

ESTUDIO DE LA PERSISTENCIA DE PIRAZOFOS EN JUDÍA DE MATA BAJA CULTIVADA BAJO PLÁSTICO

José Castillo Sánchez

INTRODUCCIÓN

El incremento continuo de la población ha ido demandando un incremento paralelo en la producción de alimentos para su mantenimiento. Este incremento se ha obtenido a través de dos mecanismos. El primero, se basa en incrementar la superficie cultivada; mientras que el segundo se inclina por incrementar la producción en cada unidad de superficie.

En el Poniente almeriense, el primero de los mecanismos no es viable debido a la escasez de agua para abastecer nuevas zonas de cultivo, de modo que se ha optado por la segunda vía, la cual cuenta con la ventaja de no sustraer tierras destinadas a otras labores, pero implica la puesta en práctica de disciplinas tales como:

1. Mejora genética de los cultivos.
2. Mejora de la tecnología.
3. Mejora de la protección vegetal.

Uno de los principales inconvenientes del segundo mecanismo señalado es la necesidad de perfeccionar la protección de los cultivos, la cual se logra empleando los plaguicidas.

El creciente uso de plaguicidas ha derivado, por un lado, en la posibilidad de una severa contaminación ambiental consecuencia de su empleo (1)(2), y por otro, y con objeto de limitar dicha contaminación, a la adopción de una serie de normas legales por las que se fijan los límites máximos en el nivel de residuos para que un producto vegetal pueda ser comercializado.

Dos son los motivos fundamentales por los que se puede producir un problema de residuos de plaguicidas:

- Los límites inadecuados establecidos por algunos países consumidores
- Y, el mal uso de los plaguicidas en origen.

En los últimos años, el Poniente de la provincia de Almería ha pasado a ser una de las zonas de mayor consumo de productos fitosanitarios dentro del mercado nacional, consecuencia del

fuerte desarrollo experimentado en su agricultura extratemprana. El desarrollo de estos cultivos ha inducido la proliferación de una amplia variedad de enfermedades, controlables por una creciente gama de productos fitosanitarios, sin un estudio paralelo sobre su degradación en los diferentes cultivos y condiciones ambientales reinantes en las zonas agrícolas típicas.

El objeto de este trabajo es proponer una metodología de análisis de pirazofos, en presencia de procimidona (fungicidas habitualmente empleados conjuntamente en el cultivo), y cuantificar el nivel de persistencia del pirazofos en la judía *strike*, uno de los cultivos típicos del Poniente almeriense.

El pirazofos es un fungicida sistémico comercializado con las denominaciones de «*Afugan*» y «*Curamil*» (3). Los límites máximos de residuos de pirazofos permitidos en judía son:

1,000 mg/kg en Suecia.

0,100 mg/kg en España y Holanda.

0,010 mg/kg en Alemania y Bélgica.

EQUIPO Y MATERIAL

EQUIPO Y MATERIAL DE CAMPO

Invernadero

Los estudios sobre la persistencia del pirazofos en judía *strike* se han realizado en un invernadero de la **Estación Experimental «Las Palmerillas»**, situado en el Poniente almeriense.

Dicho invernadero es de estructura plana, tipo parral y cubierto con plástico térmico de 200 μ m de grosor, de segunda campaña.

El invernadero, con una superficie total de 1276 m² estaba orientado en la dirección Este-Oeste y dividido en dos zonas (zona norte y zona sur).

Cultivo

El cultivo ensayado ha sido la variedad *strike* de judía verde de mata baja.

Dicho cultivo se emplazó en la zona sur del invernadero el día 19 de Septiembre de 1988, al inicio de la campaña agrícola 1988/89.

Cromatógrafo de gases

Para el análisis de los residuos de pirazofos se ha empleado un cromatógrafo de gases *Hewlett Packard 5890*, provisto del siguiente equipo:

- Un detector NPD.

- Una columna capilar HP-1 de sílice fundida y base enlazada de metil-silicona gumm, de 10m de longitud, 0,53 mm de diámetro interno y 2,65 μ m de espesor de film.

- Un integrador-calculador-registrador *Hewlett Packard 3390A*.

- Gases de cromatografía: Nitrógeno N-48, Hidrógeno N-48 y Aire.

Reactivos y productos

- Sulfato sódico anhidro** calidad PA (99,5% de riqueza mínima).
- Acetonitrilo** calidad PA (99,5% de riqueza mínima).
- Eter de Petroleo** calidad PA (intervalo de ebullición de 40 - 60_C).
- n-Hexano** calidad ACS nanogrado (85% de riqueza mínima).
- Cloruro sódico** calidad PRS (99% de riqueza mínima).
- Acetona** calidad PA (99,5% de riqueza mínima).
- Cloruro de metileno** calidad PA (99% de riqueza mínima).
- Patron de Pirazofos** suministrado como sólido blanco del 99% de pureza.

Aparatos

- Trituradora** Bapitaurus CP.
- Batidora** Braun minipimer 4166.
- Balanza granatario** Mettler PJ400.
- Balanza analítica** Mettler H54.
- Rotavapor** R-Büchi.
- Bomba de vacío** C-Oliveras 0134.

MÉTODOS EXPERIMENTALES

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Preparación de disoluciones patrón

Para la preparación de las disoluciones patrón de pirazofos se disolvieron 14,1 mg de pirazofos en 10 mL de acetona, aforando a continuación hasta 100 mL con eter de petroleo. Se obtuvo así la *disolución madre de pirazofos*.

A continuación se tomaron 10 mL de disolución madre de pirazofos y se diluyeron hasta 100 mL con eter de petroleo, obteniéndose la *disolución estandard de pirazofos*.

El resto de disoluciones de pirazofos se obtuvieron mediante la adecuada dilución de la disolución estandard.

Condiciones cromatográficas

El análisis de los residuos de pirazofos se llevó a cabo mediante cromatografía gaseosa.

Las condiciones de flujo y temperaturas de inyector y detector fueron:

Sistema de inyección: sin división de flujo.

Presión del gas portador (N₂) en cabeza de columna: 130 kPa.

Flujo de gas portador (N₂) en columna: 13,5 mL/minuto.

Flujo de gas auxiliar(N₂) del detector: 20,0 mL/minuto.

Flujo de gases en el detector:

H₂: 3,5 mL/minuto.

Aire: 115,0 mL/minuto.

Temperatura del inyector: 240 °C.

Temperatura del detector: 270 °C

Temperatura de horno programada con la rampa:

200 °C(1').....30 °C/minuto.....230 °C(7').

Para la determinación del nivel de cuantificación de los residuos se procedió, en primer lugar, al calibrado de la respuesta del detector mediante la inyección de 2 µL de disolución de calibrado conteniendo 2,82 mg/L de procimidona y 1,00 mg/L de pirazofos, y obteniéndose los tiempos de retención y los áreas de pico de ambas plaguicidas.

A continuación se realizó el estudio de la linealidad de respuesta del detector, empleándose para ello cinco disoluciones de calibrado de pirazofos con concentraciones comprendidas entre 0,10 y 5,00 mg/L; y cinco disoluciones de calibrado de procimidona, cuyas concentraciones estaban comprendidas en el rango de 0,35 a 7,05 mg/L.

El estudio del error y la reproducibilidad del método cromatográfico, propuesto para la determinación conjunta de procimidona y pirazofos, se llevó a cabo preparando siete disoluciones de calibrado de concentraciones 2,82 mg/L en procimidona y 1,00 mg/L en pirazofos.

EXTRACCIÓN DE LOS RESIDUOS

Para la extracción de los residuos de pirazofos y procimidona de las muestras de judía se han ensayado dos métodos.

El primero de estos fue una variante del método general multiresiduos de la A.O.A.C. para la extracción de plaguicidas de frutas y hortalizas con un porcentaje de agua superior al 75% (4)(5). El esquema del método se proporciona en la figura 1.

El segundo método de extracción ensayado ha sido una modificación del método propuesto por Luke et al.(6)(7)(8)(9). El esquema del método se indica en la figura 2.

CALENDARIO DE TRATAMIENTOS Y RECOGIDA DE MUESTRAS

El esquema de los tratamientos y toma de muestra del cultivo se indican en la figura 3.

El estudio sobre la persistencia de pirazofos se realizó durante tres días antes de la primera recolección, el día de la primera recolección y dos días después de la primera recolección; y durante cuatro días antes de la segunda recolección y el día de la segunda recolección.

Cada día eran tomadas 2 muestras, de diferentes líneas de plantación equidistantes entre sí y en el total del cultivo, hasta un total de 24 muestras. El nivel de residuos de pirazofos, cada día de muestreo se obtuvo mediante la media aritmética de las 24 muestras.

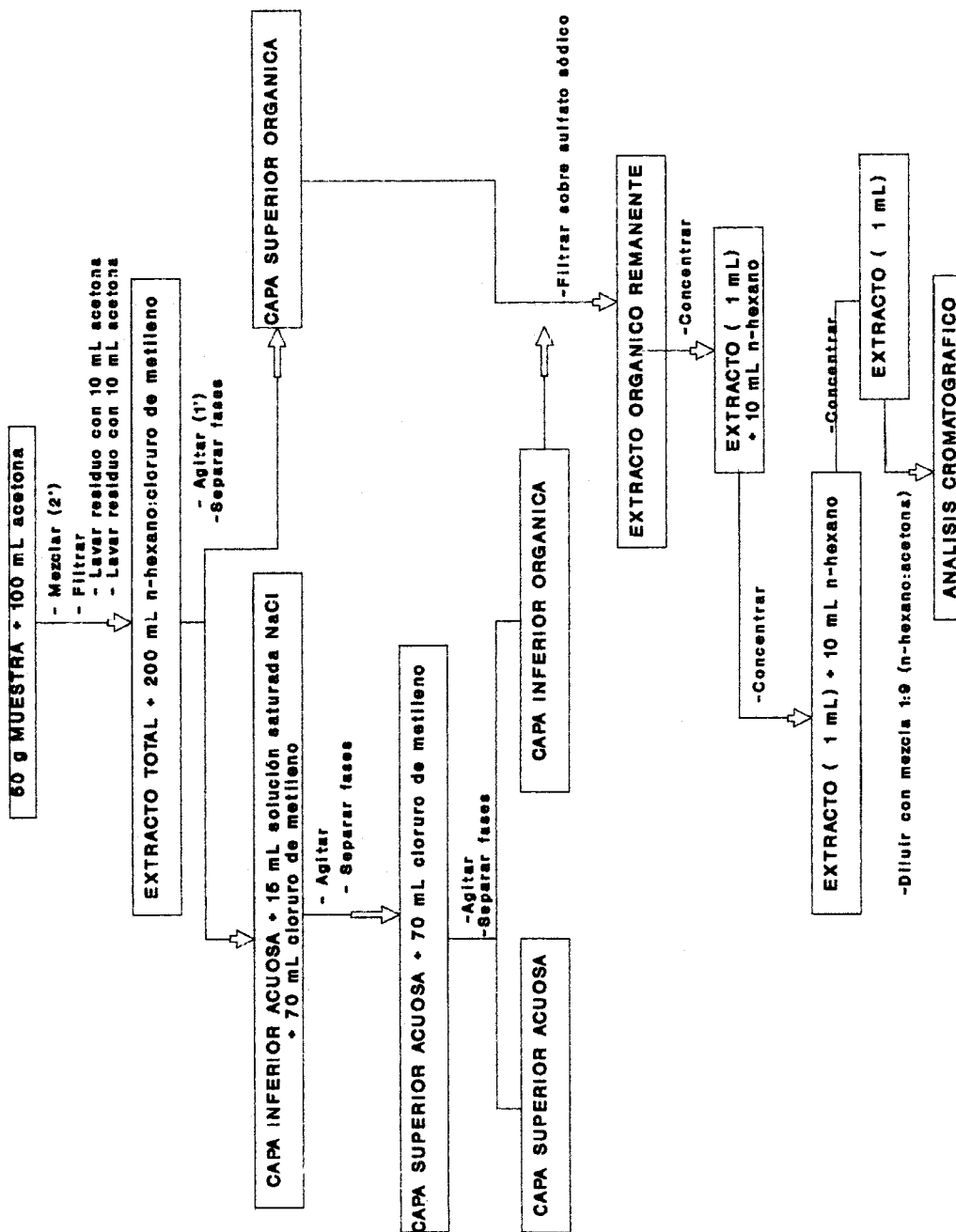


Figura 1
Esquema del método de extracción AOAC

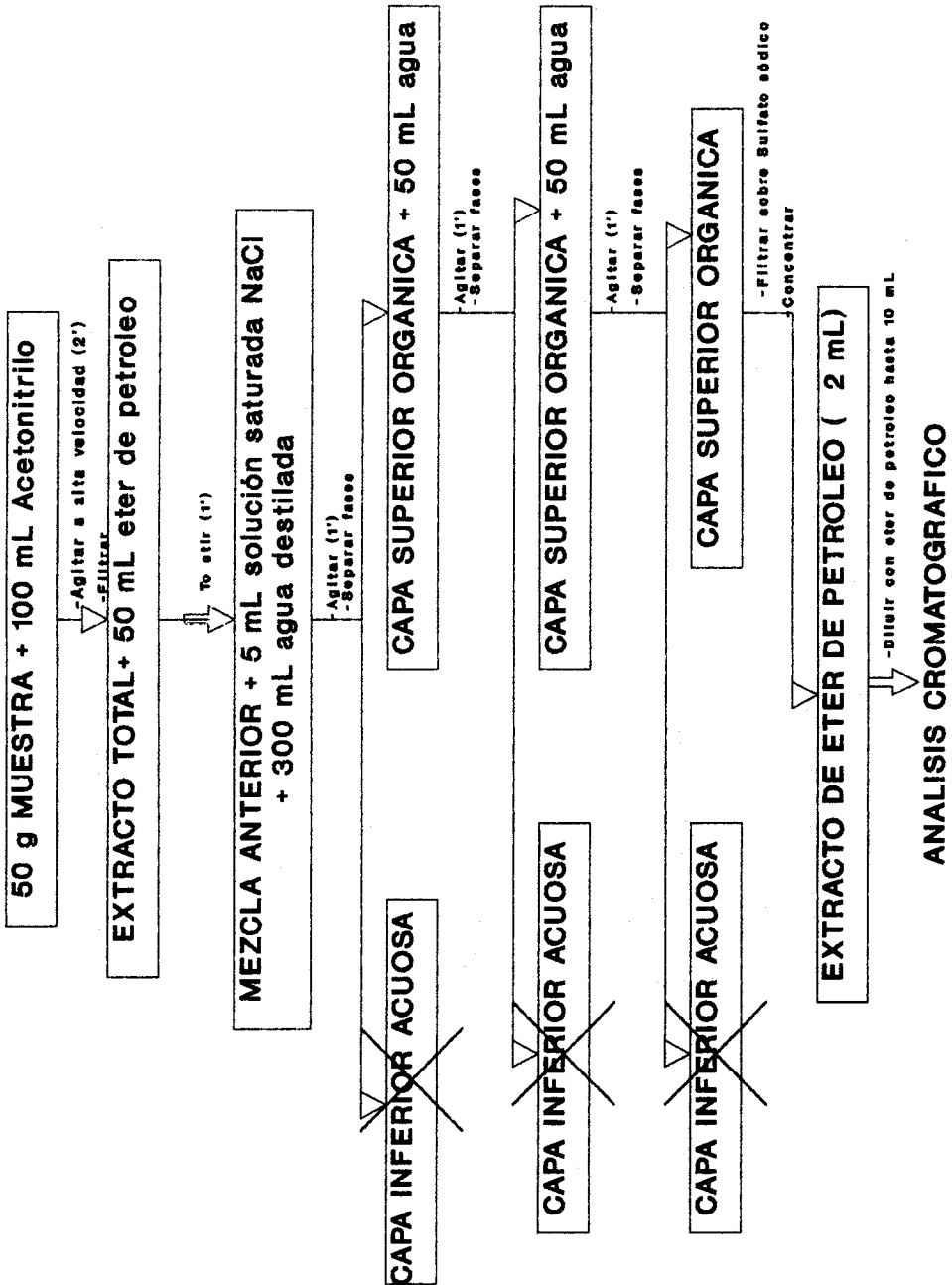


Figura 2
Esquema del método de extracción de Luke

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Usando las condiciones cromatográficas indicadas se ha determinado que los tiempos de retención para la procimidona y el pirazofos son 2,25 minutos y 6,35 minutos, respectivamente. El cromatograma se proporciona en la figura 4.

Asimismo, las relaciones área/altura de pico son 0,082 y 0,348, respectivamente.

El detector proporciona una respuesta lineal para el pirazofos en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0,10 y 2,00 mg/L; mientras que para la procimidona el intervalo de linealidad está comprendido entre 0,35 y 7,05 mg/L. Los datos obtenidos se dan en la tabla 1.

El ajuste a una recta por mínimos cuadrados dió un coeficiente de correlación $r = 0,9993$ y una pendiente $m = 47800$ Unidades de área de pico $\times L \times mg^{-1}$, para la procimidona (figura 5); y un coeficiente de correlación $r = 0,9994$, y una pendiente de la recta de regresión $m = 450000$ Unidades de área de pico $\times L \times mg^{-1}$ para el pirazofos (figura 6).

Los datos sobre el estudio de la reproducibilidad, límites de cuantificación y error del método analítico, se indican en la tabla 2.

GRADOS DE RECUPERACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Operando según los dos métodos de extracción descritos se han obtenido los resultados que se indican en las tablas 3 y 4, donde se indican las cantidades de pirazofos añadidos a cada 50 g de muestra sin contaminar y el porcentaje medio de recuperación, de los tres ensayos realizados para cada grado de contaminación, con su desviación típica.

Los resultados obtenidos nos llevaron a seleccionar la variante del método de extracción de Luke en el estudio de la persistencia del pirazofos en la judía strike, dado que proporciona en todos los casos niveles de recuperación superiores al 90% y desviaciones típicas inferiores al 7%.

ESTUDIO DE LA PERSISTENCIA DE PIRAZOFOS EN JUDÍA STRIKE

En la tabla 5 se dan los niveles medios, y sus desviaciones típicas, de residuos de pirazofos en la plantación.

En dicha tabla puede observarse como ya a los 16 días desde el último tratamiento con pirazofos, el nivel de residuos en la plantación es de 0,06 mg/kg, valor que se encuentra por debajo del límite máximo de residuos permitido por la Legislación Española.

| DIAS DESDE LA SIEMBRA | TRATAMIENTOS | OBSERVACIONES |
|-----------------------|---------------------|--------------------------|
| 22 | Pirazofos 750 g/Ha | |
| 48 | Pirazofos 1400 g/Ha | |
| 62 | | Inicio primer muestreo |
| 63 | | |
| 64 | | |
| 65 | | Primera recolección |
| 66 | | |
| 67 | | Finaliza primer muestreo |
| 77 | | Inicio segundo muestreo |
| 78 | | |
| 79 | | |
| 80 | | |
| 81 | | Segunda recolección |

Figura 3
Calendario de tratamientos y toma de muestra

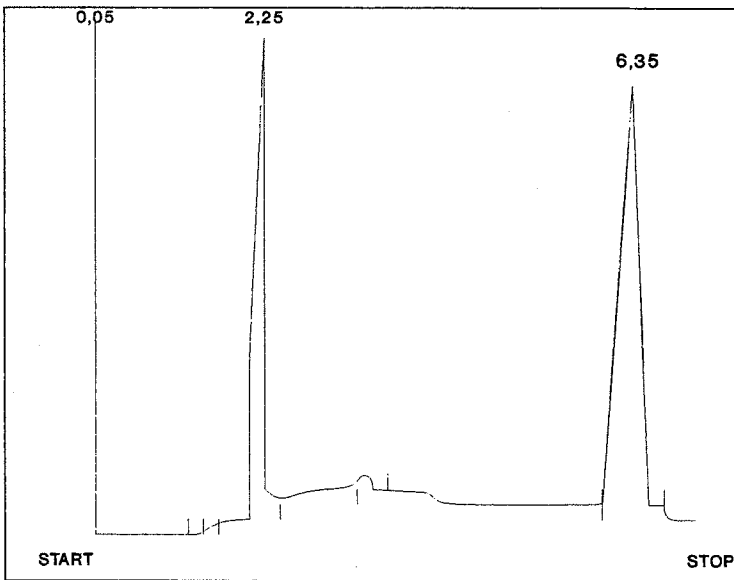


Figura 4
Cromatograma de procimidona y pirazofos

Tabla 1:

Valores de área de pico en función de las concentraciones de procimidona.

| Procimidona (mg/L) | Unidades de Área |
|--------------------|------------------|
| 0,35 | 21.345 |
| 0,70 | 39.644 |
| 1,41 | 72.334 |
| 2,82 | 150.040 |
| 7,05 | 341.210 |

Tabla 2:

Valores de área de pico en función de las concentraciones de pirazofos.

| Pirazofos (mg/L) | Unidades de Área |
|------------------|------------------|
| 0,10 | 39.556 |
| 0,50 | 229.660 |
| 1,00 | 472.240 |
| 2,00 | 895.530 |
| 5,00 | 1.332.480 |

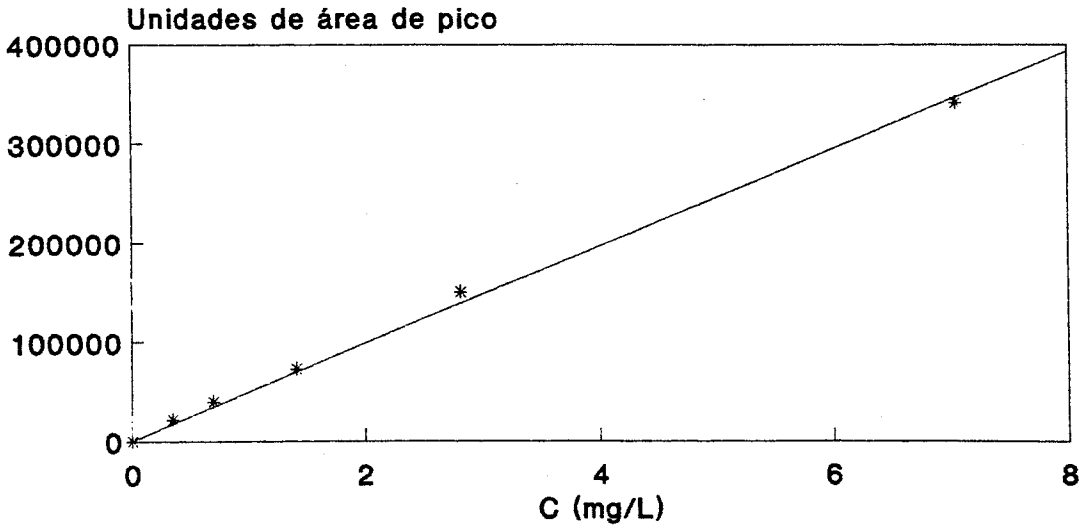


Figura 5
Valores de área de pico en función de la concentración de procimidona

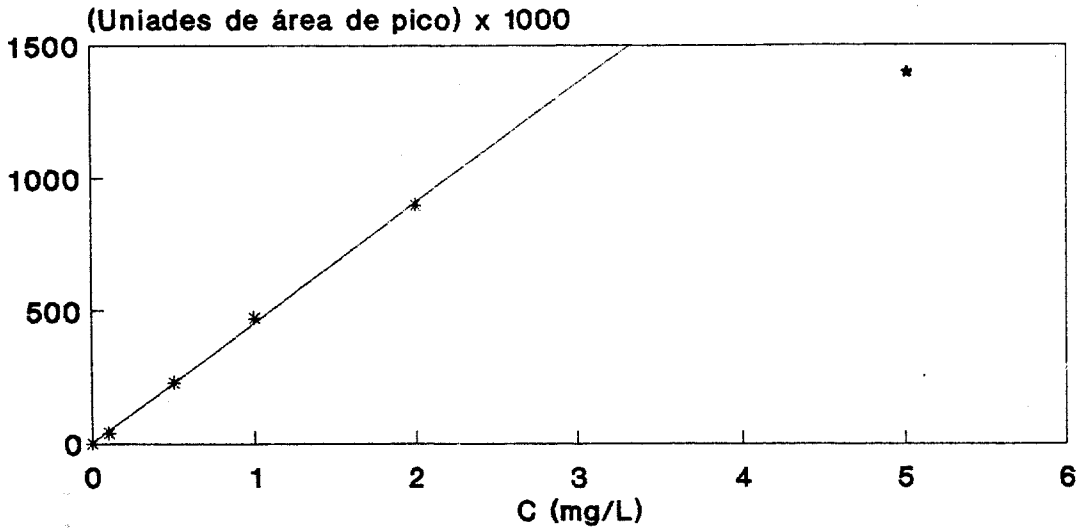


Figura 6
Valores de área de pico en función de la concentración de pirazofos

Tabla 3:

Valores de la reproducibilidad, límites de cuantificación y error del método cromatográfico.

| | |
|--|-------------|
| Desviación típica sobre la media PROCIMIDONA | 0,003 |
| Límite de cuantificación PROCIMIDONA | 0,005 MG/KG |
| Error del método PROCIMIDONA | 2,66 % |
| Desviación típica sobre la media PIRAZOFOS | 0,02 |
| Límite de cuantificación PIRAZOFOS | 0,02 MG/KG |
| Error del método PIRAZOFOS | 4,21 % |

Tabla 4:

Grado de recuperación de pirazofos, para diferentes niveles de contaminación, usando el método de extracción de la A.O.A.C. y las condiciones cromatográficas descritas.

| CONTAMINACIÓN (MG/KG) | RECUPERACIÓN % |
|-----------------------|----------------|
| 0,10 | 76,0 ± 7,2 |
| 0,20 | 74,7 ± 3,5 |
| 1,00 | 77,7 ± 12,1 |

Tabla 5 :

Grado de recuperación de pirazofos, para diferentes niveles de contaminación, usando el método de extracción de Luke y las condiciones cromatográficas indicadas.

| CONTAMINACIÓN (MG/KG) | RECUPERACIÓN % |
|-----------------------|----------------|
| 0,10 | 99,3 ± 5,0 |
| 0,20 | 101,3 ± 4,7 |
| 1,00 | 93,1 ± 5,6 |

Debido a los pequeños valores de residuos de pirazofos encontrados durante todo el estudio, los cuales se mantienen constantes durante el segundo muestreo, confirmando la elevada persistencia que exhibe este fungicida en otros cultivos (10), no se ha podido evaluar, de forma rigurosa, su cinética de degradación. No obstante, usando los datos experimentales correspondientes a los niveles de residuos durante el primer muestreo, se han obtenido los parámetros que se indican en la tabla 7, los cuales nos proporcionan una información orientativa sobre el comportamiento, en lo que a degradación se refiere, del pirazofos en la judía *strike* cultivada bajo plástico en el Poniente almeriense.

CONCLUSIONES

1.- Se ha propuesto un método de determinación conjunta de residuos de procimidona y pirazofos mediante cromatografía gaseosa, usando un detector NPD y una columna capilar HP-1.

Las condiciones cromatográficas fijadas son las siguientes:

Volumen de inyección: 2 μ L .

Flujo del gas portador: 13,5 mL/minuto.

Temperatura del inyector: 200 °C.

Temperatura del detector: 279 °C.

Temperatura de horno programada con la rampa:

200 °C (1').....30 °C/minuto.....230 °C (7')

2.- En el intervalo de concentraciones 0,05 - 7,05 mg/L, en el caso de la procimidona, y de 0,10 - 2,00 mg/L, en el caso del pirazofos, se obtiene una respuesta lineal del detector, en las condiciones cromatográficas señaladas, entre la concentración de plaguicida y el área del pico cromatográfico obtenido, cuyos coeficientes de correlación son en ambos casos superiores a 0,9990.

En dicho intervalo de concentraciones los factores de respuesta resultaron ser:

$4,78 \times 10^4$ Unidades de área \times L \times mg⁻¹, para la procimidona.

$4,50 \times 10^5$ Unidades de área \times L \times mg⁻¹, para el pirazofos.

3.- El error relativo del método analítico, para ambos plaguicidas, es inferior al 5%.

4.- Los límites de cuantificación son de 0,05 mg/kg, para la procimidona, y de 0,02 mg/kg para el pirazofos.

5.- Se pone de manifiesto que el método de extracción de Luke es más idóneo, para la extracción de pirazofos de muestras de judía de mata baja, que el de la O.A.O.C.

6.- El estudio sobre la persistencia del pirazofos en una plantación en invernadero de judía de mata baja, a la que se le hicieron dos tratamientos con pirazofos, a los 22 y 46 días después de la siembra, muestra como durante el periodo de recolección (entre los días 62 y 81 después de la siembra) el nivel de residuos global de la plantación desciende desde 0,06 mg/kg hasta 0,02 mg/kg. Dichos valores se encuentran por debajo del límite máximo de residuos de este plaguicida en España. Aunque, durante toda la recolección el nivel de residuos es superior al

límite máximo establecido por Alemania y Bélgica, por lo que no podrían ser comercializadas estas judías en estos países.

Tabla 6:
Niveles de residuos de pirazofos, cada día de muestreo, en la plantación.

| t* (días) | Nivel medio de residuos en la plantación (mg/kg) |
|-----------|--|
| 16 | 0,06 ± 0,03 |
| 17 | 0,05 ± 0,02 |
| 18 | 0,04 ± 0,01 |
| 19 | 0,04 ± 0,02 |
| 20 | 0,02 ± 0,01 |
| 21 | 0,02 ± 0,01 |
| 31 | 0,03 ± 0,01 |
| 32 | 0,02 ± 0,01 |
| 33 | 0,03 ± 0,01 |
| 34 | 0,03 ± 0,02 |
| 35 | 0,02 ± 0,01 |

* tiempo transcurrido desde el último tratamiento con pirazofos

Tabla 7:
Parámetros característicos de la degradación del pirazofos en la judía de mata baja.

| | | |
|---------------------------------|--------------------------|-------------|
| Residuo inicial | Ro (mg/kg) | 3,2 ± 0,7 |
| Constante de velocidad | K (días ⁻¹) | 1,29 ± 0,03 |
| Período de semipersistencia | t _{1/2} (días) | 1 ± 1 |
| Período de decipersistencia | t _{1/10} (días) | 9 ± 3 |
| Nivel de residuos a los 15 días | R ₁₅ (mg/kg) | 0,07 ± 0,06 |
| Coefficiente de correlación | r | -0,954 |

REFERENCIAS

- 1.- CREMLYN, R., *Plaguicidas modernos y su acción bioquímica*, Mexico, Editorial Limusa, 1982.
- 2.- EDWARDS, I.P., *Persistent Pesticides Environment*, Cleveland, CRS Press, 1976.
- 3.- KLIMMER, O.R., *Plaguicidas: Toxicología, Sintomatología y Terapia*, Barcelona, Editorial Oikos-Tau S.A., 1967.
- 4.- A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, Washington, A.O.A.C., 1984.
- 5.- MILLS, A.P.; ONLEY, J.H. and GAITHER, R.A., *J. Off. Anal. Chem.*, 46 (1963), 186.
- 6.- LUKE, M.A.; FROBERY, J.E.; DOOSE, G.M. and MASUMOTO, H.T., *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 64 (1981), 1187.
- 7.- LUKE, M.A.; FROBERY, J.E.; DOOSE, G.M. and MASUMOTO, H.T., *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 58 (1975), 1020.
- 8.- BAYLEY, R.E.; LEBEL, G.L.; MANNERS, T.G.; MOORE, T.; NORTH, D. and RENAULT, C.M., *Analytical Methods for Pesticides in Food*, Ottawa, Canadian Government Publishing Centre, 1984.
- 9.- ANDERSON, A. and OHLIN, B., *Vär Föda*, 38:2 (1986), 79.
- 10.- CABRAS, P.; CABITZA, F.; MELONI, M. and PIRISI, F.M., *J. Agric. Food Chem.*, 33 (1985), 237.