

Utilización de un sistema de inyección en flujo multijeringa para la extracción en fase sólida de plaguicidas organofosforados de muestras de agua y su determinación por CG/EM

Yelitza Delgado¹, Rafael Forteza¹, Víctor Cerdà Martín¹,
María del Rosario Bruneto^{2,*} y Máximo Galignani²

¹Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Islas Baleares.
Carretera de Valldemossa km 7.5, Palma de Mallorca, Islas Baleares, España.

²Laboratorio de Espectroscopía Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes. Apartado Postal 440. Mérida 5101-A, Venezuela.

Recibido: 14-04-10 Aceptado 21-09-10

Resumen

En el presente trabajo se desarrolló un método selectivo y reproducible para evaluar plaguicidas organofosforados (POFs) en aguas de consumo humano por cromatografía de gases (CG) con detección por espectrometría de masa (EM). La extracción en fase sólida de los POFs en disco, se realizó en un sistema de inyección en flujo multijeringa (MSFIA) que permitió la automatización del procedimiento analítico con un importante ahorro de disolventes y tiempo, una reducción en la generación de residuos y del coste por análisis. La validación del método indicó linealidad entre 0,075-5,0 µg/L con límites de detección de 0,01 µg/L para Diazinon y Clorpirifos y de 0,05 µg/L para Malation y Metil paration respectivamente. La recuperación para todos los casos estuvo comprendida entre 91,7 y 102,8% con un C.V. ≤ 3,6%. El método propuesto se utilizó para analizar aguas de grifo y agua de grifo enriquecidas con los plaguicidas en el intervalo de concentración entre 0,15 y 5,0 µg/L con una frecuencia de análisis de 10 muestras/hora.

Palabras clave: plaguicidas organofosforados, CG/EM, MSFIA, Extracción en fase sólida.

Multisyringe flow injection system for the solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from drinking water and its determination by GC-MS

Abstract

In this work we developed a selective and reproducible method to assess organophosphorus pesticides (POPs) in human drinking water by gas chromatography (GC) with mass spectrometry (MS) detection. The extraction of POPs was performed in a solid-phase extraction disk module placed in a multisyringe flow injection system (MSFIA) that allowed the automation of the analytical procedure with a substantial saving of solvents and time, a reduction in waste generation and cost per analysis. The method was linear over concentration range 0.075-5.0

* Autor para la correspondencia: brunetto@ula.ve

$\mu\text{g/L}$ with a limit of detection of $0.01 \mu\text{g/L}$ for Diazinon and Chlorpyrifos, and $0.05 \mu\text{g/L}$ for Malathion and Methyl Parathion respectively. Quantitative recoveries from spiked water samples were between 91.7 y 102.8% with a C.V. $\leq 3.6\%$. The method was successfully applied for the determination of pesticides in tap water and tap water samples enriched with pesticides in the concentration range between 0.15 and $5.0 \mu\text{g/L}$, with a higher sampling throughput of 10 samples/h.

Key words: organophosphorus pesticides, GC/MS, MSFIA, solid-phase extraction.

Introducción

El uso de POFs ha aumentado significativamente en los últimos años ya que se consideran que son menos agresivos con el medioambiente por degradarse más rápidamente que los compuestos organoclorados. Sin embargo, los POFs poseen una gran actividad neurotóxica que pueden dar lugar a intoxicaciones agudas de gravedad (1, 2).

En el ámbito laboral, la exposición a los POFs puede tener lugar por las tres vías clásicas: digestiva, inhalatoria y dérmica. La vía digestiva directa se suele considerar como accidental por la ingestión de una solución por error, o directamente con fines suicidas. Por otra parte, es necesario señalar, que estos plaguicidas son aplicados en el medio ambiente en el que todos nos desarrollamos, por lo que pueden presentarse intoxicaciones no laborales, debido al consumo de aguas o alimentos contaminados (2). Esto justifica la constante demanda para el desarrollo de nuevos métodos analíticos para la determinación de POFs en aguas de consumo humano.

En la literatura encontramos que existen numerosos procedimientos analíticos para la determinación de POFs en muestras de agua. Teniendo en cuenta la polaridad, volatilidad y degradación térmica de los POFs, algunos autores han realizado su determinación por cromatografía de gases (CG) (3-10) o por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) (11, 12). Sin embargo, la CG ha sido la más utilizada debido a su excelente capacidad de separación, su alta frecuencia de análisis, su menor coste y a la amplia gama de detectores sensibles y

selectivos de la que dispone. En los últimos años, la detección por espectrometría de masas ha sido la más utilizada por su alta capacidad de identificación (4, 6, 9, 10).

La legislación de la Unión Europea (UE) para el medio ambiente establece para aguas de consumo humano un máximo de $0,1 \mu\text{g/L}$ de cada uno de estos plaguicidas sin que el total de los mismos sobrepase los $0,5 \mu\text{g/L}$. Es por ello que se necesitan métodos de análisis muy sensibles, con límites de detección por debajo de $0,1 \mu\text{g/L}$ (13).

En ese sentido, para el análisis de POFs en muestras de agua se requiere de una etapa de preparación con el fin de aislar los analitos de la matriz y preconcentrarlos para alcanzar los límites de detección exigidos.

El acoplamiento en línea de la etapa de tratamiento de la muestra con la separación y detección evita la contaminación de fuentes externas. Para esta automatización se prefiere en general la extracción en fase sólida (EFS) (5) en lugar de la extracción líquido-líquido (ELL) (8) ya que minimiza algunos inconvenientes de la ELL asociados al uso de grandes cantidades de disolventes orgánicos (12).

Para la EFS se han empleado sorbentes de diferente naturaleza bajo la forma de cartuchos, columnas o discos, permitiendo estos últimos una extracción más rápida de la muestra y por lo tanto una reducción del tiempo de extracción. Esto se logra gracias al menor tamaño de las partículas del disco y a la reducción de los volúmenes muertos, lo que significa menor cantidad de eluyente.

Estas ventajas son las responsables de la creciente utilización de discos de extracción para análisis de trazas de analitos en muestras medioambientales (14).

Por otra parte, para la automatización de la EFS, la técnica de Análisis por Inyección en Flujo con Multijeringa (MSFIA) ha jugado un rol importante en la automatización del tratamiento de la muestra en diferentes metodologías de análisis ya que permiten procedimientos rápidos, con baja cantidad de muestra, bajo consumo de disolventes y baja generación de residuos (15, 16).

El elemento básico de MSFIA es una bureta, compuesta por cuatro jeringas, las cuales están conectadas a una barra de hierro que se desplaza mediante el impulso de un motor paso-a-paso (figura 1). En la cabeza de cada jeringa se encuentra una válvula solenoide que aumenta la flexibilidad de la técnica y reduce el consumo de la muestra y de reactivos ya que los reactivos se inyectan en el sistema sólo cuando es necesario (17). Adicionalmente, es posible, introducir al sistema, diferentes volúmenes de muestras y reactivos con una buena precisión, dado que existe una gran variedad de jeringas, con una capacidad de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 y 25,0 mL, que pueden ser adaptadas a la bureta de la multijeringa. Por otra parte, para llevar a cabo la automatización del sistema MSFIA se cuenta con un software que permite controlar todos los componentes del sistema.

En el presente trabajo se desarrolló un método sensible y selectivo que utiliza la técnica MSFIA para el tratamiento de la muestra para la determinación de POFs en aguas destinadas para consumo humano, por cromatografía de gases (CG) con detección por espectrometría de masas (EM). La principal ventaja del método consiste en el uso de un sistema MSFIA para el tratamiento de la muestra con un equipo no muy costoso, que simplifica el procedimiento de extracción y que reduce significativamente el tiempo de esta etapa.

Experimental

Reactivos y disolventes

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico y los disolventes de grado CLAR. El acetato de etilo y el metanol fueron suministrados por J.T. Baker (Phillipsburg, N.J. USA). Los patrones de los POFs (malation, metil paration, clorpirifio y diazinon) fueron suministrados por Sigma-Aldrich Chimie S.a.r.l. (Francia). El agua utilizada fue purificada en un sistema Milli-Q TOC (Waters, Millipore).

El Nitrógeno (99,999%), Aire (99,999%) y Helio (99,999%), fueron suministrados por Carburos Metálicos (España).

Preparación de disoluciones

Las disoluciones patrones madres de cada uno de los POFs (malation, metil paration, clorpirifio y diazinon) se prepararon en metanol a una concentración de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y se almacenaron bajo refrigeración a -4°C . Las disoluciones de trabajo de menor concentración se prepararon por dilución de las disoluciones madres en agua.

Instrumentación

Para la realización de este trabajo se utilizó el instrumental que se detalla a continuación. Un cromatógrafo de gases VARIAN modelo 3800 acoplado a un espectrómetro de masas VARIAN Saturno 2100 y a un automuestreador VARIAN modelo 8400 con un carrusel para 48 viales de 2,0 y 0,1 mL respectivamente.

La separación de los plaguicidas se realizó en una columna capilar Varian DB-5, de 30 m de longitud \times 0,25 mm de diámetro interno (di) y con un espesor de película de 0,25 μm .

Para la extracción en fase sólida de los plaguicidas se utilizó el sistema de inyección en flujo multijeringa (MSFIA) que se muestra en la figura 1. El sistema MSFIA es una propuesta descrita en 1999 por Cerdà y col. (16).

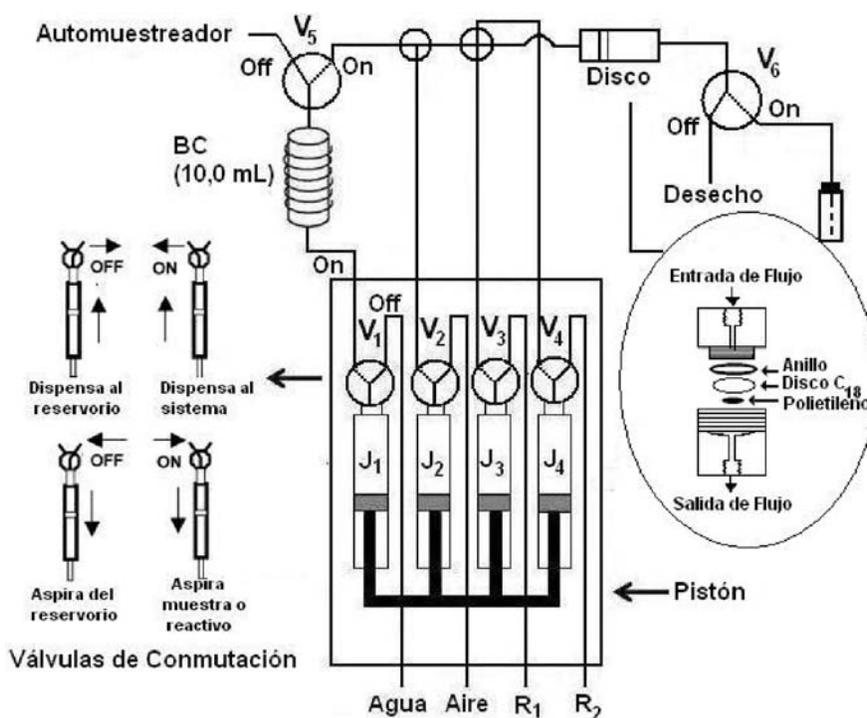


Figura 1. Sistema por inyección en flujo multijeringa (MSFIA) empleado para la preconcentración de los POFs en aguas de consumo humano. El dibujo adjunto es una descripción de la unidad de extracción. El sistema está constituido por: J_1 - J_4 Jeringas, V_1 - V_6 válvulas solenoides de tres vías, BC Bucle de carga; Unidad de preconcentración (Disco C_{18}), R_1 metanol:acetato de etilo (60:40 v/v), R_2 metanol: agua (80:20 v/v).

Se utilizó un módulo multijeringa (Crison, Barcelona, España) compuesto por una bureta, equipada con cuatro jeringas (Hamilton, Suiza) J_1 - J_4 de 10, 10, 2,5 y 5,0 mL, respectivamente. El sistema incluyó seis válvulas solenoides adicionales (Takasago, Japón) V_1 - V_6 , cuatro de ellas ubicadas en la cabeza de cada jeringa las cuales permitieron conectar al sistema en la posición ON o al depósito del reactivo en OFF, independientemente del desplazamiento del pistón. La válvula V_5 dirigió la zona aspirada desde la muestra de agua al bucle de carga (BC), después de lo cual el flujo fue invertido y el segmento aspirado era conducido hacia el sistema. La válvula V_2 proporcionaba aire para secar el disco tras la etapa de preconcentración. La V_3 proveía la mezcla metanol:acetato de etilo (60:40, V/V) que se utilizó para la elución de

los POFs y adicionalmente en el sistema se colocó una válvula V_6 que en su posición ON direccionaba el eluato hacia el vial del automuestreador del CG-EM. Finalmente, la válvula V_4 suministraba una mezcla metanol:agua (80:20, V/V) para la limpieza del disco para una nueva inyección.

Para la construcción de todo el sistema se utilizó tubería de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,8 mm de diámetro interno, salvo, para la construcción del bucle para el cual se utilizaron 565 cm de tubería de PTFE de 1,5 mm de diámetro interno para un volumen final de 10 mL.

El control instrumental del sistema MSFIA se realizó con el software AUTOANALYSIS 5.0 (Sciware, Palma de Mallorca, España) (18).

La extracción en fase sólida se realizó en un disco Empore C18 3M inserto en un dispositivo cilíndrico de polimetilmetacrilato (figura 1). El dispositivo constaba de dos cilindros y el disco se colocaba sobre una fritada de polietileno de 8 mm de d.i para evitar su distorsión.

Procedimiento de extracción en fase sólida en MSFIA

El procedimiento automatizado desarrollado para la extracción en fase sólida de los POFs en disco en el sistema MSFIA se resume en la tabla 1.

Inicialización del sistema: se dispensaban las jeringas de su contenido para ajustar los pistones (Paso 1).

Procedimiento directo: el BC se cargaba con 10 mL de la muestra de agua mediante la activación de la válvula V1 en la posición ON y la V5 en posición OFF (Paso 2). Seguidamente la V5 cambiaba a la posición ON y la muestra de agua es enviada a través del disco de extracción a un caudal de 1,8

mL/min (Paso 3). Posteriormente una vez ajustados los pistones (Paso 4), se activaba la válvula V2 para dejar pasar aire para secar el disco eliminando las trazas de agua (Paso 5). Seguidamente con V2 en la posición OFF, se activaba la V3 para propulsar la solución metanol:acetato de etilo (60:40, V/V) a un caudal de 0,6 mL/min que eluía los POFs desde el disco hacia el vial del automuestreador del CG-EM con la válvula V6 en posición ON (Paso 6). Finalmente, se activaba la válvula V4 para propulsar la solución metanol-agua (80:20; V/V) a través del disco para acondicionarlo para una nueva inyección (Paso 7).

La separación de los POFs por CG con detección por EM se realizó bajo las condiciones optimizadas que se detallan en la tabla 2.

Resultados y discusión

La optimización de las variables experimentales se llevó a cabo empleando el método univariante. En ese sentido, para el siste-

Tabla 1
Procedimiento para la EFS de los POFs en el sistema MSFIA

Paso	Tiempo (min)	Descripción	Operación	Flujo (mL/min)	Posición de las Válvulas					
					V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆
1	0,30	Ajuste de posición de los pistones	Dispensar 10mL	30,0	Off	Off	Off	Off	Off	Off
Inicio del Ciclo										
2	2,0	Llenado del BC	Aspirar 10,0 mL	5,0	On	Off	Off	Off	Off	Off
3	5,0	Paso de la muestra por el disco	Dispensar 10,0mL	1,8	On	Off	Off	Off	On	Off
4	0,08	Ajuste de la posición de los pistones	Aspirar 2,6 mL	30,0	Off	Off	Off	Off	Off	Off
5	1,0	Secado del disco	Dispensar 1 mL	1,0	Off	On	Off	Off	Off	Off
6	1,0	Elución de los analitos en el vial	Dispensar 0,6mL	0,6	Off	Off	On	Off	Off	On
7	1,0	Limpieza y acondicionamiento del disco	Dispensar 1 mL	1,0	Off	Off	Off	On	Off	Off
8			Fin del Ciclo							

Tabla 2
Condiciones optimizadas de todo el sistema para la determinación de POFs

Equipo	Parámetros	Valor
MSFIA	Volumen de Preconcentración	10 mL
	Flujo de Preconcentración	1,8 mL/min
	Volumen de Elución	0,6 mL
	Mezcla de Elución (Metanol: Acetato de etilo v/v)	60:40
Automuestreador	Volumen de Inyección	1,0 L
Cromatógrafo de gases	Temperatura del Inyector	220°C
	Columna Capilar (DB-5) 5% fenil metilpolisiloxano	(30 m × 0,25 mm) espesor de película 0,25 µm
	Programa de Temperatura de la columna	100°C (1.0 min) a 280°C (2.0 min) at 10°C/min)
	Flujo del gas portador	1,0 mL/min
	Volumen de inyección	Splitless (0,40) min
Espectrómetro de Masas	Modalidad	Impacto Electrónico
	Temperatura de la trampa	220°C
	Temperatura del manifold	50°C
	Temperatura de la transferencia	220°C
	Corriente del filamento	20 µA

ma propuesto se optimizaron todas aquellas variables involucradas en la etapa de extracción en fase sólida en el disco C₁₈ en el sistema MSFIA para lograr la preconcentración de los POFs al nivel necesario para su determinación por CG-EM. Para ello se optimizaron: el volumen de la muestra de agua y la velocidad del flujo en la etapa de preconcentración; la naturaleza y proporción de la fase de elución de los POFs y la velocidad del flujo de elución. También se optimizaron las condiciones de trabajo en el CG así como también las condiciones del EM para lograr la sensibilidad necesaria para la detección de los POFs a los niveles de concentración permitidos. Para realizar la optimización de todos los parámetros instrumentales se utilizaron muestras de agua enriquecidas con los POFs a la concentración de 1,0 µg/L.

Volumen de muestra

Para la optimización del volumen de muestra se midieron las áreas de los picos de los analitos para cada uno de los volúmenes estudiados en el intervalo de 2,0 a 12 mL. Los resultados se muestran en la figura 2. Se puede observar que hay un incremento del área de pico a medida que se incrementa el volumen de muestra, sin embargo, a valores superiores a 10 mL la señal era constante para todos los casos. Este comportamiento puede atribuirse a que para volúmenes superiores a 10 mL se supera la capacidad de carga del disco por lo que los analitos ya no son retenidos y son llevados a desecho. Por ello se estableció un volumen de 10 mL de muestra como el volumen de preconcentración.

Velocidad de flujo

Se estudió también la velocidad del flujo de preconcentración en el intervalo de 1,0 a 2,5 mL/min. Los resultados obtenidos (figura 3) indicaron que no se observaban diferencias significativas entre las áreas de los picos de POFs para los flujos entre 1,0 y 1,8 mL/min. Sin embargo, para flujos superiores se observaba una disminución de la señal lo que indicaba que parte de los analitos se perdían. Se estableció un flujo 1,8 mL/min para el resto de los análisis

como un buen compromiso entre sensibilidad del método y tiempo requerido en la etapa de tratamiento de muestra.

Optimización de la naturaleza del eluyente, volumen y flujo de elución

En base a la revisión bibliográfica realizada, algunos autores emplean acetato de etilo para la elución de los POFs (4), sin embargo, este eluyente deteriora algunos componentes del sistema, tales como conectores y la base de polimetacrilato en la que se en-

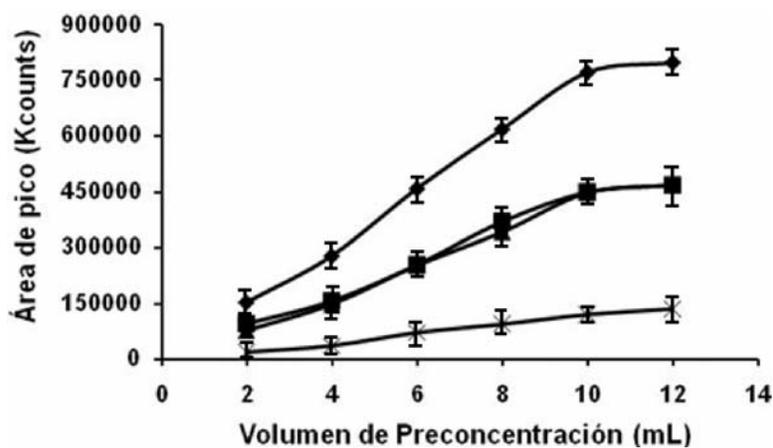


Figura 2. Estudio del volumen de muestra para llevar a cabo la preconcentración en el sistema MSFIA para el análisis de los plaguicidas organofosforados (◆) Diazinon, (■) Clorpirifó, (▲) Metilparation, (X) Malation.

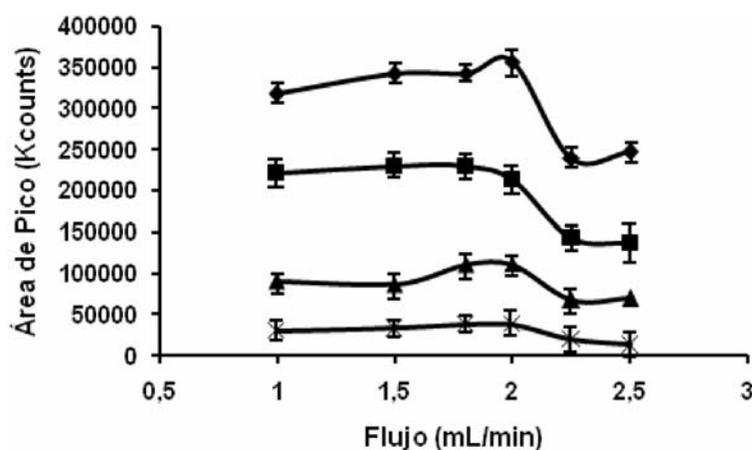


Figura 3. Estudio de la velocidad de flujo para llevar a cabo la preconcentración en el sistema MSFIA para el análisis de los plaguicidas organofosforados (◆) Diazinon, (■) Clorpirifó, (▲) Metilparation, (X) Malation.

cuentra el disco de preconcentración. Por estas razones, en este trabajo, se decidió usar una mezcla de metanol:acetato de etilo (60:40 v/v), que permitió obtener una buena recuperación de los POFs y sin interferencias.

El volumen de elución, es un parámetro importante ya que está relacionado con la sensibilidad del método y con el tiempo de tratamiento de la muestra. En ese sentido, determina, si es necesario tener que hacer una reducción del volumen del disolvente del eluato para lograr la sensibilidad requerida. Para ello se evaluaron los volúmenes de elución comprendidos entre 0,5-1,0 mL. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 4 que indican que el área de los picos de POFs es inversamente proporcional al volumen de elución, es decir, hay un incremento en el área a medida que disminuye el volumen de elución. Se estableció un volumen de 0,6 mL como un buen compromiso entre sensibilidad y volumen de los viales de los que disponíamos para el automuestreador. Se sabe que el volumen de muestra en el vial del automuestreador determina la altura de la muestra en el mismo, factor que es importante para que la aguja del automuestreador automático realice una inyección reproducible y

exacta con relación al volumen de inyección que se establezca en el CG.

La velocidad del flujo de elución es un parámetro que asegura que todos los POFs sean eluidos del disco sin pérdidas de los mismos. Un flujo del eluyente 0,6 mL/min durante un minuto aseguró la extracción cuantitativa de los POFs y se fijó para el resto del análisis.

Finalmente se evaluó también el tiempo de vida del disco. Para este estudio, se realizó el procedimiento de extracción de sucesivas inyecciones de muestras estándares de los POFs en agua, en un mismo disco. Los resultados indicaron que después de 20 inyecciones, los porcentajes de recuperación de los POFs comenzaban a disminuir y por ello se estableció un tiempo de vida del disco de hasta 20 extracciones de muestras de agua. En este punto es importante señalar que el reemplazo del disco en el dispositivo era muy sencillo, reproducible, no consumía tiempo y no afectaba las determinaciones posteriores.

Optimización de las condiciones cromatográficas y del sistema de detección

Un resumen de las condiciones optimizadas del sistema cromatográfico se mues-

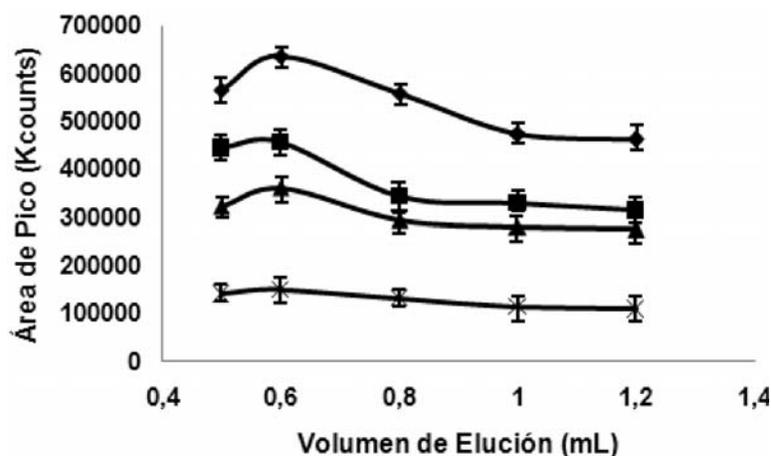


Figura 4. Estudio de volumen de elución en el sistema MSFIA para el análisis de los plaguicidas organofosforados (◆) Diazinon, (■) Clorpirifó, (▲) Metil paration, (X) Malation.

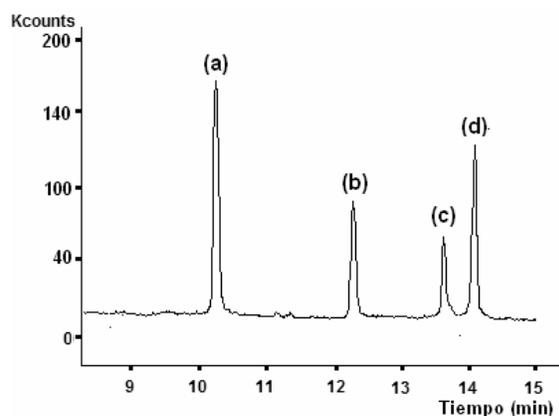


Figura 5. Cromatograma obtenido bajo las condiciones optimizadas (tabla 2) para una muestra de agua enriquecida con los analitos (a) Diazinon, (b) Metil Paration, (c) Malation, (d) Clorpirifo, a una concentración de 1,0 $\mu\text{g/L}$.

tran en la tabla 2 y en la figura 5 se presenta un cromatograma cuando se procesó por todo el procedimiento descrito una muestra de 10 mL de agua enriquecida con los POFs a una concentración de 1,0 $\mu\text{g/L}$. En ella podemos observar que existe una buena resolución entre los POFs estudiados, sin interferencias y en un tiempo de análisis satisfactorio.

Validación del método

Para llevar a cabo la validación analítica del método se realizaron estudios de linealidad, exactitud y precisión.

Para establecer el intervalo lineal de trabajo se realizaron curvas de calibrado de disoluciones patrones de los POFs y de muestras de aguas enriquecidas a diferentes niveles de concentración. Cada curva de calibrado incluyó al menos una serie de cinco puntos y un blanco y se midieron un mínimo de tres veces cada uno. Todas las muestras se procesaron por el método propuesto y se evaluaron en el sistema cromato-

gráfico optimizado. En la tabla 3 se presentan los intervalos de concentración estudiados así como las ecuaciones de regresión lineal del área de pico en función de la concentración, para ambas curvas.

Se puede observar que las curvas de calibración son lineales en el intervalo de concentración estudiado. Por otra parte, la comparación de las pendientes de las curvas de calibración y de las de adición estándar no presentaron diferencias significativas (t de Student, $p < 0,05$; $n=5$). Esto indica que se pueden determinar los POFs en las muestras de agua de consumo humano utilizando una curva de calibrado de estándares POFs.

Se determinó la precisión intraensayo e interensayo midiendo el área de pico de cinco réplicas de disoluciones estándar de diazinon, metil paration, clorpirifo y malation y de muestras de agua enriquecidas con los POFs a diferentes niveles de concentración durante un día y en cinco días diferentes. Los resultados mostraron que la desviación estándar relativa en un día tanto para los patrones como para las muestras de agua enriquecidas fueron menores del 4,3%, y entre días menores a 5,0%, lo que demostraba la buena reproducibilidad y repetibilidad del sistema descrito.

La exactitud del método se estimó realizando estudios de recuperación. Para ello se comparó el área de los picos de los POFs de las muestras de agua enriquecidas con los analitos, con las obtenidas de las disoluciones estándares de los POFs, a los mismos niveles de concentración. Los resultados obtenidos indicaron que los porcentajes de recuperación para todos los casos estuvieron comprendidos entre 91,7-102,8% con un coeficiente de variación $< 3,6\%$. Estos valores pueden ser considerados cuantitativos y satisfactorios y demuestran la excelente eficiencia de extracción de los discos C_{18} utilizados. Por otra parte, estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura (5). Además, es importante resaltar que el

Tabla 3
Características analíticas de las rectas de calibrado

Compuesto	Matriz	Ecuación $A = m (DE)C + b(DE)^a$	r^2	Intervalo Dinámico ($\mu\text{g/L}$) (ng) ^b	Límite de Detección ($\mu\text{g/L}$) (ng)
Diazinon	Calibrado Externo	$A = 12976(\pm 19)C + 0,027(\pm 0,004)$	0,9970	0,075-5,0 0,75-50,0	0,01 0,1
	Adición de Patrón	$A = 13285(\pm 21)C + 0,071(\pm 0,004)$	0,9988	0,075-5,0 0,75-50,0	0,1
Metil Paration	Calibrado Externo	$A = 62434(\pm 13)C + 0,143(\pm 0,03)$	0,9986	0,15-5,0 1,5-50,0	0,05 0,5
	Adición de Patrón	$A = 62204(\pm 6)C + 0,11(\pm 0,01)$	0,9998	0,15-5,0 1,5-50,0	0,5
Malation	Calibrado Externo	$A = 49465(\pm 146)C + 0,33(\pm 0,03)$	0,9920	0,15-15,0	0,05
	Adición de Patrón	$A = 49898(\pm 83)C + 0,12(\pm 0,02)$	0,9988	0,15-5,0 1,5-50,0	0,5
Clorpirifo	Calibrado Externo	$A = 87200(\pm 107)C + 0,37(\pm 0,02)$	0,9970	0,075-5,0 0,75-50,0	0,01
	Adición de Patrón	$A = 86202(\pm 150)C + 0,66(\pm 0,04)$	0,9994	0,075-5,0 0,75-50,0	0,1

^a A: área de pico; C: concentración; m: pendiente; DE: desviación estándar; b: ordenada en el origen.

^b Intervalo dinámico en unidades de concentración y en unidades de masa.

r^2 : coeficiente de correlación.

realizar la EFS de los POFs en un disco inserto en un sistema de inyección en flujo multijeringa hace que el tratamiento de la muestra sea más sencillo que se traduce en una disminución significativa en el tiempo de análisis, en el consumo de disolventes y, por ende, en los costos del análisis. Por otra parte, al realizarse todas las operaciones en un sistema cerrado, protege los tratamientos de toda posible contaminación ambiental.

Se evaluaron el límite de detección y el límite de cuantificación del método. El límite de detección definido como la relación señal a ruido (S/R) de 3:1 y el límite de cuantificación definido como la menor cantidad de analito que puede ser determinada cuantitativamente con una exactitud y precisión aceptables. Los resultados se muestran en la tabla 3 y de acuerdo a los valores obtenidos podemos concluir que el método permite evaluar los POFs en muestras de agua

destinadas para consumo humano dentro de los límites permitidos.

Comparación del método propuesto con otros publicados

Al comparar el método propuesto con otros métodos reportados en la literatura se observa que en estos últimos la etapa de extracción se realiza en muchos casos en forma manual, empleando cartuchos (19), discos (14) o fibras para Microextracción en Fase Sólida (MEFS) (6, 9, 10), donde cada procedimiento es tedioso, involucra una serie de etapas donde se consume tiempo y cantidades importantes de disolventes, además de estar sujetos a errores durante el proceso.

Adicionalmente, es importante señalar, que en muchos casos para realizar la EFS se requiere de grandes volúmenes de agua (500, 1000 mL) para llevar a cabo la

preconcentración. Si bien, esta matriz no es limitante, para la elución de los analitos se requiere de cantidades elevadas de disolvente orgánico (5, 10, 20 mL) (20); involucrando una etapa adicional de evaporación de disolvente que puede consumir hasta 15 min adicionales en el tratamiento de la muestra. Sin embargo, en el sistema propuesto, el consumo de disolventes es muy bajo, debido a que éste dispensa solo la cantidad necesaria para llevar a cabo cada etapa del tratamiento. No se requiere de una etapa adicional de evaporación del disolvente, ya que el volumen de elución es suficientemente bajo (0,6 mL) como para llenar directamente el vial que va al sistema cromatográfico.

Por otra parte, si lo comparamos con aquéllos métodos que utilizan la MEFS (6, 9, 10) para realizar el tratamiento de la muestra, la exposición de la fibra para la extracción de los analitos involucra un tiempo de 40 min y 4 min adicionales para la desorción de los mismos en el sistema cromatográfico.

Análisis de muestras reales

Utilizando el método propuesto se analizaron muestras de agua de grifo pertenecientes a los Laboratorios de la Universidad de las Islas Baleares, Palma de Mallorca, España. En cada sitio se tomaron alrededor de 100 mL de muestra y en el momento de realizar el análisis, todas las muestras de agua se filtraron a través de filtros de 0,45 μm (support[®]-450 Membrana, Waters, USA) y 10 mL de éstas se preconcentraron en el MSFIA y se analizaron por CG-EM. Los resultados obtenidos indicaron que no había presencia de los POFs en las muestras analizadas. Por ello, se enriquecieron las muestras de agua con los POFs en el intervalo de concentración 0,15-5,00 $\mu\text{g/L}$. Los porcentajes de recuperación para todos los POFs oscilaron entre $91,7 \pm 3,3$ y $102,8 \pm 3,3\%$ ($n=3$). Estos resultados confirman que el método propuesto permite evaluar a los POFs en muestras de agua para consumo

humano a los valores permitidos establecidos por la legislación de la Comunidad Europea.

Conclusiones

El nuevo método desarrollado para la determinación de POFs en muestras de agua para consumo humano representa una buena alternativa a los ya existentes.

La recuperación de los analitos desde las muestras de agua después de la extracción en disco en el sistema MSFIA fueron cuantitativas e independientes de la matriz investigada. En ese sentido, el método no requiere de la adición de un patrón interno y la calibración puede realizarse simplemente con disoluciones estándares de los POFs. La sensibilidad alcanzada permite evaluar los POFs en muestras de agua ajustado a los valores permitidos por la Comunidad Europea en aguas para consumo humano.

La separación por CG y detección por EM se realizó en 14 min sin la presencia de interferentes y se empleó 8 min en todo el procedimiento de extracción. Sin embargo, la posibilidad de superponer la etapa de extracción de los POFs con la de la separación por CG-EM de la inyección anterior, permitió que se pudiera analizar una muestra cada 6 minutos lo que corresponde a una frecuencia de análisis de 10 muestra/hora.

Referencias bibliográficas

1. SOGORB M.A., VILANOVA E., *Toxicol Lett* 128: 215-228, 2002.
2. BAKER S.R., WILKINSON C.F., eds. *The effects of pesticides on human health*. Adv Mod Environ Toxicol XVIII. Editorial Princeton, New Jersey 1988.
3. MATSKOVA K., LEHOTAY S. *J Chromatogr A* 1040: 259-272, 2004.
4. POCURULL E., AGUILAR C., BORRULL F., MARCÉ R. *J Chromatogr A* 818: 85-93, 1998.

5. BALLESTEROS E., PARRADO M. *J Chromatogr A* 1029: 267-273, 2004.
6. MMUALEFE L.C., TORTO N., HUNTSMAN-MAPILA P., MBONGWE B. *Microchem J* 91: 239-244, 2009.
7. GONÇALVES C., ALPENDURADA M.F. *J Chromatogr A* 1026: 239-250, 2004.
8. VIÑAS P., CAMPILLO N., LÓPEZ-GARCÍA I., AGUINAGA N., HERNÁNDEZ-CÓRDOBA M. *J Chromatogr A* 978: 249-256, 2002.
9. BECEIRO-GONZÁLEZ E., CONCHA-GRAÑA E., GUIMARAES A., GONÇALVES C., MUNIATEGUI-LORENZO S., ALPENDURADA M.F. *J Chromatogr A* 1141(2): 165-173, 2007.
10. BAGHERI H., AYAZI Z., BABANEZHAD E. *Microchem J* 94:1-6, 2010.
11. LACORTE S., BARCELÓ D. *J Chromatogr A* 725: 85-92. 1996.
12. KUSTER M., LÓPEZ DE ALDA M., BARCELÓ D. *J Chromatogr A* 1216: 520-529, 2009.
13. European Community, Brussels. EC Council Directive 98/83/EC of November 3 on the quality of water intended for human consumption, *Off J Eur Communities* 330: 32, 1998.
14. BARCELO D., CHIRON S., LACORTE S., MARTINEZ E., SALAU J.S., HENNION M.C. *Trends Anal Chem* 13:352-361, 1994.
15. MIRÓ M., CERDÀ V., ESTELA J.M. *Trends Anal Chem* 21: 199-210, 2002.
16. CERDÀ V., ESTELA J.M., FORTEZA R., CLADERA A., BECERRA E., ALTAMIRA P., SITJAR P. *Talanta* 50: 695-705, 1999.
17. CERDÀ V. *Introducción a los métodos de análisis en flujo*. SCIWARE, S.L., Palma de Mallorca, España. 20-27. 2006.
18. BECERRA E., CLADERA A., CERDÀ V. *Lab Robotics Automat* 58: 131-140, 1999.
19. GUARDIA-RUBIO M., RUIZ MEDINA A., PASCUAL REGUERA M.I., FERNÁNDEZ DE CÓRDOVA M.L. *Microchem J* 85: 257-264, 2007.
20. FATTA D., MICHAEL C., CANNA-MICHAELIDOU St., CHRISTODOULIDOU M., KYTHREOTOU N., VASQUEZ M. *Desalination* 215: 223-236, 2007.