

INSTITUTO «LOPEZ-NEYRA» DE PARASITOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA

ANALISIS DE PESTICIDAS FOSFORADOS
POR CROMATOLOGRAFIA EN CAPA FINA

por

LÓPEZ-NAVARRETE, M. J.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; MONTEOLIVA, M.

SUMMARY

It has been tried to find the best conditions for the use of chromatography in thin layer, as a technique of valoration and identification of the residues of pesticides.

When the stationary phase is Silicagel GF₂₅₄, the sensibility is higher.

A suitable separation of the pesticides assayed has been obtained by means of the mobile phase Benzene-acetic acid (90/10).

Concerning the quantitative valoration, a yield of 70 % has been reached in the case of Malathion.

RESUME

On a essayé de trouver les conditions idéales pour l'emploi de la chromatographie en couche-mince, comme technique de valoration et d'identification des residus de pesticides. La sensibilité est mayeure quand le adsorbent est Silicagel GF₂₅₄.

Avec le systeme d'elution, bencene-acide acetique (90/10), on a obtenu une separation appropriée des pesticides essayés.

Quant a la valoration quantitative, on obtient un rendement de 70 % pour le cas du Malathion.

INTRODUCCION

En un trabajo anterior (1) se describía la extracción de residuos de pesticidas en aguas y la determinación de éstos en el extracto por cromatografía gaseosa. En el presente trabajo se ensaya la posibilidad de identificación y determinación de residuos de pesticidas organofosforados por cromatografía en capa fina.

MATERIAL Y METODOS

El equipo de cromatografía en capa fina empleado ha sido el de Desaga. Como absorbentes o fase fija silicagel G y silicagel GF-254 ambos de la casa Merck. Como fases móviles: hexano/acetona (80/20); benceno/ácido acético glacial (90/10) y ciclohexano/acetona (80/20). Los disolventes orgánicos de la casa Probus y redestilados en el laboratorio.

Reactivos de revelado: a) Nitrato de plata amoniacal.—Se prepara mezclando una parte de solución de nitrato de plata al 10 por 100 en agua con una parte de amoníaco concentrado y ocho partes de alcohol metílico.

b) Azul de bromofenol-nitrato de plata.—Se obtiene mezclando nueve partes de solución de nitrato de plata al 1 por 100 en acetona-agua (75/25) con una parte de azul de bromofenol al 0,4 por 100 en acetona.

Las placas se preparan según Randerath (2) y los patrones de pesticidas, disueltos en hexano o hexano/acetona, se colocan en el punto de origen con microjeringa. El punto de origen a 2 cm del borde y la muestra (generalmente 10 microlitros) extendida en línea de 1 cm. Se mantiene en la cámara cromatográfica hasta que el frente alcanza 10 cm desde el origen en cuyo momento se retira, se seca y se procede a su revelado.

Métodos de revelado: Con nitrato de plata amoniacal.—La placa se expone a la luz ultravioleta (250 nm) durante 10 minutos, se pulveriza el reactivo y se calienta la placa a 100° C unos 10 minutos. Después se vuelve a exponer al ultravioleta hasta aparición de manchas visibles.

Con azul de bromofenol-nitrato de plata.—La placa se seca a 100° C durante siete minutos, se pulveriza el reactivo, se vuelve a secar durante cinco minutos y después se pulveriza la solución de ácido cítrico.

Con fines cuantitativos se ensayó el método de Turner (3) con nitrobenzilpiridina como reactivo de coloración. Para ello y una vez conocida la situación exacta de los pesticidas en la placa desarrollada, se raspó la zona de silicagel correspondiente a la mancha de pesticida y se extrajo en un tubo de ensayo con 2 ml. de hexano-acetona (80/20). Por centrifugación se separa el adsorbente y al sobrenadante, que lleva el pesticida, se le aplica el método colorimétrico de Turner.

RESULTADOS

Los resultados se expresan en las tablas siguientes:

TABLA I

MINIMO DETECTABLE PARA CADA PLAGUICIDA ENSAYADO Y EN FUNCION DE LAS FASES FIJAS, MOVILES Y REVELADORES UTILIZADOS (EXPRESADO EN NANOGRAMOS)

Plaguicida	Nitrato de plata amoniacal						Nitrato plata/azul bromofenol					
	Hexano acetona		Benceno acético		Ciclohexano acetona		Hexano acetona		Benceno acético		Ciclohexano acetona	
	G	GF	G	GF	G	GF	G	GF	G	GF	G	GF
Etion	1	3	10	10	3	3	10	5	2	20	10	10
Diazinon	100	40	40	20	100	50	20	20	20	20	20	20
Dimetoato	30	20	10	10	40	25	75	75	100	100	100	100
Malation	3	10	10	10	10	20	10	5	10	10	10	10
Metilparation	40	25	40	20	50	20	20	30	40	30	25	30
Paration	50	25	40	20	50	30	20	20	20	30	25	30

TABLA II

RF ($\times 100$) DE LOS DISTINTOS PESTICIDAS ENSAYADOS EN FUNCION DE LAS FASES FIJAS Y MOVILES UTILIZADAS

Plaguicida	Hexano/acetona		Benceno/acético		Ciclohexano/acetona	
	G	GF	G	GF	G	GF
Etion	52,3	56,8	84,2	76,2	52,9	51,4
Diazinon	48,8	51,1	51,7	46,6	51,9	47,7
Dimetoato	5,5	7,0	19,9	14,4	7,9	7,1
Malation	30,7	34,4	61,4	50,2	31,0	31,7
Metilparation	30,2	31,9	73,4	67,6	29,6	28,2
Paration	42,9	45,0	77,3	73,1	42,5	39,2

TABLA III

DETERMINACION DE MALATION POR CAPA FINA. TIEMPO OPTIMO DE INCUBACION EN EL DESARROLLO DEL COLOR

Concentraciones	<i>Densidad óptica</i> × 100 a 580 nm.				
	15'	20'	25'	30'	35'
0,5 µg	7,3	8,6	9,6	8,3	7,3
1,0 µg	14,3	16,0	17,6	16,6	16,0
1,5 µg	26,6	27,6	29,0	27,3	26,3
2,0 µg	35,6	37,6	38,0	36,0	35,3
3,0 µ	49,6	53,3	56,3	53,6	53,3

TABLA IV

DETERMINACION DE RESIDUOS DE MALATION POR AISLAMIENTO EN CAPA FINA SEGUIDO DEL METODO COLORIMETRICO DE TURNER

	<i>Sin desarrollo</i>	<i>Con desarrollo</i>
Concentración de malation	2,5 µg	2,5 µg
Número de experiencias	5	5
D. o. (× 100) media	40,2	33,0
Malation recuperado	2,26 µg	1,75 µg
% de recuperación	90,4	70,0

DISCUSION

La cromatografía en capa fina para el análisis de residuos de plaguicidas es un método sencillo, rápido y de fácil manejo y es recomendado por la O. M. S. como técnica que se puede utilizar en los laboratorios de campaña. Hemos ensayado diferentes adsorbentes, fases móviles y reveladores frente a los plaguicidas organofosforados de mayor uso en la provincia de Granada con los resultados que se expresan en las Tablas.

En la Tabla I se observa que la cantidad mínima detectable depende tanto del pesticida como del revelador empleado y de la fase fija. Para el diazinon es más sensible el nitrato de plata/azul

de bromofenol, mientras que para el dimetoato es el nitrato de plata amoniacal. En términos generales ambos reveladores actúan análogamente y la sensibilidad es mayor cuando se utiliza como absorbente el silicagel GF-254.

En la Tabla II se presentan los valores de Rf encontrados y en ella se observa que, para los seis pesticidas ensayados el mejor sistema de separación es el constituido por la fase móvil, benceno/ácido acético (90/10) empleando como fase fija silicagel GF.

El método colorimétrico de Turner, empleando nitrobencilpiridina como reactivo de coloración para la determinación de pesticidas fcsforados lo hemos aplicado a la cuantitativa en capa fina. Se ha utilizado para ello el malation y en la Tabla III se observa que el desarrollo del color es función del tiempo de incubación (en tubo de ensayo) alcanzando un máximo a los 25', sea cualquiera la cantidad de pesticida ensayada. La reacción es cuantitativa. En la Tabla IV se presentan los resultados obtenidos conjugando la separación en capa fina con la determinación colorimétrica. Como puede verse, cuando el pesticida se deposita en el adsorbente y se extrae sin desarrollar hay una pérdida del 9,6 por 100 en el proceso de extracción. Esta pérdida es mayor (20,4 %) cuando se hace un desarrollo previo debido a la difusión que en la fase fija sufre la mancha de pesticida.

RESUMEN

Se ensaya la cromatografía en capa fina como método de identificación y determinación de residuos de pesticidas. Se encuentra una mayor sensibilidad cuando la fase fija es silicagel GF-254. Con la fase móvil, benceno/ácido acético (90/10) se consigue una buena separación de los pesticidas ensayados. La determinación cuantitativa del malation conjugando separación en capa fina y método colorimétrico del Turner nos da un rendimiento del 70 por 100.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido subvencionado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—MONTEOLIVA, M. (1980): *Ars Pharm.*, 21, 437-448.
- 2.—RANDERATH, K.: *Cromatografía de capa fina* (1969). Ediciones Urno. Bilbao.
- 3.—TURNER, G. R. (1974): *Analyst*, 99, 431-434.