

NUEVO MÉTODO PARA EXTRAER IMAZAPYR DEL SUELO SIN EL USO DE SOLVENTES ORGÁNICOS

Milton SOTO-BARAJAS, Blanca PRADO*, Elías RAYMUNDO,
Claudia HIDALGO y Jorge ETCHEVERS

Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México. Delegación Coyoacán, 04510. México, D.F., México. *Correo electrónico: bprado@geologia.unam.mx

(Recibido octubre 2010, aceptado agosto 2011)

Palabras clave: Imazapyr, métodos de extracción, validación de métodos, cuantificación, cromatografía de líquidos

RESUMEN

Se presenta un método para la extracción de Imazapyr del suelo sin emplear solventes orgánicos en el que se utiliza agua desionizada como extractante. Después de la extracción del herbicida, la identificación y la cuantificación se realizó por cromatografía de líquidos de alta presión. Las pruebas de extracción y la validación del método se ensayaron en cinco suelos de uso agrícola. La validación del procedimiento de extracción se hizo considerando el desempeño de los siguientes parámetros: selectividad, recuperación, repetibilidad y robustez, de acuerdo con las definiciones establecidas por el Centro Nacional de Metrología de México. Con el método propuesto la recuperación del herbicida fue superior al 85 %, lo cual permite concluir que el método de extracción puede ser utilizado como procedimiento de rutina en las investigaciones sobre disipación de Imazapyr en suelos.

Key words: Imazapyr, methods for extracting, validation of methods, quantification, HPLC

ABSTRACT

A new method was developed for extracting Imazapyr from soil samples. Instead of using organic solvents as the extracting medium, the new method employs deionized water. Validation and extraction tests were carried out on five agricultural soils where the extracted solution was analyzed by high performance liquid chromatography to identify and quantify the herbicide. Validation of the extracting procedure was conducted by computing four performance indexes: selectivity, recovery, reproducibility and robustness, according to the definitions of these parameters given by the Centro Nacional de Meteorología (Metrology National Center of Mexico). Since the proposed method has a recovery rate of herbicide above 85 %, it can be used as a routine procedure when studying fate and transport of Imazapyr in soil.

INTRODUCCIÓN

Según Wang *et al.* (2004), para cada plaguicida que entra en contacto con el suelo se requiere obtener la mayor cantidad de información sobre su persistencia y metabolismo por razones agronómicas y ambientales. El Imazapyr es un herbicida cuya aplicación está autorizada en México por la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, para el combate de la maleza en zonas urbanas y en mezcla con otras imidazolinonas en cultivos de maíz (CICOPLAFEST 2004), aun cuando está restringido en la Unión Europea de acuerdo con el informe preliminar de la Convención de Rotterdam (Lewis 2003). Uno de los problemas reportados después del empleo de este producto es que en ciertas zonas sus residuos pueden impedir temporalmente la siembra, o afectar los sistemas de producción de rotación de cultivos (Firmino *et al.* 2008). Cox (1996) reportó que, en concentraciones incluso de 1/50 de la dosis de aplicación típica, el desarrollo en plantas de papa fue afectado. Agosstinetto *et al.* (2001) postularon que el daño sería consecuencia de una disminución del tamaño del sistema radical lo cual repercutiría en una menor producción de materia seca. Cox (1996) menciona que la sorción del herbicida por el suelo es baja y su solubilidad en agua es elevada, características que le confieren un alto potencial para contaminar cuerpos de agua. Además, el Imazapyr es un herbicida muy persistente en el suelo. Pusino *et al.* (1997), Kaichouh *et al.* (2004) y Osajima *et al.* (2008) han reportado presencia de este compuesto en ese medio después de un año de su aplicación y Silva-Trejo (2005) encontró residuos estables hasta dos años después. Vizantinopoulos y Lolos (1994) encontraron que la vida media del herbicida era cercana a 50 meses, mientras que Hurley y Shanaman (2007) calcularon ésta hasta por 5.9 años, obtenida por extrapolación de los resultados experimentales en tres suelos con condiciones aeróbicas.

En la literatura existen descritos varios procedimientos para extraer y cuantificar Imazapyr del suelo (ver Liu *et al.* 1992, D'Ascenzo *et al.* 1998, Borjesson *et al.* 2004, Wang *et al.* 2005 y 2006, Lao y Gan 2006 y Ramezani *et al.* 2009, entre otros) en los que es posible identificar dos etapas principales:

- a) *La extracción de Imazapyr del suelo*, que tiene la finalidad de poner al herbicida en solución acuosa, libre de suelo.
- b) *El tratamiento del extracto*, que se refiere al proceso de preparación para la identificación y cuantificación del herbicida.

En la primera etapa, esto es, la extracción del herbicida desde la fase sólida del suelo, se identifican cuatro fases comunes: (1) la aplicación de la solución extractante, (2) la agitación, (3) la centrifugación y (4) la separación del extracto. Las variaciones entre los métodos consultados fueron: en la composición de la solución utilizada como extractante, en los tiempos de agitación y en el tiempo y la velocidad de centrifugación, además que en el método propuesto por D'Ascenzo *et al.* (1998) se efectúa una sonicación a la suspensión. Liu *et al.* (1992) y Wang *et al.* (2005, 2006) coincidieron en usar una solución extractante compuesta por metanol y agua en proporciones v/v de 60:40 y 70:30 debido a la solubilidad del herbicida de 105 g L⁻¹ y 11.3 g L⁻¹ a 25 °C respectivamente en cada uno de esos solventes. D'Ascenzo *et al.* (1998) ensayaron la solución extractante propuesta por Liu *et al.* (1992), pero al compararla, mencionan que el NaCl 0.1M resultó ser mejor, además concluyeron en recomendar KCl 0.1M por resultar más eficiente que las otras dos soluciones probadas; también se han empleado soluciones con NaOH 0.5M por Borjesson *et al.* (1994) y Lao y Gan (2006).

La segunda etapa, que comprende el tratamiento del herbicida extraído para su evaluación, ha sido realizada directamente o después de concentrar el extracto. Liu *et al.* (1992) y D'Ascenzo *et al.* (1998) hicieron lecturas por cromatografía directamente. En otros procedimientos mencionados por Wang *et al.* (2005, 2006) se implementaron tres lavados con diclorometano, deshidratación del extracto con sulfato de sodio anhidro, reducción de volumen de éste con un rotavapor, transferencia a tubos de ensayo mezclándolo con hidróxido de aluminio, enjuagado con solución metanol/acetato de etilo, evaporación a sequedad en un rotavapor y redisolución con metanol. Lao y Gan (2006) trataron el extracto con HCl 6M hasta un pH de 2.8, centrifugaron a 9000 rpm por 20 min, lo decantaron, realizaron tres lavados con diclorometano, deshidratación del extracto con sulfato de sodio anhidro y concentraron la solución en un rotavapor casi a sequedad y redisolviéron el extracto con 2-propanol. Borjesson *et al.* (2004) reportan la separación del herbicida del resto de la solución empleando dos tipos de cartuchos de extracción de fase sólida (C₁₈ y SCX) y su redisolución en agua; y Ramezani *et al.* (2009) utilizaron también extracción de fase sólida.

Considerando la efectividad de los métodos en función de su capacidad para extraer el Imazapyr del suelo, las metodologías consultadas reportaron porcentajes de recuperación de 90 % en promedio,

Liu *et al.* (1992) de 81.6 a 86.9 % y D'Ascenzo *et al.* (1998) entre 89 y 95 %. Sin embargo, los porcentajes de recuperación no pudieron ser alcanzados al reproducir esas metodologías. En cuanto al uso de cartuchos de extracción de fase sólida su implementación representa incrementos en el costo del análisis, son materiales de difícil degradación y se requiere adicionar solventes orgánicos. Debido a lo anterior, en el presente trabajo se desarrolló un método de extracción del herbicida Imazapyr como una alternativa más rápida, sencilla y efectiva que la que ofrecen los métodos tradicionales, además de que se reducen los costos económicos y los efectos ambientales. En su desarrollo se utilizaron cinco suelos agrícolas y la validación se realizó considerando la selectividad, la recuperación, la repetibilidad y la robustez como parámetros de desempeño para evaluar su funcionamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Método de extracción

En el experimento las muestras utilizadas fueron de suelos con diferentes propiedades físico-químicas (**Cuadro I**). Clasificados como Andosol, Vertisol, Acrisol y Cambisol (WRB 2006) y un suelo patrón estándar del Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Ciencias Ambientales del Colegio de Postgraduados.

Como reactivo patrón analítico se utilizó Imazapyr con pureza de 99 % (Chem Service, West Chester, 19381 PA) y metanol grado HPLC (J. T. Baker Company). Para la preparación de la solución madre se pesaron 10 mg del reactivo patrón analítico y se disolvieron en 100 mL de solución diluyente (metanol/agua, 50:50, v/v) quedando a concentración de 100 mg L⁻¹. De esta solución se prepararon las curvas de calibración y las soluciones de trabajo de 2.0 mg L⁻¹, 6.0 mg L⁻¹ y 12 mg L⁻¹, por diluciones con agua desionizada ultrapura tipo Milli-Q (Millipore).

Experimentos preliminares

Se tomaron como base los procedimientos sugeridos por Liu *et al.* (1992) y D'Ascenzo *et al.* (1998), modificando los parámetros de los métodos de extracción para aumentar la recuperación. Debido a la naturaleza polar y la alta solubilidad en agua del Imazapyr (Laganà *et al.* 2000), la búsqueda de la solución extractante (SE) se enfocó al uso de soluciones acuosas, considerando, además de las ventajas en términos de bajos costos, la nula toxicidad y la fácil disponibilidad. Se estudiaron los efectos de la sonicación, de la relación Suelo/SE, del nivel de dopado, del secado del suelo y de la composición de la SE, a través de tres experimentos:

Experimento preliminar I: Las muestras se prepararon por duplicado, pesando 6.25 g de Andosol con humedad de campo equivalentes a 5.0 g de este suelo seco a 105 °C que se colocaron en matraces Erlenmeyer de 50 mL. Al suelo contenido en los matraces se le adicionaron 5.0 µg de Imazapyr contenidos en 2.5 mL de una solución de trabajo de 2.0 mg L⁻¹ del herbicida preparado en agua, de esta manera se logró una concentración 1.0 µg del reactivo en estudio por cada gramo de suelo seco. Se dejó el suelo dopado en los matraces durante 60 min en la oscuridad y luego se adicionaron 11.25 mL de la solución extractante (metanol/agua, 3:2, v/v) tomando las proporciones correspondientes al considerar que el suelo contenía 1.25 mL de agua por su humedad residual y la solución de Imazapyr 2.5 mL más. La solución extractante con respecto al suelo fue de 3:1 (v/p). Los matraces se agitaron por 30 min en un agitador horizontal y luego se sometieron a sonicación por 10 min, se dejaron reposar por 6 horas para lograr la separación de las fases. Transcurrido el tiempo de reposo, se tomaron alícuotas de 5.0 mL del sobrenadante en el matraz, se colocaron en tubos de ensayo, se introdujeron en una estufa a 60 °C hasta alcanzar un volumen

CUADRO I. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS SUELOS UTILIZADOS EN EL DESARROLLO Y LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE IMAZAPYR

Tipo de suelo	Profundidad de muestreo (cm)	Clase	Textura			pH (1:2, H ₂ O)	Carbón orgánico (%)
			Arena	Limo	Arcilla		
Andosol	15-20	Franco arenoso	45	50	5	6.1	5.3
Vertisol	25-40	Arcilla	32	26	42	8.2	1.4
Acrisol	0-10	Arcillo limoso	3	40	57	5.6	2.0
Cambisol	0-25	Arcilla	30	54	16	5.7	2.0
Patrón	0-15	Arcilla	23	30	47	7.0	0.9

aproximado a 2.0 mL y se midió el contenido en los tubos. Los concentrados contenidos en los tubos se hicieron pasar por filtros de Nylon (acrodiscos) individuales con diámetro de poros de 0.22 μm , se colectaron en viales de 2.0 mL que se utilizan en el cromatógrafo de líquidos, se midió el volumen y se aforó. Estos tubos se almacenaron en la oscuridad a $-4.0\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el momento de su análisis por cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC), con un módulo de separación Water 2695, detector de absorción UV-Visible Water 4789 ajustado a 240 nm, columna Symmetry C_{18} (3.9 mm \times 150 mm, 5.0 μm de tamaño de partícula). Las condiciones cromatográficas fueron: sistema de bombeo isocrático de 6.0 minutos con flujo de 1.0 mL min^{-1} , volumen de inyección 30.0 μL , fase móvil de ácido fórmico-1.0 %/metanol (70:30, v/v), temperatura de columna 37 $^\circ\text{C}$, el tiempo de retención del Imazapyr fue de 4.5 minutos.

Experimento preliminar II: En este experimento se dispuso de dos repeticiones para cada concentración, las muestras se prepararon con Andosol, al pesar 7.5 g de suelo con humedad de campo (conservado en un cuarto frío hasta antes del experimento) ó 6 g del mismo suelo pero secado en estufa a 105 $^\circ\text{C}$ por 48 horas. En cada caso el suelo se colocó en tubos de ensayo de vidrio de 20 cm de longitud y 2.0 cm de ancho y con tapa de rosca. Las muestras se doparon con 1.0 ó 2.0 μg por cada gramo de suelo seco al añadir 6.0 ó 12.0 μg de Imazapyr a través de 1.0 mL de solución de 6.0 ó de 12.0 mg L^{-1} del herbicida en agua. Los tubos que contenían el suelo se dejaron equilibrar con la solución del herbicida en la oscuridad por una hora, entonces se les adicionó la SE (metanol/agua, 3:2, v/v) en proporción de 4:1 (SE/suelo, v/p) considerando en la relación el contenido de agua de las muestras de suelo húmedo al momento de utilizarlo. Las muestras en los tubos de ensayo se colocaron por 30 min en agitador transversal, después se centrifugaron a 2500 rpm entre 12 y 15 min. Los sobrenadantes se filtraron con papel Whatman No. 42, se colectaron en vasos de precipitados y se almacenaron en la oscuridad. Se realizó una segunda extracción sobre las muestras siguiendo el mismo procedimiento desde la adición de la SE hasta el filtrado. Los dos sobrenadantes obtenidos del proceso de extracción se mezclaron y se dejaron evaporar hasta sequedad en una estufa de laboratorio a 60 $^\circ\text{C}$ por un máximo de 14 horas. La redisolución del analito contenido en los vasos de precipitados, el almacenamiento y las condiciones para lectura por HPLC fueron las mismas que se describieron en el Experimento preliminar I.

Experimento preliminar III: El procedimiento consistió en la variación de la relación metanol/agua a proporciones (v/v) de 1:0, 3:1, 1:3 y 0:1 de la SE. La relación metanol/agua (1:0) no fue lograda debido a que el suelo siempre mantuvo cierto contenido de agua; sin embargo, ésta fue baja en comparación con la cantidad de metanol utilizado. Cada muestra se realizó por duplicado pesando el equivalente a 5.0 g de suelo seco de un Andosol con humedad de campo. El suelo fue dopado con 2.0 μg de Imazapyr por cada gramo de suelo al añadir de 2.0 mL de solución de 5.0 mg L^{-1} del herbicida en agua. Las condiciones de extracción, concentración, redisolución y cuantificación fueron semejantes a las descritas en el Experimento preliminar II.

Validación del método generado

En la validación del método se evaluaron aquellos parámetros cuya influencia se consideró directa sobre la extracción, siguiendo las recomendaciones, las definiciones y las indicaciones para calcularlos descritas en el documento CNM-MRD-PT-030 del Centro Nacional de Metrología (2005).

Selectividad cualitativa

Para el procedimiento de extracción de Imazapyr del suelo se determinó la selectividad cualitativa, que se refiere a la medida hasta la cual otras sustancias interfieren en la determinación de un analito en particular en un procedimiento determinado. Para comprobar la identidad del Imazapyr se compararon los cromatogramas obtenidos de un Andosol dopado a una concentración conocida y un cromatograma del mismo suelo sin plaguicida.

Recuperación

Se refiere a la fracción del analito extraída de una muestra fortificada previa al análisis por acción del método. En este caso se prepararon por triplicado cinco muestras al dopar con Imazapyr el equivalente a 5.0 g de Andosol en concentraciones de 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 1.4 $\mu\text{g g}^{-1}$ al añadir 2.0 mL de alguna de las soluciones de 0.5, 1.0, 2.0, 2.5 y 3.5 mg L^{-1} del herbicida en agua.

El porcentaje de recuperación (%R) se calculó como sigue:

$$\%R = \frac{CF - CU}{CA} \times 100 \quad (1)$$

donde *CF* fue la concentración del Imazapyr medida en la muestra de suelo dopada; *CU* fue la concentración de Imazapyr medida en la muestra de suelo sin dopar; *CA* fue la concentración de Imazapyr adicionado en la muestra de suelo para fortificarla.

Repetibilidad

Este parámetro de validación refleja la precisión al seguir la metodología propuesta. Se evaluó bajo las mismas condiciones: utilizando el mismo suelo, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo. Se comparó la recuperación en ocho muestras de 5.0 g de Andosol dopadas con Imazapyr a concentración de $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ al añadir 2.0 mL de solución de 2.5 mg L^{-1} del herbicida en agua. De los resultados de la medición se calculó la desviación estándar (s_r), el coeficiente de variación (CV), y el límite de repetitividad (lr) el cual permite decidir si es significativa la diferencia entre las muestras analizadas.

$$lr = t_{\infty} \cdot \sqrt{2} \cdot s_r \quad (2)$$

t_{∞} es el valor de *Student* en dos sentidos para $v = \infty$ a una confianza dada (el nivel de confianza normal establecido fue 95%, $t = 1.96$), y s_r representa la desviación estándar entre las muestras analizadas.

Robustez

Es la capacidad que demuestra el procedimiento de análisis para proporcionar resultados válidos en presencia de pequeños cambios en la matriz respecto de condiciones originalmente evaluadas en el método (Silva-Cajas 2004). Se realizaron análisis estadísticos para conocer si existió efecto significativo del tipo de suelo sobre la recuperación del Imazapyr. Para ello se utilizaron tres repeticiones de cada uno de los cinco suelos descritos en el **cuadro I**, con diferencias en el pH, la textura y el contenido de carbón orgánico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Método de extracción

La recuperación promedio lograda en los experimentos de extracción preliminares descritos en la sección Materiales y métodos es la media de dos repeticiones del mismo procedimiento (**Cuadro II**), se consideró el efecto de la sonicación, de la relación suelo/solución extractora (suelo/SE), del nivel de dopado, del secado del suelo y de la composición de la solución extractante. El porcentaje de recuperación de Imazapyr se calculó aplicando la Ecuación 1, las muestras se prepararon de un Andosol.

La primera prueba de extracción en la cual se realizó sonicación y una relación suelo/SE 1:3, la recuperación de Imazapyr fue de 25.5%, misma que se consideró no satisfactoria ya que fue inferior a los resultados obtenidos en todos los casos de los métodos de extracción consultados. Debido a esto se modificó la metodología de extracción (Experimento preliminar II).

En el Experimento Preliminar II, cuando se ensayó el mismo suelo pero con diferente contenido de humedad, el método resultó ser sensible a este parámetro pues se obtuvieron mayores recuperaciones, aumentando de 44.1 a 62.2 % y de 34.8.0 a 48.8 % de Imazapyr en muestras de suelo con humedad de campo dopadas con $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ y $2.0 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, que en aquellas en las que se usó el suelo secado en estufa. En este sentido Curran *et al.* (1992) explicaron que la remoción del agua del suelo provocó un incremento en las uniones de éste con el herbicida, lo que resultó en un menor desprendimiento y menor recuperación.

CUADRO II. RECUPERACIÓN DE IMAZAPYR EN FUNCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN REALIZADO EN MUESTRAS DE ANDOSOL

Experimento preliminar	Imazapyr en el suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Relación suelo/SE (p/v)	SE: metanol/agua, (v/v)	Recuperación (%)
I	1.0	1:3	3:2	25.5 §
II	1.0	1:4	3:2	62.2 §
				44.1 ¶
	2.0			48.0 §
				34.8 ¶
III	2.0	1:4	0:1	110.5 §
			1:3	93.9 §
			3:1	58.7 §
			1:0	24.5 §

§ Muestra en que se utilizó suelo con humedad de campo; ¶ Muestra en que se utilizó suelo secado al horno (105 °C, 48 horas)

Con las modificaciones realizadas al segundo experimento de extracción, la recuperación aumentó en un 21.7 %, pasó de 25.5 % a 47.3 % con respecto a los resultados del Experimento preliminar I. Comparando ambos procedimientos, en uno la separación de fases (Experimento preliminar I) se dio por sedimentación gravitacional natural; en tanto que en el Experimento preliminar II, se realizó por sedimentación mecánica (centrifugación). Puede verse que los porcentajes de recuperación del herbicida fueron inferiores al 70 % en ambos casos. Conforme a este resultado se decidió probar algunas modificaciones a la solución extractante, cambiando la proporción agua/metanol (experimento preliminar III), de ahí se observó que al aumentar el contenido de agua y disminuir el de metanol, la recuperación del Imazapyr aumentó y viceversa. Obteniéndose la mayor recuperación al utilizar 100 % de agua como extractante. Aunque la solubilidad del Imazapyr es mayor en metanol que en agua, en las condiciones experimentales descritas para la cuantificación del herbicida por HPLC, con el uso de metanol puro y en soluciones se detectaron interferencias en los cromatogramas causadas por sustancias ajenas al herbicida; por otro lado, la solubilidad del herbicida en agua fue suficiente para extraerlo de manera cuantitativa y sin interferencias.

Los experimentos preliminares (I, II y III) fueron considerados en la definición de las condiciones finales del método de extracción que se propone (**Fig. 1**), se tomó como base el Experimento pre-

liminar II, modificándose el centrifugado a 1500 rpm por 15 min para evitar la ruptura de los tubos de vidrio que contenían las muestras; se realizaron tres procesos de extracción a cada muestra para aumentar la reproducibilidad de los resultados, y para optimizar el tiempo de concentración del sobrenadante del proceso de extracción se aumentó la temperatura de la estufa a 70 °C. La solución extractante que se usó fue agua desionizada con la que se pudo cuantificar la mayor cantidad de Imazapyr como se observó en el Experimento preliminar III.

Validación del método

Se realizó la validación del método propuesto de extracción del Imazapyr en el suelo para identificar limitaciones en su funcionamiento.

Selectividad cualitativa

Con el método de extracción propuesto no se logró separar el Imazapyr del resto de las sustancias solubles en agua presentes en la solución de los suelos utilizados, pero con las condiciones cromatográficas descritas se consiguió la identificación del herbicida. En la **figura 2** se observan las diferencias entre los cromatogramas de muestras del Andosol sin el analito en estudio (**Fig. 2a**) y otra enriquecida con 0.2 µg del herbicida (**Fig. 2b**).

En el cromatograma de la **figura 2b** se muestra la señal producida por el Imazapyr, sin alguna interferencia por la presencia de sustancias ajenas al herbicida, estando el pico de éste definido y sobre la línea base.

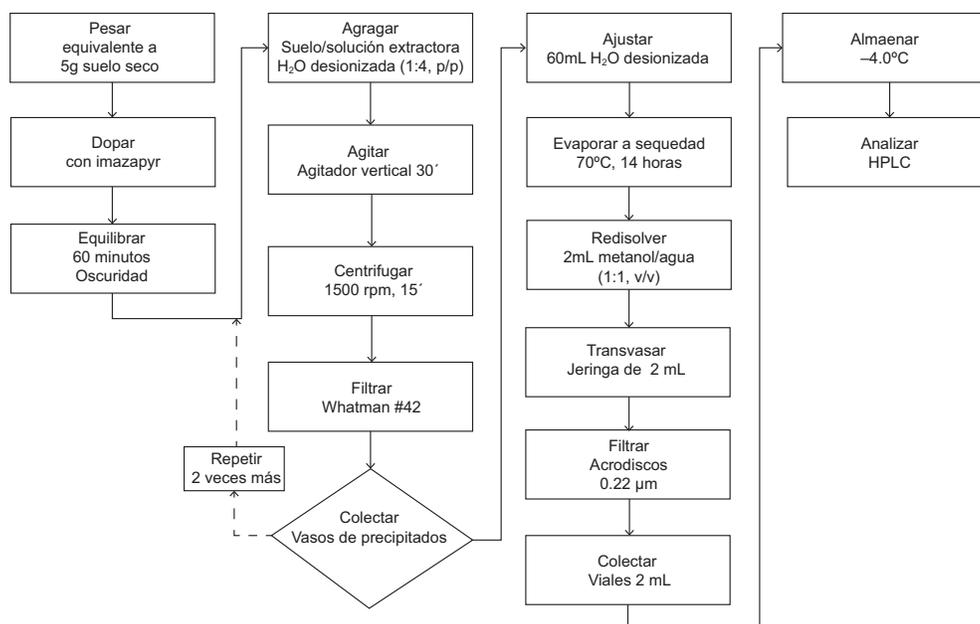


Fig. 1. Representación del método propuesto para la extracción de Imazapyr del suelo

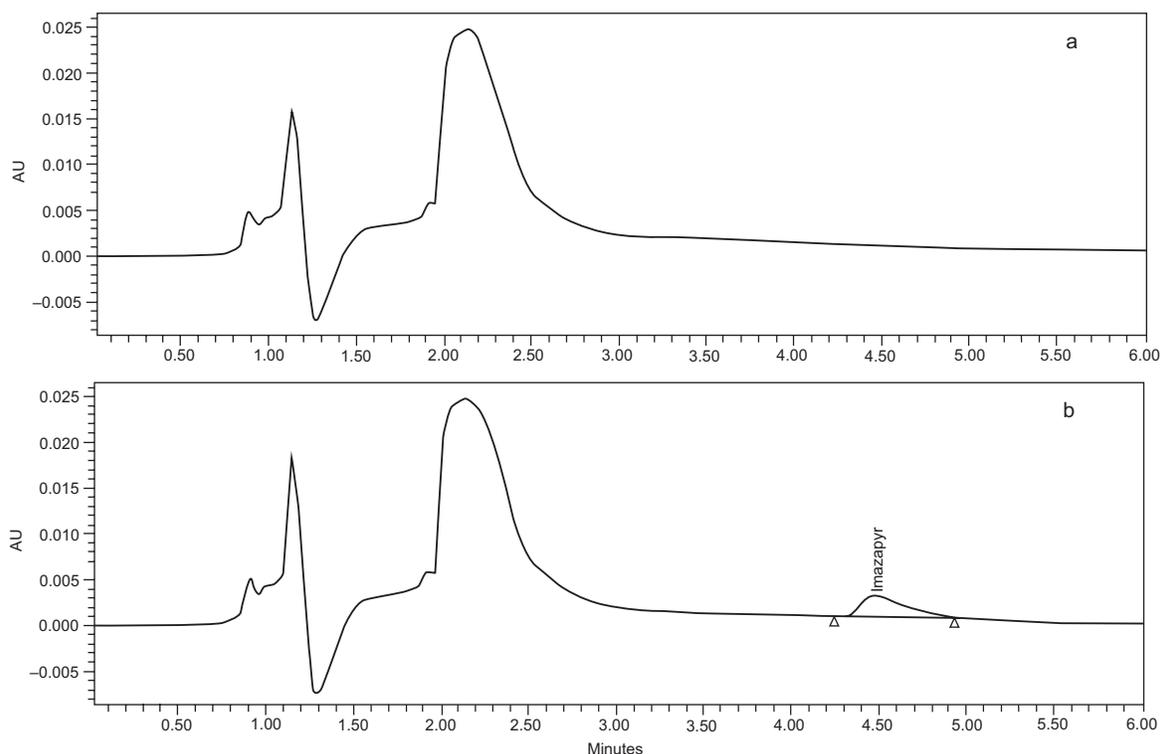


Fig. 2. Diferencias entre los cromatogramas de un Andosol sin Imazapyr (a) y una muestra dopada (b)

Recuperación

La recuperación se evaluó en muestras del Andosol enriquecidas con 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 1.4 μg de Imazapyr por gramo de suelo seco. Siguiendo la metodología de extracción propuesta y utilizando la Ecuación 1 para calcular la recuperación del herbicida que fue superior al 90 % para las cinco concentraciones analizadas (**Fig. 3**). La menor recuperación fue ligeramente inferior al 93 % cuando se agregaron 0.2 $\mu\text{g g}^{-1}$, y la recuperación más alta fue de 103.3 % un 3.3 % por encima del nivel de dopado en la muestra de 0.8 $\mu\text{g g}^{-1}$.

La cuantificación conseguida (92.6 % - 103.3 %) por el método de extracción (**Fig. 3**) se encuentra dentro del rango señalado en la guía de la APVMA (Autoridad Australiana en Plaguicidas y Medicina Veterinaria, *Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority*, 2004) en la cual se indica que el porcentaje de recuperación de un plaguicida para métodos de extracción y detección confiable debe ubicarse entre el 75 y el 125 % cuando la relación plaguicida/matriz es inferior al 0.1 %; igualmente Bluhorst (1996) menciona que para los métodos en que se evalúa la recuperación de residuos se aceptan valores de recuperación entre 70 y 120 % de los niveles de dopado. Aunque el porcentaje de recuperación

conseguido fue en promedio de 98.8 %, el CENAM (2005) indica que durante el enriquecimiento no se logra la misma adhesión del material a la matriz, de este modo el analito no está tan fuertemente ligado como en condiciones naturales en que el contacto con el Imazapyr ha sido prolongado y por consiguiente la técnica dará una impresión irreal de una alta eficiencia de extracción. Sin embargo, esta es la forma más común de determinar la eficiencia de recuperación y está reconocida como una forma aceptable de hacerlo.

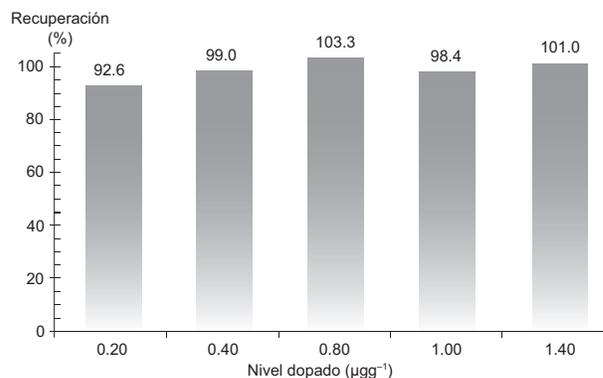


Fig. 3. Porcentaje de recuperación de Imazapyr en muestras de suelo dopadas a concentraciones de 0.2, 0.4, 0.8, 1.0, 1.4 $\mu\text{g g}^{-1}$

Repetibilidad

La repetibilidad del procedimiento de extracción de Imazapyr del suelo dopado con $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ se evaluó con ocho muestras de Andosol, se trabajó en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo. De los resultados de recuperación (**Cuadro III**) fueron calculados: la desviación estándar ($s = 0.07 \mu\text{g g}^{-1}$), el coeficiente de variación ($C.V. = 7.2 \%$) y el límite de repetitividad ($lr = 0.19$).

Brodí *et al.* (2005) indicaron que de acuerdo con el *Group of Analysis of Residues of Pesticides* (GARP), para que los resultados de un método de extracción sean aceptables el coeficiente de variación de medición en condiciones de repetibilidad debe ser inferior al 15 %. Al respecto, la Agencia Americana para la Protección Ambiental y la Organización para la Prevención de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (EPA y OOP 2006) no aceptan aquellos métodos en los que el coeficiente de variación entre muestras preparadas en las mismas condiciones sea superior al 30 %. El coeficiente de variación entre las muestras del **cuadro III** fue de 7.2 % por lo que se puede decir que el método de extracción propuesto cumple con la condición de repetibilidad necesaria para su uso como procedimiento analítico confiable.

CUADRO III. RECUPERACIÓN DE IMAZAPYR EN MUESTRAS DE ANDOSOL DOPADAS CON $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ PARA EL CÁLCULO DE REPETIBILIDAD DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Repetición	Imazapyr recuperado	
	$\mu\text{g g}^{-1}$	%
1	0.91	92.6
2	0.96	98.0
3	1.04	105.3
4	0.93	94.5
5	1.04	105.9
6	0.88	89.6
7	0.99	100.9
8	1.08	110.2
Promedio (\bar{x})	0.98	99.6
Desviación estándar (s)	0.07	
Coefficiente de variación (CV)	7.24	
Límite de repetitividad (lr)	0.19	

Robustez

Este parámetro se evaluó a través de la medición de la recuperación de Imazapyr en cinco suelos con diferencias en el pH, la textura y el contenido de CO (**Cuadro I**) considerando tres repeticiones para cada uno. Los suelos fueron enriquecidos con $0.2 \mu\text{g}$

de Imazapyr por gramo de suelo seco. Del análisis estadístico se observó que no existieron diferencias significativas ($P < 0.05 \%$) sobre la cuantificación de Imazapyr por el efecto del tipo de suelo, a pesar del 16 % de sobreestimación en la recuperación en el Vertisol (**Cuadro IV**).

La desviación estándar de la recuperación de Imazapyr en los suelos utilizados fue $\pm 0.033 \mu\text{g}$ (**Cuadro IV**), el coeficiente de variación de 16.6%, muy por encima del $\pm 3.71 \%$ reportado por Wang *et al.* (2005, 2006), 10 % mayor que los resultados obtenidos por Liu *et al.* (1992) y D'Ascenzo *et al.* (1998), y similar al $\pm 18.1 \%$ reportado por a Borjesson *et al.* (2004). Sin embargo, la cantidad de suelos evaluados con el método de extracción propuesto y el promedio de recuperación (98.2 %) fueron mayores que en aquellos mencionados por los autores citados.

CUADRO IV. RECUPERACIÓN DE IMAZAPYR EN FUNCIÓN DEL TIPO DE SUELO

Tipo de suelo	Recuperación de Imazapyr	
	$\mu\text{g g}^{-1}$	%
Andosol	0.185 (4)	92.6
Acrisol	0.172 (3)	85.8
Vertisol	0.232 (3)	116.0
Cambisol	0.186 (3)	93.1
Patrón	0.207 (4)	103.7
Promedio (\bar{x})	0.196	98.2
Desviación estándar (s)	0.033	
Coefficiente de variación (CV)	16.6	

El número entre paréntesis indica la cantidad de repeticiones consideradas para el promedio

CONCLUSIONES

Se generó un nuevo método de extracción de Imazapyr del suelo para su cuantificación por HPLC. El método propuesto utiliza agua desionizada como extractante, cumple con los requisitos de selectividad, recuperación y repetibilidad para métodos de extracción de residuos. El análisis de la robustez del método arrojó resultados de recuperación similares ($CV < 17 \%$) entre las muestras de los cinco suelos en que se ensayó, con extracción promedio del 98.2 % del plaguicida agregado. Con el uso del procedimiento generado se disminuyó el tiempo destinado a la extracción, la inversión económica y el daño ecológico que en aquellos métodos en que se empleen solventes orgánicos o cartuchos de extracción de fase sólida.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Doctora Lucy Mora Palomino encargada del Laboratorio de Edafología Ambiental del Instituto de Geología de la UNAM, en el cual se realizaron la mayor parte de las actividades de esta investigación. Al proyecto PAPIIT-UNAM IN116310 y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del que fue becario Milton C. Soto-Barajas.

REFERENCIAS

- Agostinetto D., Lamego F. P., y Pinto J. J. O. (2001). Aço residual do herbicida imazapyr aplicado em canal de irrigação sobre a culturado do arroz. *Rev. Bras. de Agrociência*. 7, 181-188.
- APVMA (2004). Guidelines for the validation of analytical methods for active constituent, agricultural and veterinary chemical products. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority. Kingston, Australia. 9 pp.
- Bluhorst M. R. (1996). Experimental parameters used to study pesticide degradation in soil. *Weed Technol.* 10, 169-173.
- Börjesson E., Torstensson L. y Stenström, J. (2004). The fate of imazapyr in a Swedish railway embankment. *Pest. Manag. Sci.* 60, 544-549.
- Brodi S. H. G., Rodrigues da Silva J. C. y Lancas, F. M. (2005). Development and validation of a methodology for the determination of pesticides in water by SPME-LC/DAD. *J. Liq. Chromatogr. Rel. T.* 28, 2909-2919.
- CENAM (2005). CNM-MRD-PT-030 Métodos analíticos adecuados a su propósito: Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. Centro Nacional de Metrología. Publicación técnica. Los Cués, Queretaro: Centro Nacional de Metrología. 69 pp.
- CICOPLAFEST. (2004). Catálogo de Plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. Catálogo [en línea]. http://www.cofepris.gob.mx/wb/cfp/catalogo_de_plaguicidas
- Cox C. (1996). Herbicide factsheet: Imazapyr. *J. Pestic. Reform.* 16, 16-20.
- Curran W. S., Loux M. M., Liebl R. A. y Simmons, F. W. (1992). Photolysis of imidazolinone herbicides in aqueous solution and on soil. *Weed Sci.* 40, 143-148.
- D'Ascenzo G., Gentili A., Marchese S., Marino A., y Perret D. (1998). Rapid and simple method for extraction and determination of imidazolinone herbicides in soil. *Analisis* 26, 251-255.
- EPA (2006). 738-R-06-007 Reregistration eligibility decision (RED) document for imazapyr. Prevention, Pesticides and Toxic Substances. United State Environmental Protection Agency. 107 pp.
- Fermino L. E., Tuffi S. L. D., Ferreira L. R., Ferreira F. A., y Quirino A. L. S. (2008). Movimento do herbicida Imazapyr no perfil de solos tropicais. *Planta Daninha* 26, 223-230.
- Hurley P. y Shanaman L. (2007). Risks of imazapyr use to the federally listed California Red Legged Frog (*Rana aurora draytonii*). Environmental Fate and Effects Division, Office of Pesticide Programs. Washington, D. C. 164 pp.
- Kaichouh G., Oturan N., Oturan M., El Kacemi K., y El Hourch A. (2004). Degradation of the herbicide imazapyr by Fenton reactions. *Environ. Chem. Lett.* 2, 31-33.
- Lao W. y Gan J. (2006). High-performance liquid chromatographic separation of imidazolinone herbicide enantiomers and their methyl derivatives on polysaccharide-coated chiral stationary phases. *J. Chromatogr. A.* 1117, 184-193
- Lewis S. R. (2003). Cleaning up Europe: A message for developing countries. *Pest. News* 60, 8-10.
- Liu W., Pusino A., y Gessa C. (1992). High-performance liquid chromatographic determination of the herbicide imazapyr residues in water and soil. *Sci. Total Environ.* 123/124, 39-45.
- Osajima J. A., Ishiki H. M. y Takashima K. (2008). The photocatalytic degradation of imazapyr. *Monatshefte für Chemie* 139, 7-11.
- Pusino A., Peretto S. y Gessa C. (1997). Adsorption and desorption of imazapyr by soil. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1012-1016.
- Ramezani M., Simpson N., Oliver D., Kookana R., Gill G., y Preston, C. (2009). Improved extraction and clean-up of imidazolinone herbicides from soil solutions using different solid-phase sorbents. *J. Chromatogr. A.* 1216, 5092-5100.
- Silva-Cajas, G. V. (2004). Validación del Método de Valoración de Glimepiride por Cromatografía Líquida de Alta Performance HPLC. Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 100 pp.
- Silva-Trejo P. (2005). Determinación de residuos de imazapic e imazapyr en arroz (*Oriza sativa*) por HPLC. *Ingeniería* 15, 15-19.
- Vizantinopoulos S. y Lolos P. (1994). Persistence and leaching of the herbicide imazapyr in soil. *B. Environ. Contam. Tox.* 52, 404-410.
- Wang X., Wang H. y Fan D. (2005). Persistence and metabolism of imazapyr in four typical soils of Zhejiang Province (China). *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 85, 99-109.

Wang X. Wang H. y Fan D. (2006). Degradation and metabolism of imazapyr in soils under aerobic and anaerobic conditions. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 86, 541-551.

WRB (2006). World Reference Base for Soil Resources. IUSS Working Group. FAO, Roma, Italia.