

La contaminación de las aguas continentales y subterráneas producida por la presencia de pesticidas ocasiona un problema medioambiental grave que afecta la salubridad del ambiente. Los pesticidas se encuentran en el ambiente como consecuencia de diversas actividades agrícolas, pero también es el resultado de los tratamientos fitosanitarios con fines no agrícolas como por ejemplo los que se realizan en los campos de golf, en los márgenes de las carreteras, en las vías de los trenes, en los metros, en los aeropuertos, etc. No se ha de descartar el consumo doméstico de pesticidas que, bajo formulaciones de hasta el 2.5% del producto puro, se utilizan para eliminar diversos insectos.

El uso de pesticidas se ha incrementado enormemente durante las 2 últimas décadas representando un problema en la depuración de las aguas. Los pesticidas más usados en los Estados Unidos en el año de 1993 están indicados en la tabla 1 [1]. Los herbicidas son el principal tipo de pesticidas en términos de volúmenes usados, siendo atrazina, metalacloro y alacloro los más ampliamente empleados en la agricultura.

Pesticida	Toneladas	Pesticida	Toneladas
Atrazina	31.500-33.750	Clorpirifos	4.500-6.750
Metalacloro	27.000-29.250	Clorotalonilo	4.500-6.750
Alacloro	20.250-22.500	Propanilo	3.150-5.400
Bromuro de metilo	13.500-15.750	Dicamba	2.700-4.500
Cianazina	13.500-15.750	Terbufos	22.250-3.600
Dicloropropeno	13.500-15.750	Bentazona	1.800-3.150
2,4-D	11.250-13.500	Mancozeb	1.800-3.150
Metam-sodio	11.250-13.500	Paratión	1.800-3.150
Trifluralin	9.000-11.250	Simazina	1.350-2.700
Glifosato	6.750- 9.000	Butilato	1.350-2.700

**Tabla 1.** Pesticidas más utilizados en Estados Unidos

En Europa es más difícil de estimar la cantidad de pesticidas usados. Una publicación de la Comisión de la Comunidad Europea [2] señala que ha habido un cambio total en el uso de los pesticidas en Dinamarca, Francia, Gran Bretaña, Grecia, Holanda, Italia, España y Suecia. En la tabla 2 se indican los pesticidas que se usan en una proporción superior a las 500 toneladas por año, siendo también los herbicidas los más usados en Europa.

Alacloro	2,4-DP*	MCP
Atrazina	1,2-dicloropropano	Metazacloro
Benazolina	1,3-dicloropropeno	Metam-sodio
Bentazona	Dimetoato	Metabencetiazuron
Carbaril	Diurón *	Bromuro de metilo
Carbetamida	Fenpropimorf	Metalacloro
Cloridazona	Glifosato	Forato
Cloromequat	Ioxinilo	Procloraz
Clorotalonilo	Isoproturón	Propiconazola
Clortoluron	Mancozeb	Propineb
Cloruro de colina	Maneb	Piretrin
2,4-D *	2,4,5-T *	TCA
Triallato	Tridemorf	Trifluralin

**Tabla 2.** Pesticidas utilizados por encima de 500 toneladas en los países europeos.  
\* Pesticidas estudiados en este trabajo

En la mayoría de las aplicaciones ambientales se utilizan formulaciones de pesticidas, es decir, productos que contienen el pesticida en un porcentaje más o menos elevado conjuntamente con aditivos y coadyuvantes que facilitan su acción. Los tratamientos fitosanitarios se hacen por fumigación desde una avioneta o helicóptero en el caso de tratamientos de áreas extensas, o por fumigación manual en los tratamientos locales. Una vez aplicado, la concentración del pesticida en el medio va variando como consecuencia de procesos de dispersión, de volatilización, de degradación química y biológica y de lixiviación. La medida con que se producen todos estos procesos depende en gran manera de las características físico-químicas de cada compuesto y también de las propiedades de las aguas y del suelo, así como de las condiciones ambientales de la zona y del método de aplicación. Los compuestos más volátiles son eliminados más rápidamente del ambiente, especialmente durante el transcurso de la aplicación. Una vez los pesticidas se han posado sobre el medio acuático, este potencial de volatilización estará en función de su solubilidad en el agua, definiéndose la ley de Henry como el cociente entre la presión vapor y la solubilidad del plaguicida en agua, de forma que, una vez disueltos, los plaguicidas menos solubles son los que se eliminan más fácilmente.

En química ambiental se utiliza el coeficiente octanol-agua ( $K_{ow}$ ), definido como la relación de concentraciones de un compuesto entre el octanol y el agua, como un indicador del grado de hidrofobicidad de cada compuesto, que nos advierte de su capacidad para acumularse en los organismos vivos y su potencial de absorción sobre la materia orgánica de los suelos (compuestos húmicos y fúlvicos). Los pesticidas con valores de  $K_{ow}$  elevados (superiores a 4) tienen un potencial de bioacumulación muy alto, y por tanto, se trata de compuestos que si se aplican en cantidades elevadas pueden llegar a transferirse a lo largo de las cadenas tróficas. En cambio, se utiliza el coeficiente de reparto ( $K_D$ ) como indicador del grado de atracción y retención de los pesticidas en la superficie de las partículas del suelo. La retención depende básicamente del tipo de suelo, y afectará al comportamiento del pesticida en el ambiente ya que una molécula absorbida no es solubilizada en el agua y por tanto deja de ser biodisponible. Esto tiene dos consecuencias: por una parte se reducen los efectos biológicos y por otra disminuye la probabilidad de biodegradación, lo que hace que aumente su persistencia. El término “vida media” se utiliza para evaluar la persistencia de un pesticida en el ambiente. La vida media ( $t_{1/2}$ ) se define como el tiempo necesario para reducir a la mitad la concentración de un determinado compuesto. Suponiendo que la degradación es un proceso con una cinética de primer orden, se puede calcular a partir de la ecuación:

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (1)$$

donde  $k$  es la constante de velocidad. La vida media de los pesticidas en el ambiente oscila entre pocas horas y diversos días, pero este valor depende tanto de las propiedades intrínsecas de cada pesticida como de las condiciones de cada zona y del tipo de agua.

La capacidad de lixiviación de los pesticidas viene definida por otro parámetro de interés ambiental denominado índice GUS que se expresa como el cociente entre la vida media y el log  $K_{ow}$ . Los pesticidas más polares y estables tendrán una clara tendencia a permanecer en el agua, y según su concentración y las características del suelo, podrán lixiviar y contaminar los acuíferos.

En líneas generales se puede concluir que la estabilidad y comportamiento de los pesticidas en el ambiente viene condicionado por una serie de factores, muchos de ellos inter-relacionados, de manera que no puede definirse un único parámetro como responsable de su destino final en el medio ambiente.

Actualmente se utilizan centenares de pesticidas diferentes. La realización de un seguimiento de todos estos compuestos y de sus productos de degradación es un trabajo largo y difícil. Sin embargo, la Unión Europea ha elaborado una lista, llamada “lista negra”, que incluye

las 130 sustancias más peligrosas para el medio ambiente [3]. Entre otras familias de compuestos, hay varios herbicidas fenoxiácidos y fenilureicos que han estado seleccionados según su toxicidad, persistencia al ambiente y consumo. Algunos de los pesticidas de esta lista se presentan en la tabla siguiente:

Aldrín	Diuron *	Monolinurón *
Atrazina	Endosulfán	Ometoato
Azinfos-etil	Endrín	Oxidemetón-metil
Azinfos-metil	Fenitrotión	Paratión-etil
Clordane	Fentión	Paratión-metil
Coumafós	Heptaclor	Foxim
DDT	Hexaclorbenzeno	Propanil
Demeton	Linurón *	Pirazón
2,4-DP *	Malatión	Simazina
Diclorvos	MCPA	2,4,5-T *
Dieldrin	Mecoprop	Triazofos
Dimetoat	Metamidofos	Triclorfón
Disulfotón	Mevinfos	Trifluralín

**Tabla 3.** Pesticidas contenidos en la lista de los contaminantes más peligrosos según la UE, directiva 76/464 sobre polución del medio acuático. \*Pesticidas estudiados en este trabajo

Muchos de los plaguicidas que ocupan los primeros puestos de consumo son fácilmente detectables. Sin embargo, hay compuestos ampliamente utilizados que no lo son, y por lo tanto, es difícil establecer si los compuestos no son detectados por su ausencia en el medio o por la falta de técnicas para su determinación.

Por otra parte, en muchos casos los plaguicidas se presentan comercialmente en forma de mezclas que incluyen compuestos que pertenecen a diferentes familias químicas. Estos dos hechos, la posible existencia en una misma muestra de diferentes tipos de plaguicidas y las deficiencias aún existentes en el análisis de algunos de sus residuos en diferentes matrices, exige el desarrollo de nuevos métodos para su análisis.

Actualmente, la Cromatografía de Gases (CG) es el método más ampliamente empleado para el análisis multiresidual de plaguicidas, siendo la técnica en general capaz de conseguir límites de detección más bajos. Muchos métodos oficiales de análisis [4] están basados en esta técnica y con diferentes detectores, como el de nitrógeno y fósforo (NPD), de captura de electrones (ECD), de ionización de llama (FID) o de espectrometría de masas (EM).

Sin embargo, los análisis de compuestos de alto peso molecular, polares o térmicamente lábiles presentan grandes dificultades o son prácticamente imposibles de analizar mediante CG. Este hecho ha provocado que el análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) haya ido ganando terreno en el análisis de este tipo de compuestos. Esta técnica presenta también la ventaja adicional de permitir derivatizaciones pre y post-columna de los analitos con problemas de detección. Los detectores más utilizados en HPLC son los ultravioleta de longitud de onda fija (UV) y variable (detector de diodos de fila, DAD), aunque cada vez es más habitual la detección por Espectrometría de Masas (EM),

Aunque la Cromatografía de Gases y Cromatografía Líquida de Alta Resolución son las dos técnicas fundamentales en el análisis de plaguicidas, en los últimos años se ha desarrollado con fuerza una técnica alternativa denominada Electroforesis Capilar, y en la cual se basa la parte experimental de este trabajo.

La Electroforesis Capilar (EC) es una técnica analítica moderna basada en el transporte iónico, bajo la acción de un campo eléctrico y a través de un disolvente que se encuentra en el interior de una columna capilar. Su elevada capacidad analítica no fue demostrada hasta el año 1981, año en el cual Jorgenson y Lukacs [5] describieron de forma sencilla la teoría de la dispersión en EC y demostraron por primera vez el gran potencial de separación de esta técnica, utilizando voltajes elevados en capilares de 75 $\mu$ m de diámetro interno. A finales de los 80 comenzaron a aparecer los instrumentos comerciales y a partir de este momento tuvo lugar un auténtico *boom* de la EC, que se confirma por el creciente aumento del número de publicaciones, congresos científicos, aparatos comerciales y metodologías de separación relacionadas con esta técnica.

Las primeras y principales aplicaciones de la EC se encuentran en la separación de proteínas, péptidos y secuencias de DNA. Sin embargo, cada vez se ha utilizado más en otros campos como es el medioambiental [6]. En este sentido, se ha demostrado que la EC es una técnica complementaria a las técnicas habituales de análisis para la separación y determinación de especies químicas nocivas para el medio ambiente, aplicándose las diferentes modalidades de EC en el análisis de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos [7].

Las dos modalidades básicas de trabajo de la EC son la Electroforesis Capilar en Zona (CZE) y la Electroforesis Capilar en Fase Micelar (MECC). En CZE la separación es debida a las diferentes movilidades de los analitos bajo la acción de un campo eléctrico, mientras que en MECC también interviene la interacción de los analitos con las micelas en una especie de

proceso cromatográfico. La técnica MECC fue desarrollada por Terabe [8] en 1985 y significó la posibilidad de separar compuestos neutros mediante EC.

Esta modalidad de EC es la que se ha utilizado en la presente tesis, ya que nos da la posibilidad de separar analitos neutros y aniónicos conjuntamente. Los compuestos neutros estudiados en la tesis fueron herbicidas de la familia de las fenilureas y los aniónicos herbicidas fenoxiácidos. Se eligieron estos tipos de herbicidas porque son dos de las familias de herbicidas más utilizadas en la agricultura [9], por su problemática medioambiental (tabla 3), porque las mezclas de estos tipos de compuestos son comunes en formulaciones comerciales [10], y porque actualmente no existe ninguna técnica analítica capaz de determinar conjuntamente y de una forma rápida, simple y efectiva estos dos tipos de compuestos.

La determinación de estos herbicidas se viene realizando principalmente mediante cromatografía de gases [11]. Sin embargo, el problema de la inestabilidad térmica de las fenilureas y la baja presión de vapor de los fenoxiácidos provoca necesariamente el empleo de la derivatización de las muestras. El análisis resulta más simple mediante la cromatografía líquida de alta resolución utilizando columnas de fase reversa, y en el caso de los compuestos fenoxiácidos acidificando también los eluyentes [12]. Pero en ninguno de los dos casos es posible separar los dos tipos de compuestos en un mismo cromatograma.

De estas ideas preliminares surgió el planteamiento de la tesis, que consiste fundamentalmente en el desarrollo y optimización de la modalidad de EC denominada MECC, y en el estudio de su viabilidad para su utilización como técnica instrumental en el análisis de plaguicidas y de sus productos de degradación.

La memoria está dividida en 5 capítulos:

En el **capítulo 1º** se realiza una introducción de la técnica CZE, estudiándose fundamentos teóricos de separación y detección y su instrumentación. Finalmente se realiza un pequeño estudio experimental de separación de varios herbicidas fenoxiácidos. Con ello se obtiene una base teórica y experimental sobre la Electroforesis Capilar necesaria para el **capítulo 2º**, en el cual se profundiza en el análisis mediante MECC.

En este capítulo se estudian las bases teóricas de esta técnica y se aplica en la resolución de una mezcla de herbicidas fenoxiácidos y fenilureicos. El estudio de la técnica MECC se completa en el **capítulo 3º**, donde se optimiza la separación de la mezcla de los herbicidas adicionando a la disolución de trabajo diferentes alcoholes alifáticos. Se discuten las variaciones

experimentales observadas y se desarrolla un modelo teórico que explica estas variaciones. En este modelo entran en juego factores como las características fisico-químicas de las micelas y sus variaciones cuando están en contacto con alcoholes lineales.

En el **capítulo 4º** intentamos superar una de las mayores limitaciones de la Electroforesis Capilar que es la falta de sensibilidad. Para ello se desarrollan sistemas de pre-concentración de la muestra *on-line*, basados en la inyección de grandes volúmenes de muestra y la posterior eliminación de parte la matriz que contiene esta muestra, y sistemas de pre-concentración *off-line* mediante columnas de extracción en fase sólida de carbono grafitizado. Con estos dos procedimientos de concentración se consigue llegar a las sensibilidades necesarias para utilizar el sistema MECC en el análisis de pesticidas de muestras medioambientales.

Toda la información obtenida en los capítulos anteriores es aplicada en el **capítulo 5º** en un estudio de degradación de varios herbicidas fenoxiácidos y fenilureicos. Para ello se tiene en cuenta diversas vías de degradación como son la fotodegradación o la hidrólisis, y diferentes condiciones ambientales. Este trabajo proporciona datos relevantes que ayudan a comprender mejor los mecanismos de degradación de los herbicidas estudiados: cinéticas de reacción y constantes de velocidad de degradación, productos de derivados de la fotodegradación y la hidrólisis, etc.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Pesticides Industry Sales and Usage. 1992–1993 Market Estimates US Environmental Protection Agency.
2. Fielding M., Barceló D., Helweg A., Galassi S., Tortensson L., Van Zoonen P., Wolter R., Angeletti G., *Pesticides in Ground and Drinking Water. Water Pollution Research Report* 27. Commission of the European Communities, Brussels, Belgium, 1992.
3. Directiva 76/464/CEE.
4. Barceló D., *J. Chromatogr.* 643 (1993), 117.
5. Jorgenson J.W., Luckacs K.D., *Anal. Chem.* 53 (1981), 1298.
6. Farran A., Florido A., de Pablo J., *Residus i Medi Ambient*, Universitat Politècnica de Catalunya, 1995, Barcelona.
7. St. Claire R.L., *Anal. Chem.* 68 (1996), 569R.
8. Terabe S., Otsuka K., Ando T., *Anal. Chem.* 57 (1985), 834.
9. *European Directory of Agrochemical Products*, part 2, Herbicides. Royal Society of Chemistry, 1984.
10. Generalitat de Catalunya, Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca. *Guia d'herbicides i fitoreguladors*, 1987, Barcelona.
11. D. Barceló, *Chromatographia* 25 (1988), 928.
12. Hamman R., Kettrup A., *Chemosphere* 16 (1987), 527.