de 15.01 µg/mL de clorpirifos y a las temperaturas de 200 °C, 225 °C y a 250 °C, obteniéndose las separaciones que se representan en la Figura 3.

Figura 3



Se observa, que con este patrón se obtienen rangos de linealidad más amplios: a 200°C y 225 °C hasta 270 µg/mL, y a 250°C hasta 360 µg/mL. Mediante el tratamiento matemático de los mínimos cuadrados, las expresiones matemáticas que se obtienen para estos valores se reflejan en las ecuaciones 5, 6 y 7 respectivamente, y en las gráficas 3, 4 y 5.

Ecuación 5: Fenitrotión / Clorpirifos a 200 °C

$$\text{Área Fenitrotión} / \text{Área Clorpirifos} = 0.0429 \times [\text{Fen}] + 0.0735$$

Coefficiente de correlación = 0.9999

Ecuación 6: Fenitrotión / Clorpirifos a 225 °C

$$\text{Área Fenitrotión} / \text{Área Clorpirifos} = 0.0419 \times [\text{Fen}] - 0.0363$$

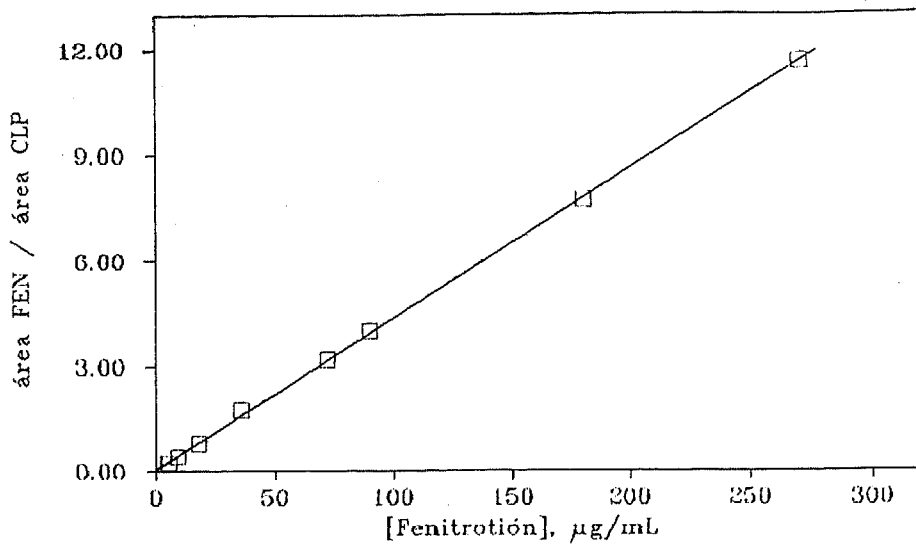
Coefficiente de correlación = 0.9994

Ecuación 7: Fenitrotión / Clorpirifos a 250 °C

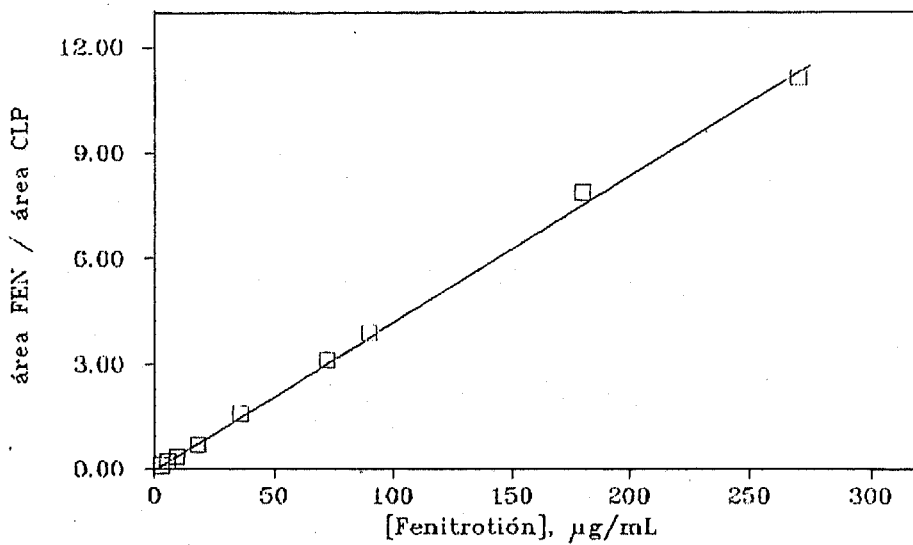
$$\text{Área Fenitrotión} / \text{Área Clorpirifos} = 0.0439 \times [\text{Fen}] - 0.1889$$

Coefficiente de correlación = 0.9993

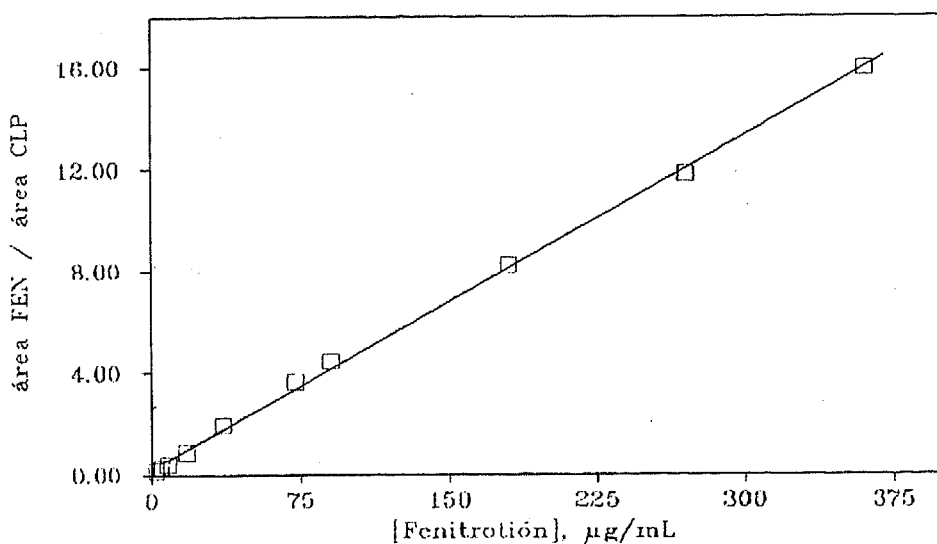
Gráfica 3



Gráfica 4



Gráfica 5



3. CONCLUSIONES

1.- En la optimización y linealidad del malatión, utilizando como patrón interno el fenitrotión, el rango de linealidad, a 200 °C y 225 °C es desde 1.9 µg/mL a 95.0 µg/mL.

2.- El fenitrotión no es el patrón interno adecuado para la determinación de malatión a 250 °C, al coincidir sus tiempos de retención.

3.- El diazinón no es el patrón interno adecuado para la determinación de fenitrotión, debido al bajo rango de respuesta lineal.

4.- En la optimización y linealidad del fenitrotión, utilizando como patrón interno clorpirifos, los rangos de linealidad son desde 2.7 µg/mL a 270 µg/mL a las temperaturas de 200 °C y 225 °C y desde 2.7 µg/mL a 360 µg/mL a 250 °C.

5.- El clorpirifos es un patrón interno adecuado para la determinación de fenitrotión por cromatografía de gases en programación isotérmica a 200 °C, 225 °C y 250 °C.

4. AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento al Instituto de Estudios Riojanos, por la ayuda de investigación que asignó para la realización de este trabajo, y sin la cual no hubiera podido llevarse a cabo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, I., 1987. Capillary column gas-chromatographic determination of trace residues of the her-bicide chloresulfuron in agricultural run-off water. *J. Assoc. Off. Anal Chem.* (70), 745-748.
- Babkina, E.I., Dibtseva, A.V., Siverina, A.A., 1980. Gas chromatographic determination of pesticides in soil and water. *Khim. Sel'sk Khoz.* (18), 55-58.

- Bargnoux, H., Pepin, D., Chabard, J.L., Vedrine, F., Petit, J., Berger, J.A., 1978. Application of freeze-drying to analytical preconcentration of organothiophosphorus pesticides in waters. I. Influence of the inorganic composition of the water. *Analusis*. (6), 107-112.
- Blauchet, P.F., 1979. Use of hexane for quantitative recovery of organophosphorus pesticides from aqueous solution. Field method and preservation technique. *J. Chromatogr.* (179), 123-129.
- Chimil, V.D., 1980. Group pre-concentration of trace amounts of pesticides in analysis of water. *Zh. Anal. Khim.* (35), 2413-2417.
- Farran, A., De Pablo, J., 1987. Evaluation of combined flow injection - high-performance liquid chromatography for the determination of three organophosphorus pesticides in liquid wastes. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* (30), 59-68.
- Glovkin, G.V., Smolchenko, A.I., Federov, K.P., Rudenko, B.A., 1984. Gas-chromatographic determination of chlorinecontaining pesticides in Atlantic surface waters. *Zh. Anal. Khim.* (39), 273-278.
- Kiryushina, L.P., 1976. Chromatographic determination of Basudin [diazinon] residues in soil, water and fish. *Khim. Sel'sk. Khoz.* (14), 54.
- Koshima, H., Onishi, H., 1983. Pre-concentration of organophosphorus pesticides from aqueous solutions with graphitized carbon black column. *Bunseki Kagaku.* (32), E251-E258.
- Lee, H.B., Chau, A.S., 1983. Determination of trifluralin, diallate, tri-allate, atrazine, barban, diclofop-methyl and benzooylprop-ethyl in natural waters at parts-per-trillion [10^{-12}] levels. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* (66), 651-658.
- Lee, H.B., Weng, L.D., Chau, A.S., 1984. Chemical derivatization analysis of pesticide residues. IX. Analysis of phenol and 21 chlorinated phenols in natural waters by formation of pentafluorobenzyl ether derivatives. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* (67), 1086-1091.
- López-Avila, V., Hirata, P., Kraska, S., Flanagan, M., Taylor, J.M., Hern, S.C., 1985. Determination of atrazine, lindane (gamma-HCH), pentachlorophenol and diazinon in water and soil by isotopedilution gas chromatography -mass spectrometry. *Anal. Chem.* (57), 2797-2801.
- Moore, R.A., Karasek, F.W., 1984. Extraction of organic compounds from aqueous media by Amberlite XAX resins. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* (17), 187-202.
- Petrova, T.M., Andreev, Y.B., 1980. Determination of Basudin [diazinon] and Dursban [chlorpyrifos] in soil and water. *Khim. Sel'sk. Khoz.* (18), 52-54.
- Pressley, A.T. Longbottom, J.E., 1982. Determination of organophosphorus pesticides in industrial and municipal waste water. *U.S. Environ. Prot. Agency Off. Res. Dev. [Rep.]* (EPA-600/4-822-004), 24.
- Reupert, R., Ploeger, E., 1988. Determination of nitrogen-containing pesticides by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *Fresenius Z. Anal. Chem.* (331), 503-509.
- Sáenz, C., Sanz, J. Galbán, J., 1988. Determinación de O,O-diethyl O-(2-isopropil-4-metil-6-pirimidinil) fosforotioato (diazinón), en manzana, por cromatografía de gases. Estudio analítico de su degradación. *Zubta.* (7), 122-123.
- Suett, D.L., Wheatley, G.A., Padbury, C.E., 1979. Preparation and stability of dilute insecticide analytical standard for gas chromatography. *Analyst.* (104), 1176-1180.
- Takehara, H., Hiratsuka, Y., 1982. Rapid determination of organophosphorus pesticides in waste water by gas chromatography with a flame thermoionic detector. *Bunseki Kagaku.* (31), 529-531.
- Turoski, V.E., Woltman, D.L., Vincent, B.F., 1983. Determination of organic priority pollutants in the paper industry by gaschromatography - mass-spectrometry. *Tappi J.* (66), 89-90.
- Van Dyk, L.P., Reyskens, D.H., Goosen, D.J., Carstens, H., 1987. Quality assurance in pesticide formulation analysis. *Analyst.* (112), 1309-1313.
- Wells, H.J., Michael, J.L., 1987. Reversed-phase solid-phase extraction for aqueous environmental sample preparation in herbicide residue analysis. *J. Chrom. Sci.* (25), 345-350.
- Zweig, G., Sherma, J., 1972. Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. VI.- Gas chromatographic analysis. Academic Press. 1-73, 132-231.