

# Extracción de compuestos organoclorados usando una Membrana hueca como barra sólida “solid bar” mediante GC-ECD

Jhon A Fiscal-Ladino<sup>1</sup> , M Rosero-Moreano<sup>1\*</sup>

## Resumen

La búsqueda de nuevas técnicas analíticas que sean de alta sensibilidad y selectividad, que logren la detección de compuestos que se encuentren a nivel de trazas en las diversas matrices es uno de los retos de química, además que respondan a los principios de una química verde, donde se minimice el uso de solventes orgánicos, y a su vez las técnicas conlleven a una fácil preparación de la muestra, se reduzcan el número de pasos de todo el proceso. Se desarrolló una técnica de microextracción usando una membrana hueca y confinando dentro del lumen un pin metálico y una fase absorbente sólida C18 (octadecilo); este experimento se propone para la extracción de 10 plaguicidas ( $\alpha$ -BHC, 2: Lindano, 3: Aldrín, 4: Heptacloro Epóxido, 5: Dieldrín, 6: Endrín, 7: 4,4'-DDD, 8: Endrín Aldehído, 9: sulfato de Endosulfan, 10: 4,4'-DDT), para evaluar la capacidad de extracción, arrojando una buena eficiencia de aislamiento de los analitos, los resultados obtenidos de la técnica “solid bar” fueron buenos en la recuperación, todo fue realizado por triplicado para evaluar la reproducibilidad y repetibilidad; con un factor de concentración (FC) en el orden de 20 veces, en cuanto al LOD y al LOQ ya que se logró la extracción de los analitos en orden de los ng L<sup>-1</sup>, se presenta un porcentaje de recuperación entre 45 y 71%.

## Palabras clave

Organoclorados, barra sólida, extracción, GC-ECD

## Abstract

The research for new analytical techniques that are highly sensitive and selective, that achieve the detection of compounds that are found at trace level in different matrices is one of the challenges of chemistry, additionally that they respond to the principles of a green chemistry, where the use of organic solvents is minimized, and also obtain techniques that lead to an easy preparation of the sample, reducing the number of steps of the extraction process. It was developed a technique of microextraction using a hollow membrane and confining within the lumen a metal pin and a solid C18 (octadecyl) absorbent phase; this experiment is proposed for the extraction of 10 pesticides ( $\alpha$ -BHC, 2: Lindane, 3: Aldrin, 4: Heptachlor Epoxide, 5: Dieldrin, 6: Endrin, 7: 4,4'-DDD, 8: Endrin Aldehyde 9: Endosulfan sulfate, 10: 4,4'-DDT), to evaluate the extraction capacity, yielding a good isolation efficiency of the analytes, the results obtained from the solid bar technique were good in recovery, all was performed in triplicate to evaluate reproducibility and repeatability; with a concentration factor (CF) in the order of 20 times, for LOD and LOQ the extraction

---

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Grupo GICTA, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia AA. 275. \*E-mail: [milton.rosero@ucaldas.edu.co](mailto:milton.rosero@ucaldas.edu.co)

of the analytes were achieved in the order of ng L<sup>-1</sup>, a recovery rate between 45 and 71%.

### **Key Words**

Organochlorines, solid bar, extraction, GC-EDC.

### **Introducción**

Actualmente se han desarrollado técnicas analíticas novedosas en fase líquida (LPME)(1)(2) para determinar la presencia de moléculas que generan algún interés, ya sea de tipo farmacéutico, industrial, ambiental entre otros, estas técnicas tienden a minimizar los pasos en la preparación de la muestra, disminuyendo los errores que suceden en este paso; para ello se propone desarrollar una técnica que logre estos propósitos; además que sea económica, ecológica y sencilla que permita la extracción de moléculas en diferentes matrices acuosas, y como principal de aquellos analitos que se encuentran a nivel de trazas, llevando a la ideología de una química verde, para lo cual, se propone el uso de una membrana hueca(3)(4) empacada con una fase sólida (C18) siendo una miniaturización de la extracción en fase sólida (SPE)(5)(6)(7)(8), la importancia de utilizar esta técnica es la determinación de moléculas catalogadas como contaminantes emergentes (9)(10) como son los compuestos organoclorados (OCs) se encuentran en el medio ambiente y en cantidades a nivel de trazas, estos llegan principalmente en las aguas por diversos factores, cuando es vertido directamente al agua para control de alguna plaga, del lixiviado de los cultivos, erosión del suelo, por descarga de las aguas residuales domésticas, incluso de las mismas industrias que los sintetizan o hacen uso de estos para a los que se le han

comprobado que pueden causar daño a la salud humana y animal a corto, mediano o largo plazo(11)(12), para esta técnica, se tendrán en cuenta las características analíticas, implementada en términos de límites de detección, linealidad, precisión, recuperación y factor de enriquecimiento aplicado a matrices acuosas, además de optimizar el método de microextracción, mediante el estudio de las condiciones críticas de extracción como son la selección del disolvente orgánico, velocidad de agitación, tiempo de extracción, adición de cloruro de sodio (NaCl).

### **Proceso experimental**

#### **Reactivos y Estándares**

Se utilizaron estándares de 10 compuestos organoclorados ( $\alpha$ -BHC, lindano, aldrin, heptacloro epóxido, dieldrin, endrin, 4,4'-DDD, endrin aldehído, sulfato de endosulfan, 4,4'-DDT), La muestra fue dopada con una mezcla de los plaguicidas a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cada compuesto, las soluciones patrón de trabajo se prepararon por dilución de las soluciones madre que se encontraban en isooctano con agua ultrapura tipo 1. Las soluciones patrón y diluciones de trabajo se almacenaron a 4°C según *standard methods*.

#### **Condiciones cromatográficas en GC-ECD**

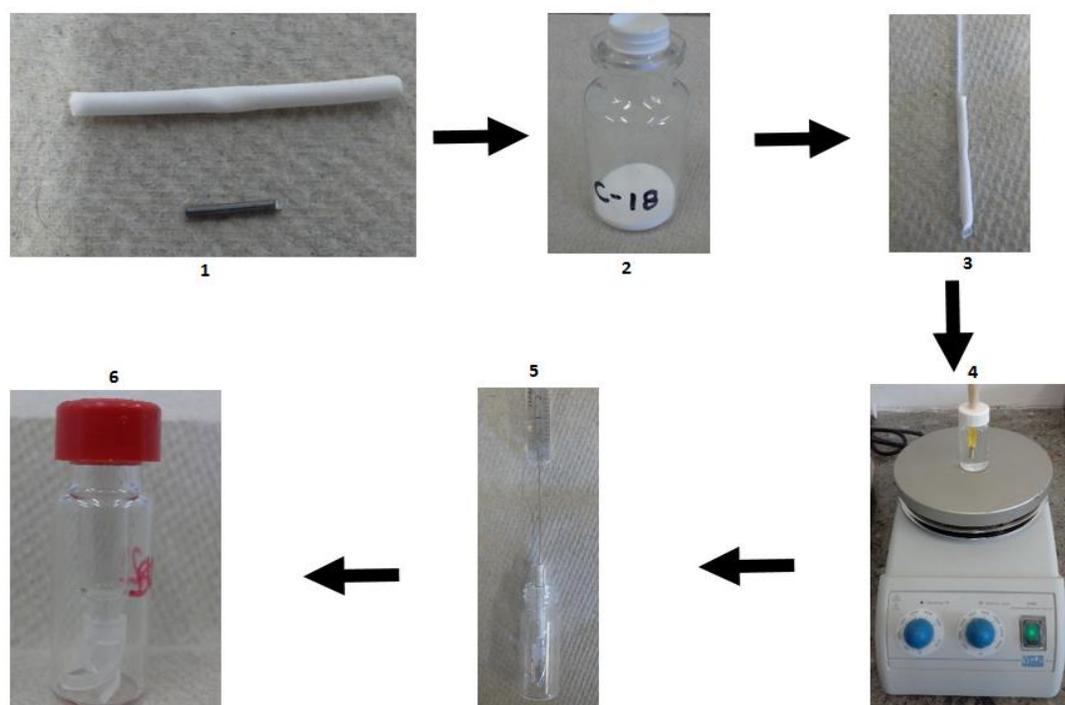
Para el análisis se utilizó un equipo de Thermo Trace 100 Cromatógrafo de gases equipado con detector ECD. La

columna a utilizar fue una Rtx®-5 30 m, 0,32 mm ID, 0,25  $\mu\text{m}$ . El programa de temperatura del horno: temperatura inicial 150°C, la cual se incrementa a 4°C  $\text{min}^{-1}$  hasta 250°C, la temperatura del detector fue de 300 °C reteniéndose durante 10 mim. La temperatura del inyector a 280°C y se utilizó en modo de inyección splitless. El volumen de inyección utilizado fue de 1  $\mu\text{L}$ . Se usó como gas portador Helio (99,999% de pureza) a un flujo de 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$ ; el gas auxiliar fue Nitrógeno (99,999%, 30 mL  $\text{min}^{-1}$ ) suministrados por la empresa de gas Lynde.

#### Procedimiento de la “solven bar”

En esta investigación se utilizó una membrana hueca como proceso de preparación de muestra, antes de hacer la inyección en el GC; se utilizó

una membrana de polipropileno Accurel PP 300/1200 GmbH Polypore Cia., (Alemania), de un espesor de película de 300 $\mu\text{m}$ , tamaño de poro de 0,2  $\mu\text{m}$  x 1,2 ID y con una área superficial específica de 17.3  $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ . Se hace un corte de la membrana de 20mm de longitud, donde un extremo de la membrana fue sellado a presión mecánica con una pinza, se hace un llenado del lumen de la membrana con una parte del adsorbente C18 (octadecil), como se observa en la figura 1, se introduce un alambre metálico posteriormente se termina de llenar con más fase adsorbente buscando que el alambre quede en la mitad de la membrana garantizando una agitación uniforme, y de ahí se hace el sellado del otro extremo de la membrana.



**Figura 1.** Proceso de la membrana hueca empacada con C18. 1. Membrana hueca y alambre metálico, 2. Material adsorbente (C18), 3. Llenado de membrana con material adsorbente y alambre metálico, 4. Proceso de extracción, 5. Lavado del material adsorbente, 6. Extracto para análisis.

El solvente orgánico (1-octanol) se impregnó en las paredes de la membrana para aumentar el proceso de difusión de los analitos hacia la fase sólida, este sistema fue probado en una mezcla de 10 plaguicidas ( $\alpha$ -BHC, lindano, aldrin, heptacloro epóxido, dieldrin, endrin, 4,4'-DDD, endrin aldehído, sulfato de endosulfan, 4,4'-DDT), el dispositivo es sumergido en la muestra a unas condiciones optimizadas de extracción tales como la temperatura, el tiempo de agitación, velocidad de agitación y la adición de sal (%NaCl). Posteriormente, la membrana preparada se retira de la muestra acuosa, se corta uno de los extremos, se deposita en un microinserto con el fin de extraer los analitos haciendo un lavado de la fase sólida con aproximadamente 100 $\mu$ L de 1-octanol, para ser inyectado en el GC-ECD para el análisis. El volumen de inyección fue de 1 $\mu$ L. La membrana usada se descartada después de cada experimento.

### **Resultados y discusión**

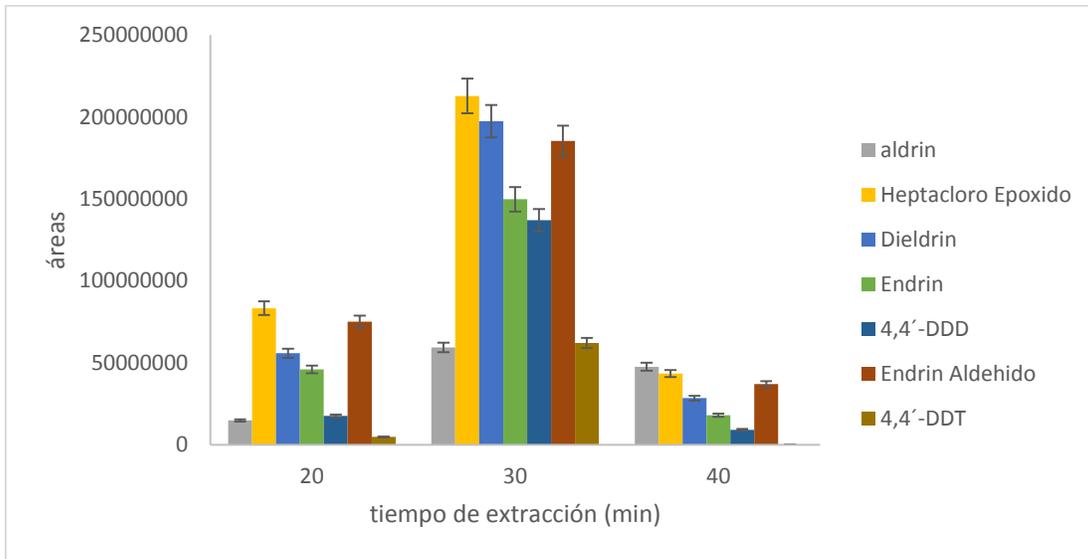
Para este dispositivo se aplica un diseño de experimentos para la optimización de las variables críticas en el procedimiento de microextracción. Se planteó un diseño de experimento del tipo  $N + (N - 1)(13)$  con cuatro variables de control cada una con tres niveles; a través de este diseño se logra implementar un

máximo de 9 experimentos que se realizarán con un mínimo de tres repeticiones, para determinar las mejores condiciones para operar el sistema.

Las condiciones de extracción fueron tomadas a partir de las condiciones óptimas encontradas en la bibliografía y de ella se fueron variando de acuerdo a un nivel máximo y mínimo que podía soportar el sistema, aquí se tomó en cuenta la velocidad de agitación, el tiempo y temperatura de extracción, y la concentración añadida de NaCl.

### **Efecto del tiempo de extracción**

Para el sistema que utilizó como fase adsorbente C18 empacada dentro del lumen de la membrana, aplicando tiempos de extracción de 20, 30 y 40 minutos, en la mezcla de plaguicidas, arrojaron los mejores resultados para un tiempo de extracción de 30 min ya que a partir de ahí se alcanzaba el punto de saturación de la fase C18, y al aumentar el tiempo se puede llegar a perder el analito ya concentrado regresando a la matriz por un proceso de equilibrio entre las fases, además que entre menos tiempo se use para cualquier sistema de extracción garantiza que el sistema es bueno, porque minimiza el tiempo tanto del analista como del número de muestras por analizar (Fig. 2).

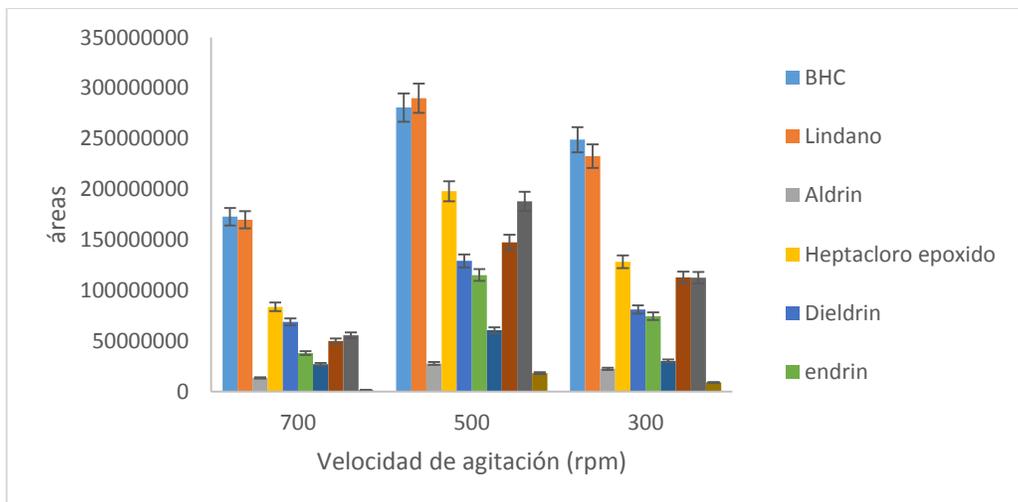


**Figura 2.** Diferencias en las áreas en 3 tiempos de extracción para 10 plaguicidas

**Efecto de la velocidad de agitación**

Al empacar la C18 en la membrana le proporcionó un peso mayor al que el alambre podía soportar, porque no resistía velocidades de agitación muy altas, por ello se tomaron velocidades de 300, 500 y 700rpm, donde se evidencia que la velocidad de agitación óptima para este sistema fue de 500 rpm, logrando la extracción de

la mayor concentración de los analitos presentes en la fase acuosa, esto se debe a que a una velocidad de agitación determinada, la membrana empieza a disminuir la velocidad por el peso generado, disminuyendo el contacto de la muestra con la membrana por lo tanto no hay un paso total de los analitos hacia el sistema (Fig. 3).



**Figura 3.** Diferencias en las áreas en 3 velocidades de agitación para 10 plaguicidas

### Efecto de la temperatura de extracción

Se parte de la temperatura óptima encontrada en la bibliografía para procesos similares. Se miden las extracciones a 20, 30 y 40°C, a partir de los 30°C no se logran cambios

significativos en la extracción para la mayoría de los compuestos, dejando esta temperatura como la óptima ya que un aumento elevado no genero diferencias significativas en la extracción (Fig. 4).

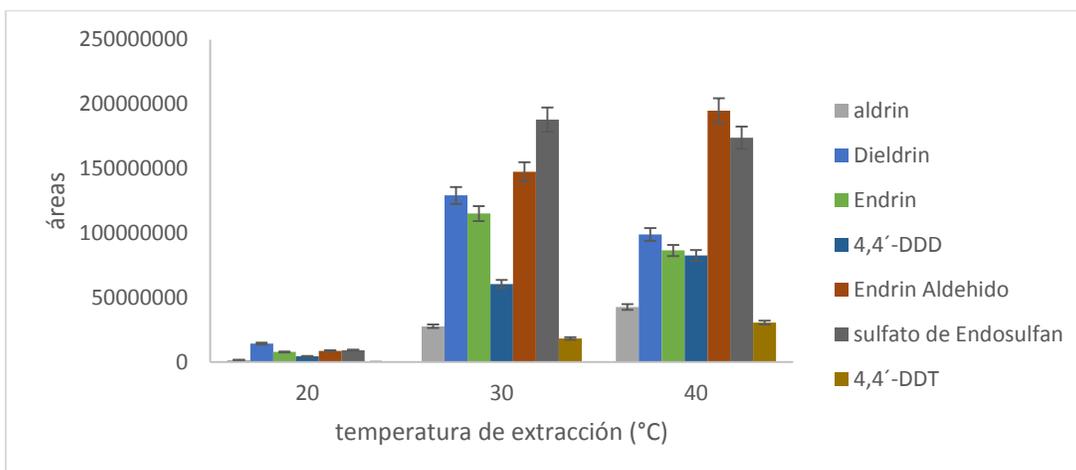


Figura 4. Diferencias en las áreas en 3 temperaturas de extracción para 10 plaguicidas

### Efecto de la adición de NaCl

El efecto de la fuerza iónica es importante en todo sistema de extracción porque se mejora

considerablemente la concentración de los analitos, en este punto se partió del sistema HF-SBME (Fig. 5).

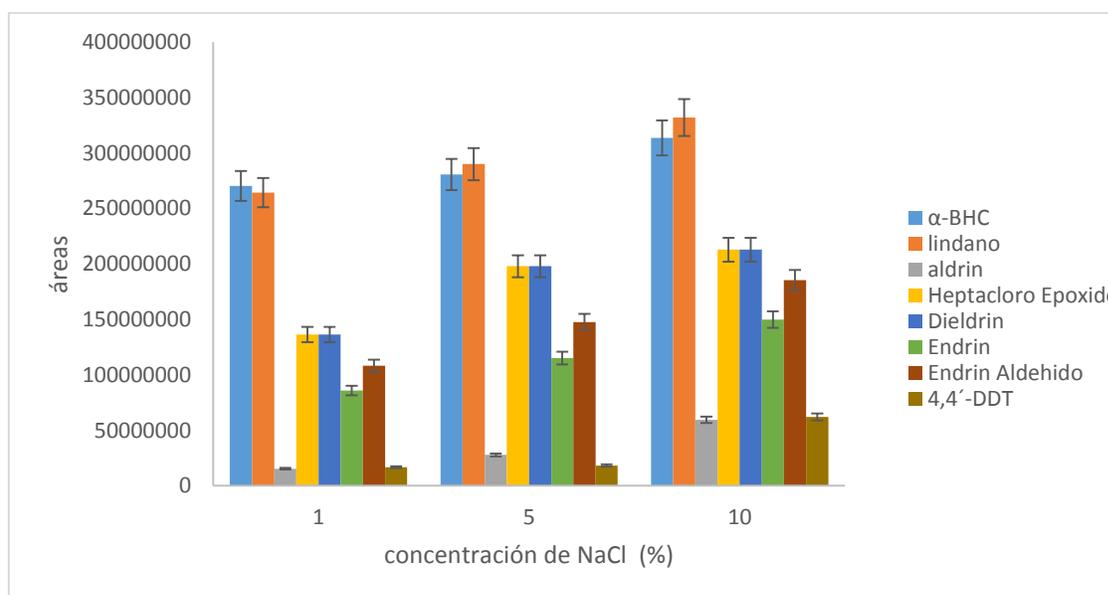
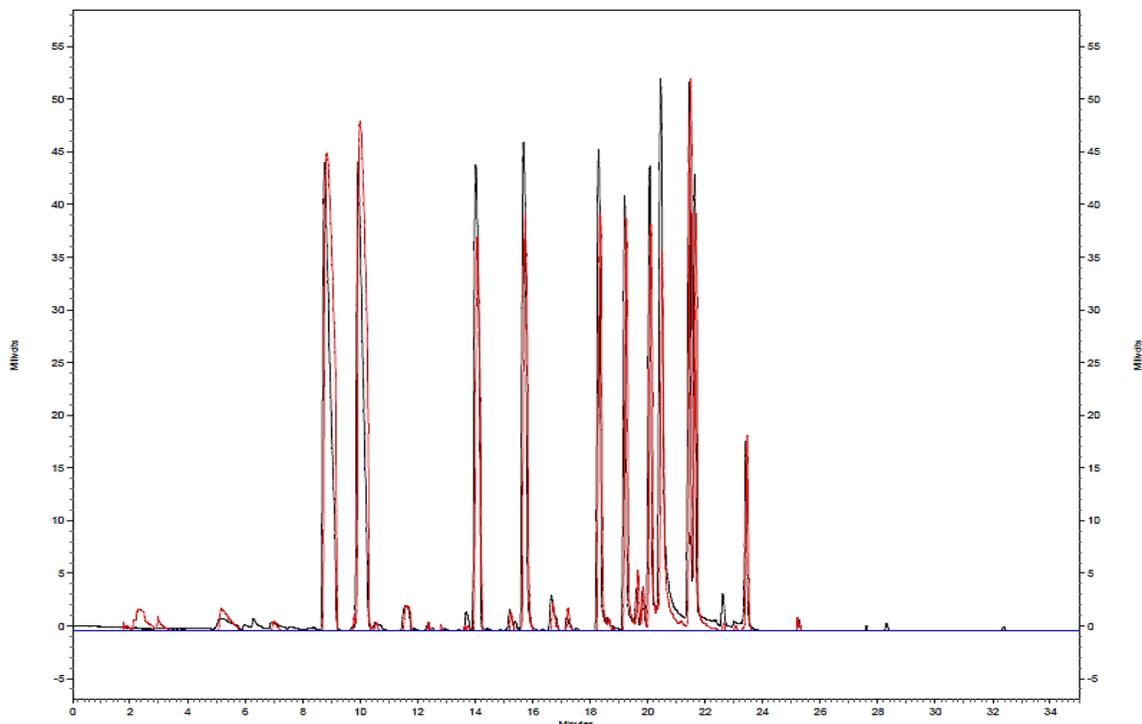


Figura 5. Diferencias en las áreas en 3 concentraciones de NaCl para 10 plaguicidas

Partiendo de concentraciones más pequeñas desde 1, 5 y el 10% de NaCl, dando resultados coherentes porque se presenta una mejor extracción de los analitos a una concentración del 10% de NaCl, ya que concentraciones mayores podrían ocasionar pérdida por el aumento extra de la fuerza iónica.

Después de obtener las condiciones óptimas de extracción del sistema se hace una comparación del proceso de microextracción a  $50\text{ng mL}^{-1}$ , frente a una inyección de un estándar multiplicada por el FC de 20 veces a  $1\ \mu\text{g mL}^{-1}$  como se puede observar en la figura 6.



**Figura 6.** Cromatogramas superpuestos del sistema de microextracción HF empacada con C18 (azul: 1-octanol; negro: solución estándar inyección directa  $1\ \mu\text{g mL}^{-1}$  usando HF-SBME empacada; rojo: solución dopada microextraída y eluída con 1-octanol; compuestos 1:  $\alpha$ -BHC, 2: Lindano, 3: Aldrín, 4: Heptacloro Epóxido, 5: Dieldrín, 6: Endrín, 7: 4,4'-DDD, 8: Endrín Aldehído, 9: sulfato de Endosulfan, 10: 4,4'-DDT.

Se evidencia que el sistema presenta un sistema de extracción bueno por que logra preconcentrar los analitos casi a la misma concentración de una inyección directa presentado una buena recuperación y buen factor de enriquecimiento, este proceso se puede considerar como un proceso miniaturizado de la SPE.

### Características analíticas

Los resultados obtenidos de la técnica “solid bar” fueron muy buenos, todo fue realizado por triplicado para evaluar la reproducibilidad y repetibilidad; en cuanto al LOD y al LOQ ya que se logró la extracción de los analitos en orden de los  $\text{ng L}^{-1}$ , se

presenta un porcentaje de recuperación entre 45 y 71% (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentajes de recuperación de 10 plaguicidas mediante la técnica de barra sólida. (%R: Porcentaje de Recuperación).

Molécula de Plaguicida	%R
BHC	48,4
Lindano	50,1
Aldrin	44,9
Heptacloro epoxido	54,5
Dieldrin	56,4
Endrin	69,3
4,4'-DDD	57,9
Endrin aldehído	54,1
Sulfato de Endosulfan	71,3
4,4'-DDT	70,5

### Conclusiones

Se ha desarrollado un dispositivo “solid bar” de extracción miniaturizada basado en la extracción “stir bar”. El proceso se optimizó sobre las variables críticas de extracción. El desempeño de las características analíticas para la técnica desarrollada responde a las posibilidades en el campo de la preparación de muestra, las tendencias de la química verde, además por la baja concentración de las moléculas de interés y los buenos factores de preconcentración alcanzados se presenta alta detectabilidad, arrojando bajos límites de detección y de cuantificación.

La microextracción en modo “solid bar”, presenta un factor de concentración (FC) de

aproximadamente 20 veces, un buen LOD, en el rango de los  $\text{ng L}^{-1}$ , se logra una recuperación significativa de los analitos, entre el 48 y el 70%, tiene un proceso de mucho cuidado lo que le genera un mayor trabajo, ya que se debe empacar la membrana con el adsorbente, previo a realizar la extracción lleva un proceso de preacondicionamiento, no se logran altas velocidades de agitación por que la fase le proporciona un peso adicional que el alambre metálico no lo alcanza a soportar, además, se debe hacer un sellado apropiado de la membrana, la fase adsorbente se puede perder, lo que hace un sistema con un grado de complejidad alto.

### Bibliografía

1. Ramos Payán M, Bello López MÁ, Fernández-Torres R, González JAO, Callejón Mochón

M. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of

- fluoroquinolones in biological and environmental matrices. *J Pharm Biomed Anal.* 2011;55(2):332–41.
2. Mirzaei M, Dinpanah H. Three phases hollow fiber LPME combined with HPLC-UV for extraction , preconcentration and determination of valerenic acid in *Valeriana officinalis*. *J Chromatogr B* [Internet]. Elsevier B.V.; 2011;879(21):1870–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchro mb.2011.05.005>
  3. Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid–liquid extraction. *J Chromatogr A* [Internet]. 2008 Mar [cited 2015 Oct 16];1184(1-2):132–42. Available from: <http://www.sciencedirect.com/sc ience/article/pii/S002196730701 5063>
  4. Fiscal Ladino JA, Taborda Ocampo G, Nerin C, Rosero-moreano M. Development of a new liquid phase microextraction method with hollow fiber HF-SBME for the analysis of the organochlorine compounds in water samples by GC-ECD. 2015;6(4):241–50.
  5. Yong S, Chen Y, Kooi T, Kee H. Talanta Determination of total thyroxine in human serum by hollow fi ber liquid-phase microextraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Talanta* [Internet]. Elsevier; 2014;126:163–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talant a.2014.03.058>
  6. Bielicka-Daszkiwicz K, Voelkel A. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta.* 2009;80(2):614–21.
  7. Al-Hadithi N, Kössler P, Karlovsky P. Determination of ochratoxin A in wheat and maize by solid bar microextraction with liquid chromatography and fluorescence detection. *Toxins (Basel).* 2015;7(8):3000–11.
  8. AL-Hadithi N, Saad B, Grote M. A solid bar microextraction method for the liquid chromatographic determination of trace diclofenac, ibuprofen and carbamazepine in river water. *Microchim Acta* [Internet]. 2010;172(1):31–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s0060 4-010-0463-5>
  9. James CA, Miller-Schulze JP, Ultican S, Gipe AD, Baker JE. Evaluating Contaminants of Emerging Concern as tracers of wastewater from septic systems. *Water Res* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016;101:241–51. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/re trieve/pii/S0043135416303724>
  10. Lamastra L, Balderacchi M, Trevisan M. Inclusion of emerging organic contaminants in groundwater monitoring plans. *MethodsX* [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;3(May):459–76. Available from: <http://www.sciencedirect.com/sc ience/article/pii/S221501611630 0243>

11. Galindo Reyes J, Medina Jasso A, Villagrana Lizarraga C. Toxic effects of organochlorine pesticides on *Penaeus vannamei*. Shrimps in Sinaloa, Mexico. *Chemosphere* [Internet]. 1996 Aug [cited 2015 Nov 29];33(3):567–75. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/004565359600183X>
12. Vicente Á, Arqués JF, Villalbí JR, Centrich F, Serrahima E, Llebaria X, et al. Plaguicidas en la dieta: aportando piezas al rompecabezas. *Gac Sanit* [Internet]. 2004 Jan [cited 2015 Nov 9];18(6):425–30. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213911104720294>
13. Sun T. Excessive trust in authorities and its influence on experimntal desing. *Nat Rev*. 2004;5.