

CIENCIA 22(2), 104 - 113, 2014  
Maracaibo, Venezuela

## Validación de un método analítico para la determinación de plaguicidas organofosforados en muestras de uva empleando dispersión de matriz en fase sólida y cromatografía de gas capilar

Gretty Ettiene<sup>1\*</sup>, Dalmiro Torregrosa<sup>1</sup>, Roberto Bauza<sup>2</sup>, Deisy Medina<sup>1</sup>,  
Johanna Raga<sup>3</sup>, Magally Quiros<sup>4</sup>, Idelma Dorado<sup>4</sup>, Yadira Petit<sup>4</sup> y Nedy Poleo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química. Facultad de Agronomía. <sup>2</sup>Departamento de Química. Facultad Experimental de Ciencias. <sup>3</sup>Laboratorio de Tecnología de Alimentos. Facultad de Ingeniería.

<sup>4</sup>Departamento Fitosanitario. Facultad de Agronomía.  
Universidad del Zulia.

Recibido: 29-11-2012 Aceptado: 30-05-2014

### Resumen

En este trabajo se validó un método analítico basado en la técnica dispersión de la matriz en fase sólida (DMFS) y cromatografía de gas capilar con detección selectiva nitrógeno-fósforo para la determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de uva blanca y uva negra. Se ensayaron diferentes condiciones de extracción y limpieza. La mejor condición se obtuvo con 1,0 g de muestra, 1,6 g de florisil como fase dispersante, 1,0 g de carbón grafitado como fase de limpieza y 20 mL de acetato de etilo como solvente de desorción. Se obtuvieron altos porcentajes de recuperación (92,5-108,0%), bajos límites de detección (0,002mg·Kg<sup>-1</sup>, 0,004mg·Kg<sup>-1</sup>, 0,003mg·Kg<sup>-1</sup> y 0,005mg·Kg<sup>-1</sup>) y de cuantificación (0,006mg·Kg<sup>-1</sup>, 0,013mg·Kg<sup>-1</sup>, 0,01mg·Kg<sup>-1</sup>, 0,016mg·Kg<sup>-1</sup>), para diazinon, clorpyrifos, paratión y azinfos, respectivamente. La precisión del método se evaluó en términos de repetibilidad (<3%) y precisión intermedia (<5%). Estos resultados demuestran que la DMFS es una técnica versátil, sencilla, rápida y económica para la preparación de muestras y puede ser empleada para el análisis rutinario de residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de uva blanca y uva negra.

**Palabras clave:** preparación de muestras, dispersión de matriz en fase sólida, cromatografía de gases, plaguicidas organofosforados, uva.

## Validation of an analytical method for the determination of organophosphorus residues pesticides in grape samples by phase solid matrix dispersion and capillary gas chromatography

### Abstract

In this work was validated an analytical method based on the technique of the matrix solid-phase dispersion (MSPD) and gas chromatography capillary with a nitrogen-phosphorus detec-

\* Autor para la correspondencia: [gettiene@fa.luz.edu.ve](mailto:gettiene@fa.luz.edu.ve)

tion for the determination of organophosphorus pesticides residues in samples of black and white grapes. Different extraction and cleanup conditions was performed. The best condition was obtained with 1.0g of sample, 1.6g of florasil like dispersant phase, 1.0g of graphitized carbon black like cleanup phase and 20mL of ethyl acetate for the elution. High recoveries percentages were obtained (92.5 and 108.0%), low LOD ( $0.002\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ,  $0.004\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ,  $0.003\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  y  $0.005\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) and LOQ ( $0.006\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ,  $0.013\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ,  $0.01\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ,  $0.016\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ), for diazinon, chlorpyrifos, parathion and azinphos, respectively. The precision of the method was evaluated with repeatability (<3%) and of intermediate precision (<5%). These results indicate that the MSPD is a versatile, simple, fast and economic technique for the samples preparation and can be applied for routine analysis of organophosphorus pesticides residues in samples of white and black grapes.

**Keywords:** sample preparation, matrix solid phase dispersion, gas chromatography, organophosphorus pesticides, grape.

### Introducción

Los plaguicidas organofosforados (OPs) se han empleado para eliminar y controlar insectos perjudiciales en frutas y vegetales, proporcionando un incuestionable beneficio en la producción agrícola. Sin embargo, después de su aplicación, los residuos que pudieran estar presentes en las frutas y vegetales representan un alto riesgo para la salud humana debido a su toxicidad (1-3), sobre todo si son consumidos de forma fresca y cruda. Estos químicos afectan la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en el sistema neurotransmisor, inhibiendo la hidrólisis de la acetilcolina a colina, la cual es acumulada en el sistema nervioso produciendo síntomas de intoxicación (4).

Para la determinación de OPs en muestras agrícolas se emplean procedimientos multi-etapas, basados en extracción con solventes orgánicos mediante partición líquido-líquido seguido de la remoción de los concomitantes a través de varias etapas de limpieza, aplicando extracción en fase sólida, reparto con disolventes orgánicos inmiscibles, cromatografía de adsorción y/o reparto en columna o cromatografía de permeación de gel (5) y finalmente, etapas de concentración previo al análisis cromatográfico. Estas técnicas de preparación de muestra tradicionales requieren cantidades grandes de muestras (2-100 g), así como sorbentes y solventes de alta pureza (5-9). Además, etapas de re-extracción y evaporación del

solvente. Todo esto conlleva a un elevado manejo de los extractos y en consecuencia, se convierten en métodos costosos en términos de tiempo y consumo de reactivos, no siendo idóneos para el análisis de rutina.

Algunas de las dificultades asociadas con la extracción líquido-líquido y extracción sólido-líquido observadas en la extracción de residuos de plaguicidas en productos agrícolas corresponden a la formación de emulsiones y el elevado consumo de reactivos (5-10), para solventar estas dificultades Baker (11-12) diseñó una técnica de tratamiento de muestra denominada Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS) que permite preparar muestras sólidas, semi-sólidas y viscosas. La DMFS reduce el procedimiento de análisis debido a que combina las operaciones de extracción y limpieza en un solo paso. Este tipo de propuesta incluye mecanismos de homogeneización de muestras, ruptura celular, extracción exhaustiva, fraccionamiento y limpieza en un solo proceso.

La DMFS se caracteriza por un bajo requerimiento de muestra (0,5-1 g), poca cantidad de sorbente y bajo consumo de solvente (10-25 mL), este último refleja un bajo impacto ambiental. Esta propuesta fue recientemente revisada por Capriotti *et al.*, (13), quienes describen la DMFS como una técnica multiresidual menos laboriosa, en la cual, se mezcla la pulpa de la muestra con una fase sólida para luego ser introducida en una columna, previamente empacada con

otra fase sólida que actúa como fase de limpieza. Posteriormente, los analitos son desorbidos con pequeñas cantidades de solventes o mezclas de los mismos, proporcionando extractos limpios y listos para ser analizados por cromatografía de gases o cromatografía líquida de alta resolución.

El objetivo de este trabajo fue validar un método de análisis basado en la dispersión de matriz en fase sólida y la cromatografía de gases capilar con detección nitrógeno fósforo (NPD) para la determinación de niveles residuales de plaguicidas organofosforados en muestras de uva blanca y uva negra.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

El material vegetal empleado para la optimización del método consistió en muestras de uva (*Vitis vinífera* L) blanca (variedad: *Datal*) y negra (variedad: *Palieri*), las cuales se obtuvieron de tres granjas vitícolas comerciales y del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Vitivinícola (CESID-Uva; Mara, estado Zulia). Las muestras fueron procesadas y analizadas por cromatografía de gases con el fin de determinar que estuvieran libres de residuos de plaguicidas organofosforados (muestras blanco).

### Estándares y reactivos

Estándares de los insecticidas diazinon, paration, clorpyrifos y azinfos-metil grado analítico (purezas entre 95 y 99%, Dr. Eherstorfer GmbH, Alemania) se emplearon para preparar las soluciones madre de los insecticidas a una concentración de  $2000\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  en acetato de etilo (Merck), a partir de las cuales se prepararon por dilución soluciones de calibración en acetato de etilo y soluciones de adición estándar en metanol (Merck), ambas se almacenaron en la oscuridad a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Como estándar interno se empleó trifenilfosfato (99%, Reidel de Haën, Alemania).

Se emplearon diferentes solventes para la desorción de los analitos: acetona (99,8%, Reidel-de Haën), acetato de etilo, *n*-hexano (98,05% E.M.Science), y acetonitrilo (99,9 % Fischer Scientific Company). Sulfato de sodio anhidro (99% de pureza Reidel-de Haën) se empleó como agente desecante.

Como fases sólidas para la limpieza de los extractos se evaluaron: gel de sílice (rango de tamaño de partícula 0,040–0,063mm, tipo 60 para cromatografía de capa fina, Fisher Scientific Company), fue activado a  $130^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, aminopropil (rango de tamaño de partícula: 50–200 $\mu\text{m}$ , tipo: 70–290 mesh ASTM, Reidel de Haën), celite (30-80 mesh, BDH Chemical LTD), carbón grafitado (Alltech associates, Inc mesh 120/400) y carbón activado (Fischer Scientific Company). Como fase de dispersión se empleo florisil (tamaño de partícula: 0,150–0,250mm tipo 60-100 ASTM, Merck) activada a  $650^{\circ}\text{C}$  por 2 horas. Todos los sorbentes se almacenaron en la estufa a  $130^{\circ}\text{C}$  antes de su uso, seguidamente, se enfriaron y almacenaron en desecador (14-16).

### Optimización del Procedimiento DMFS

Para la DMFS, se homogeneizaron 200g de uvas (Moulinex ovatio 3 duo) por dos minutos hasta formar una pasta homogénea. Siguiendo los criterios y las etapas propuestas por Baker (11), una alícuota de 1,0 g de la muestra (húmeda) se mezcló en un vaso de precipitado (25 mL) con 1,6 g de florisil (previamente activado), hasta obtener la completa dispersión de la muestra (mezcla seca y homogénea). Posteriormente, se introdujo la dispersión en una columna de extracción de polipropileno (1,5 cm de diámetro por 7 cm de largo), previamente empacada con la fase de limpieza activada (gel de sílice, florisil, aminopropil, carbón activado y carbón grafitado), por último se adicionó en la columna una tercera fase (sulfato de sodio anhidro). Con la finalidad de aumentar la eficiencia del proceso y evitar mezcla de las fases, se compactaron las fases (golpeando suavemente la columna) antes de realizar el proceso de desorción. Se evaluaron como solventes de

desorción: acetona (17), acetato de etilo (13, 18, 19), acetonitrilo (17), n-hexano y mezclas de estos solventes (13, 19-21). La desorción se realizó al vacío a un flujo de 2,0 mL·min<sup>-1</sup>. El extracto limpio se colectó en tubos de ensayo de 30 mL y se concentró en un evaporador (N-Evapton) con flujo de nitrógeno en un baño a 35°C, hasta un volumen final de 2,0 mL.

### Análisis cromatográfico

Una porción de 1 µL de los extractos fue directamente analizada en un cromatógrafo de gases, Perkin Elmer Autosystem, equipado con un detector termoiónico nitrógeno-fósforo, un inyector automático Perkin Elmer, operado en el modo splitless y una columna capilar DB-17 (30 m x 0,53 mm D.I) de 1 µm de espesor de película de 50% fenilmetilpolisiloxano, bajo las condiciones reportadas por Ettiene *et al.*, (6). Los datos cromatográficos se procesaron en un computador equipado con el software Turbochrom navigator versión 4.1 (Perkin Elmer).

### Estudio de recuperación

Para determinar la eficiencia de la extracción, una porción de 1,0 g de muestra se fortificó con 200 µL de una solución de adición estándar de concentración conocida (nivel de adición alto: 2,0 µg·mL<sup>-1</sup>; nivel de adición bajo 0,05 µg·mL<sup>-1</sup>). Las muestras fortificadas (control positivo) y no fortificadas (muestra blanco o control negativo) se sometieron al procedimiento DMFS. Los datos obtenidos durante la optimización fueron anali-

zados con estadística descriptiva e inferencial para calcular la media, la desviación estándar relativa, coeficiente de correlación de las curvas de calibración de cada plaguicida. Los límites de detección y de cuantificación se calcularon empleando la regresión lineal propuesto por Miller y Miller (22), donde  $LOD = Y - Y_B = 3S_B$  y  $LOQ = Y - Y_B = 10S_B$ . La precisión analítica, en términos de repetibilidad y precisión intermedia, se evaluó con las desviaciones estándares relativas (RSD) para tres repeticiones.

## Resultados y discusión

### Validación

Las curvas de calibración mostraron satisfactoria linealidad ( $r=0,999$ ) para el intervalo de concentración evaluado (0,002-0,5 µg·mL<sup>-1</sup>). Los límites de detección y de cuantificación obtenidos y los límites máximos residuales (MRLs) para los OPs (23) estudiados se muestran en la tabla 1.

### Optimización del procedimiento DMFS

#### Selección del solvente de desorción

Para evaluar la eficiencia del método, se procedió a optimizar uno de los parámetros más importantes, del cual depende la separación del analito de la matriz, este es la fuerza

Tabla 1  
Valores de límites mínimo de detección (LOD), cuantificación (LOQ) y límites máximos residuales (LMR), expresados en mg Kg<sup>-1</sup> (21)

	LOD	LOQ	LMR
Diazinon	0,002	0,006	0,02
Clorpirifos	0,004	0,013	0,50
Paration	0,003	0,01	0,50
Azinfos-metil	0,016	0,016	1,00

del solvente empleado en la desorción. La interacción analito-matriz-fase de dispersión-fase de limpieza estará presente, por tanto, el solvente de desorción debe ser capaz de vencer estas interacciones de forma selectiva para poder liberar los analitos de la matriz. Por tanto, el solvente de desorción de acuerdo a sus propiedades físico-químicas, debe tener la fuerza suficiente para extraer los plaguicidas del soporte cromatográfico (24).

Con acetona se obtuvieron porcentajes de recuperación para uva blanca y uva negra de 52,31% y 60,05% para diazinon, 76,02% y 80,44% para clorpirifos, 74,13% y 69,28% para paration y para azinfos-metil 90,22% y 96,35%, respectivamente (tabla 2). Se observó una mayor selectividad para la remoción de azinfos-metil en comparación con los otros OPS evaluados, además, los extractos obtenidos presentaron coloración característica de los pigmentos de la matriz.

Con la mezcla acetona/acetato de etilo (40:60% v/v), se obtuvieron los siguientes porcentajes de recuperación: 118,19% y 121,12% para diazinon, 65,13% y 65,33% para clorpirifos, 69,05% y 63,44% para pa-

ration, y para azinfos-metil 71,28% y 76,15%, respectivamente (tabla 2). Comparando estos dos solventes de desorción, se observó un cambio en la selectividad y una mayor recuperación (incluso sobre-recuperación) de diazinon y recuperaciones ligeramente más bajas de los demás OPS, igualmente, se observó pigmentación en los extractos, lo que evidencia la gran afinidad que tiene la acetona con los pigmentos e interferentes provenientes de la matriz que sobrepasa el poder de retención del gel de sílice que actúa como fase de limpieza.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Letohay *et al.* (25), los cuales destacan el uso de acetona como solvente de desorción para los plaguicidas organofosforados en matrices agrícolas obteniendo recuperaciones de 97,0% para azinfos-metil y 91,0% para diazinon pero igualmente con pigmentos característicos en el extracto. Raga *et al.* (26), obtuvieron altas recuperaciones para clorpirifos (97,29%) y paration (93%), empleando acetato de etilo/acetona (80:20% v/v) en muestras de frutos de guayaba, obteniendo extractos libres de pigmentos. Sin embargo, Schenck *et al.* (27), comprobaron

Tabla 2.  
Porcentajes de recuperación de los plaguicidas organofosforados obtenidos con diferentes solventes de desorción

OPS	Matriz	Porcentaje de recuperación (RSD)					
		A	A/E(40:60)	A/N(50:50)	A/N(40:60)	E	H/A(80:20)
Diazinon	UB	52,31 (1,64)	118,19 (0,19)	98,31 (3,66)	119,51 (3,85)	90,54 (7,62)	76,15 (0,071)
	UN	60,05 (0,56)	121,12 (1,06)	74,78 (4,65)	116,25 (0,54)	102,56 (6,52)	77,01 (1,36)
Clorpirifos	UB	76,02 (6,42)	65,13 (0,71)	116,13 (4,74)	68,22 (4,48)	134,52 (4,52)	95,54 (0,85)
	UN	80,44 (1,97)	65,33 (0,53)	88,53 (1,67)	79,08 (1,13)	118,52 (2,69)	92,96 (1,00)
Paration	UB	74,13 (1,00)	69,05 (0,91)	133,14 (2,72)	62,14 (5,45)	110,61 (2,05)	87,86 (3,70)
	UN	69,28 (2,05)	63,44 (3,96)	98,77 (5,22)	70,83 (1,52)	109,95 (5,30)	87,69 (1,64)
Azinfos-metil	UB	90,22 (3,31)	71,28 (6,05)	156,13 (2,12)	81,12 (9,71)	115,47 (6,75)	96,77 (6,42)
	UN	96,35 (7,78)	76,15 (2,03)	143,64 (8,01)	84,49 (2,34)	120,73 (3,45)	101,56 (5,50)

Los resultados expresan la media del porcentaje de recuperación (RSD,  $n=3$ )

A: acetona, E: acetato de etilo, N: acetonitrilo, H: hexano. Fase de limpieza: gel de sílice  
UB: uva blanca; UN: uva negra. Las mezclas binarias están expresadas en % v/v.

que algunos plaguicidas pueden presentar mayores interferencias que otros, debido a la presencia de grupos P=O en la molécula que produce una mayor interacción con los componentes polares de la matriz, y por tanto, cambios en la selectividad con valores de recuperación elevados. En tal sentido, puede decirse que este efecto en la selectividad se debe principalmente al cambio del solvente de extracción, pero también puede estar influenciado por la presencia de componentes de la matriz en el extracto, lo que produjo como resultado sobre-recuperación de diazinon cuando se empleó la mezcla acetona/acetato de etilo (40:60% v/v). Resultados similares reportaron Motohashi *et al.* (28) para mezclas similares de desorción. Las mayores recuperaciones para los plaguicidas analizados en este trabajo se obtuvieron con solventes de desorción con acetona, tales como, acetona/diclorometano (50:50% v/v), acetona/acetonitrilo (50:50% v/v) y hexano/acetona (80:20% v/v).

Motohashi *et al.* (28), Morzycka, B. (16) y Kristenson *et al.* (9), no recomiendan el uso de acetonitrilo como único solvente de desorción debido a que presenta una mayor fuerza para la remoción de los interferentes que contiene la matriz y además, es mucho más tóxico y costoso que la acetona, por esta razón, en este trabajo se decidió emplearlo mezclado con acetona en las proporciones de acetona/acetonitrilo (50:50% v/v) y (40:60% v/v), respectivamente. En la tabla 2, se observan las recuperaciones obtenidas en la extracción de los plaguicidas de las muestras de uva blanca (UB) y uva negra (UN) empleando dichas mezclas. Se obtuvieron altos porcentajes de recuperación, con la mezcla acetona/acetonitrilo (50:50% v/v): 98,31% y 74,78% para diazinon, 116,13% y 88,53% para clorpyrifos, 133,14% y 98,77% para paration, 156,13% y 143,64% para azinfos-metil, respectivamente. Se observó una mayor selectividad para azinfos-metil y una menor selectividad para el resto de los OPs, pero se debe inferir que la sobre-recuperación es producto del efecto matriz causado por interferencias provenientes de la muestra, que al no

ser retenidas por la fase de limpieza causan tanto la coloración en el extracto como interferencias positivas en las recuperaciones, tal como lo reportan Wan and Wong (29) y Garrido *et al.* (30). En tal sentido, se empleó una mezcla de estos solventes pero variando la proporción a 40:60% v/v, para observar la influencia en la recuperaciones.

Los resultados tanto para UB como para UN, muestran sobre-recuperaciones, siendo azinfos-metil el que presenta la máxima recuperación (119,51% y 116,25%), en comparación con clorpyrifos (68,22% y 79,08%), paration (62,14% y 70,83%) y diazinon (81,12% y 84,49%). Se observó una variación en la selectividad para los OPs debido al cambio, aparentemente ligero, de las proporciones de los solventes. Probablemente, este cambio es producto de la disminución en términos de fuerza que proporciona la acetona como solvente de desorción, por lo que de manera concluyente la acetona posee mayor selectividad para extraer azinfos-metil que los demás plaguicidas.

Se evaluaron solventes o mezclas con polaridades más bajas, pero conservando e incluso superando su selectividad en la remoción de los analitos de la columna, para ello, se eligió un solvente de polaridad intermedia como acetato de etilo y una mezcla de hexano/acetona (80:20% v/v). Kristenson *et al.* (31), emplearon hexano/acetona (80:20% v/v) y acetato de etilo, concluyeron que estas mezclas son las más óptimas para la extracción de plaguicidas organofosforados tanto en matrices agrícolas como en suelo. El uso de acetato de etilo como solvente de polaridad intermedia posee una adecuada fuerza de desorción para la remoción de los OPs estudiados y adicionalmente, produce extractos limpios.

Se observó para ambos casos, similar recuperación (Tabla 2) en las muestras de uva blanca y negra, la máxima recuperación para el plaguicida azinfos-metil fue 115,47% y 120,73% con acetato de etilo y 96,77% y 101,56% con la mezcla hexano/acetona (80:20% v/v). Los extractos obtenidos pre-

sentaron una ligera coloración amarilla al momento de ser concentrados a 2,0mL, y por otro lado, estaban libres de turbidez indicando el poder de sorción del gel de sílice para retenerlos. Los extractos obtenidos con hexano/acetona (80:20% v/v) presentaron una menor coloración que los extractos obtenidos empleando acetato de etilo.

Basados en los porcentajes de recuperación, apariencia del extracto, menor interferencia producida por la matriz y la apariencia del cromatograma, estos solventes resaltan como promisorios. Karasová *et al.* (24), Motohashi *et al.* (27) y Gobo *et al.* (32), realizaron trabajos que confirman el empleo de estos solventes como los apropiados para la extracción cuantitativa de estos analitos y cuyos porcentajes de recuperación son considerados eficientes según la Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos (USEPA) que refieren parámetros entre 70 y 130%.

### **Selección de la fase de limpieza de los extractos**

Se evaluaron diferentes fases sólidas de limpieza con la finalidad de seleccionar una fase sólida que permitiera extractos libre de pigmentación y con adecuadas recuperaciones.

Se observó que el gel de sílice no fue capaz de retener los pigmentos característicos de la matriz de uva. De acuerdo a su estructura, es una de las fases más empleadas para la extracción de compuestos orgánicos solubles, pero presenta la desventaja de sufrir desactivación de los grupos Si-O<sup>-</sup> al emplear matrices acuosas debido a que al ser hidratado el grupo silanol se ve disminuido su poder de retención.

En la tabla 3, se muestra los porcentajes de recuperación de los OPs, obtenidos con florisil como fase de limpieza, acetona/acetonitrilo (50:50% v/v) y hexano/acetona (80:20% v/v) como solventes de desorción. Con ambos solventes se observó pigmentación en el extracto. Adicionalmente, en la etapa de concentración del extracto se obser-

varon partículas suspendidas, lo que necesitó una segunda limpieza de todos los extractos mediante una columna previamente empacada con lana de vidrio. Se obtuvieron recuperaciones menores a 80%, excepto para azinfos-metil, quien con acetona/acetonitrilo (50:50% v/v) en uva negra presentó una recuperación de 103%. La mezcla acetona/acetonitrilo (50:50% v/v) produjo extractos con una coloración muy intensa, por lo cual, se evaluó hexano/acetona (80:20% v/v), solvente de menor fuerza, con el cual se obtuvieron resultados similares a los reportados en la etapa de selección del solvente de desorción.

Se observó menor recuperación y presencia de interferencias con gel de sílice como fase de limpieza, cuando se emplearon en la desorción solventes de naturaleza polar como: acetona, metanol y de polaridad intermedia como acetato de etilo. Adicionalmente, los extractos obtenidos presentaron una elevada pigmentación, similar al obtenido cuando se realizó la desorción con solventes de menor polaridad, tales como: éter de petróleo, dietil éter, n-hexano, que produjeron menor coloración pero con interferencias considerables.

Se obtuvieron porcentajes de recuperación superiores a 65% cuando se empleó aminopropil y celite como fases de limpieza y acetato de etilo como solvente de desorción. Todos los extractos presentaron una apariencia translúcida con una ligera coloración amarilla producto de la presencia de pigmentos carotenoides provenientes de la matriz de uva.

Por otra parte, se observó un cambio en la selectividad de los plaguicidas cuando se sustituyó la fase de limpieza. Inicialmente, cuando se evaluó aminopropil se observó una mayor afinidad por diazinon y azinfos-metil pero cuando se cambió por celite ocurrió una mayor retención de diazinon y a la vez, una menor retención de azinfos-metil.

Este efecto podría deberse al cambio del grupo funcional encargado de efectuar la separación de los plaguicidas del resto de

Tabla 3  
Porcentajes de recuperación obtenidos para los insecticidas organofosforados en muestras de uva blanca y negra

OPs	Porcentaje de recuperación (DER)						
	Sílice		Florisil		Aminopropil		
	AN	HA	AN	HA	E	HA	
Diazinon	UB	98,30 (3,66)	76,15 (0,071)	71,20 (24,05)	70,00 (9,82)	77,74 (1,96)	86,69 (5,23)
	UN	74,78 (4,65)	77,01 (1,36)	68,52 (23,90)	71,04 (11,30)	77,82 (0,014)	76,17 (0,07)
Clorpirifos	UB	116,13 (4,74)	95,54 (0,85)	74,34 (17,97)	63,22 (7,67)	103,84 (5,18)	106,81 (1,16)
	UN	88,53 (1,67)	92,96 (1,0)	71,91 (2,44)	59,0 (9,62)	90,16 (0,035)	90,9 (1,67)
Paration	UB	133,14 (2,72)	87,86 (3,70)	63,15 (24,43)	51,05 (11,51)	107,84 (0,42)	109,66 (1,33)
	UN	98,77 (5,22)	87,69 (1,64)	68,06 (4,24)	58,00 (3,42)	98,99 (0,18)	96,99 (1,59)
Azinfosmetil	UB	156,13 (2,12)	96,77 (6,42)	53,40 (27,80)	52,00 (14,21)	78,74 (2,43)	88,37 (3,91)
	UN	143,64 (8,01)	101,56 (5,50)	103,12 (10,53)	71,00 (2,36)	68,84 (0,54)	73,93 (2,31)
OPs	Porcentaje de recuperación						
	Celite		Carbón grafitado		Carbón activado		
	E	HA	E	E			
Diazinon	UB	81,29 (4,76)	57,18 (0,08)	102,29 (0,83)	90,04 (3,40)		
	UN	76,14 (0,12)	62,65 (0,06)	106,32 (0,93)	99,09 (2,35)		
Clorpirifos	UB	96,78 (6,72)	74,29 (6,8)	108,52 (0,83)	98,81 (5,43)		
	UN	91,29 (0,58)	89,29 (0,11)	106,65 (3,28)	112,52 (1,69)		
Paration	UB	96,17 (6,42)	69,29 (0,39)	109,2 (0,45)	95,3 (2,02)		
	UN	90,89 (0,57)	78,47 (0,09)	111,1 (2,34)	98,03 (4,03)		
Azinfosmetil	UB	112,16 (6,68)	89,96 (1,12)	92,55 (0,12)	83,4 (3,94)		
	UN	103,57 (2,58)	103,91 (2,12)	95,16 (0,56)	89,71 (0,85)		

UB: uva blanca, UN: uva negra. AN: Acetona/acetonitrilo (50:50% v/v); HA: Hexano/acetona (80:20% v/v); E: Acetato de etilo; DER: desviación estándar relativa.



los componentes de la matriz, por lo que predomina en un caso efectos electrónicos que producen una mayor retención de azinfos-metil y por el otro, disminuyen cuando la fase es sustituida, es decir, el grupo  $-NH_2$  unido al soporte de sílice juega un papel importante en la interacción con azinfos-metil para retenerlo, produciendo un menor porcentaje de recuperación en comparación con los resultados obtenidos al usar celite ( $SiO_2$ ). Acetato de etilo presentó una mayor fuerza para la remoción de los plaguicidas de la fase de limpieza, tal como lo reporta Gobo *et al.* (32).

El carbón activado posee una gran habilidad para aislar compuestos polares y de mediana polaridad, incluso aquellos que presentan una alta solubilidad en agua. Por otro lado, debido a su gran área superficial (que puede llegar hasta los  $1200\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  aproximadamente), presenta la posibilidad de que ocurran en su superficie interacciones en fase reversa. El carbón grafitado es un sorbente ampliamente empleado para la remoción de pigmentos pero plaguicidas que contienen en su estructura química anillos bencénicos pueden ser absorbidos por este sorbente (32), sin embargo, en esta investigación este fenómeno no se observó.

Las fases carbonaceas mostraron los mejores resultados en cuanto a porcentaje de recuperación y apariencia de los extractos obtenidos asociado a la menor presencia de interferencias presentes cuando la desorción se realizó con acetato de etilo, lo que indica que el método de preparación de muestras empleado promueve recuperaciones adecuadas para todos los plaguicidas organofosforados estudiados.

### Conclusiones

El método DMFS en combinación con GC capilar propuesto para uva blanca y uva negra en el cual se emplea florisil como fase de dispersión, carbón grafitado como fase de limpieza y acetato de etilo como solvente de desorción fue optimizado y validado. Esta propuesta promueve el uso de menor can-

tidad de muestras, solventes y reactivos, resultó ser versátil, sencilla, rápida y económica para la preparación de muestras y puede ser empleada para el análisis rutinario de residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de uva blanca y uva negra.

### Referencias bibliográficas

1. Acosta Rodríguez S., Souza Caldas S., Gilberto Primel I. *Anal. Chim.* Acta 678:82-89. 2010.
2. Martínez Vidal J., Plaza-Bolaños P., Romero-González R., Garrido Frenich A. *J. Chromatogr A* 1216:6767-6788. 2009.
3. SÁNCHEZ J., ETTIENE G., BUSCEMA I., MEDINA D. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 22:65-75. 2005.
4. PRIMO Y., CARRASCO D. *Química Agrícola II plaguicidas y fitoreguladores* 1ª Edición, España Editorial Alambra, S.A. 1977.
5. MOLINER-MARTÍNEZ Y., CAMPÍNS-FALCÓ P., MOLINS-LEGUA C., SEGOVIA-MARTÍNEZ L., SECO-TORRECILLAS A. *J. Chromatogr. A* 1216:6741-6745. 2009.
6. ETTIENE G., GARCÍA P., BAUZA R., MEDINA D., SANDOVAL L. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 27:88-111. 2010.
7. QUINTERO A., CASELLES M., ETTIENE G., COLMENARES N., RAMÍREZ T., MEDINA D. *Bull. Environ Contam Toxicol*, 81:393-396. 2008.
8. OCHIAI N., SASAMOTO K., KANDA H., YAMAGAMI T., DAVID F., TIENPONT B., SANDRA P. *J. Sep. Sci.* 28:1083-1092. 2005.
9. KRISTENSON E., RAMOS L., BRINKMAN U. *Trends Anal. Chem.* 25(2):96-111. 2006.
10. ETTIENE G., ORTEGA S., MEDINA D., SEPÚLVEDA J., SANDOVAL L. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 25:550-569. 2008
11. BAKER, S. *J. Chromatogr. A*. 880:63-68. 2000.
12. BAKER, S. J. *Biochem. Biophys. Method*, 70, 151-162. 2007.

13. CAPRIOTTI A., CAVALIERE C., GIANSAANTI P., GUBBIOTTI R., SAMPERI R., LAGANÀ A. **J. Chromatogr. A** 1217:2521–2532, 2010.
14. FENOLL J., HELLÍN P., MARTÍNEZ C., MIGUEL M., FLORES P. J. **Food Chem** 105:711-719. 2007.
15. BLANCO E., CASAIS M., MEJUTO M., CELA R. **Anal. Chem** 78(8):2772-2778. 2006.
16. MORZYCKA B. **J. Chromatogr. A** 982:267-273. 2002.
17. TANG F., YUE Y., HUA R., CAO H. **J. AOAC Int** 89(2):498-502. 2006.
18. CALONGE P. **J. Chromatogr. A** 1005: 215-228. 2002.
19. ZAWIYAH S., YAAKOB C., NAZIMAH A., CHIN K. **J. Chromatogr. A** 1127:254-261. 2006.
20. DAGNAC T., GARCÍA-CHAO M., PULLEIRO P., GARCÍA-JARES C., LLOMPART M. **J. Chromatogr. A** 1216:3702–3709. 2009.
21. KANRAR B., MANDAL S., BHATTACHARYYA A. **J. Chromatogr. A** 1217:1926–1933. 2010.
22. MILLER-MILLER. **Estadística para la química analítica**. McGraw Hill, (ed). México. 1993.
23. VICTORIO TERUEL MUÑOZ. Límites máximos de residuos de productos fitosanitarios en España. Edición 2.2, 22 de Julio 2003.
24. KARASOVÁ G., BRANDSTETEROVÁ E., LECHOVÁ M., CZICH J. **J. Food. Sci** 6:219–234. 2003.
25. LETOHAY S., ELEER K. **Assoc. Off. Anal. Chem** 78:821–830. 1995.
26. RAGA-CARREÑO J., ETTIENE G., BAUZA R., MEDINA D. **Rev. Fac. Agron. (LUZ)** 29:525-541. 2012.
27. SHENCK F., WAYER R. **Food Add. Contam** 12:535–541. 2000.
28. MOTOHASHI N., NAGASHIMA H., PÁRKÁNYI C., SUBRAHMANYAM B., ZHANG G. **J. Chromatogr. A** 754:333–346. 1996.
29. WAN H.B., WONG M.K. **J. Chromatogr. A** 754:43–47. 1996.
30. GARRIDO A., MARTÍNEZ J., FERNÁNDEZ J., ROMERO-GONZÁLEZ R. **J. Chromatogr. A** 1216:4798-4808. 2009.
31. KRISTERSON E., HAVERKATE E., SLOOTEN C. RAMOS L., VREULS R., BRINKMAN J. **J. Chromatogr. A** 917:277-286. 2001
32. GOBO A., KURZ M. H., PIZZUTTI I. R., ADARME M. B., ZANELLA R. **J. Braz. Chem. Soc.** 15: 945-950. 2004.
33. CHEN N., GAO H., YE N., ZHONG Q., XIONG Z., GU X. **J. Analytical Chemistry.** 3:33-39. 2012.