

DETERMINACIÓN DE 1,3 DICLOROPROPENO Y CLOROPICRINA POR CROMATOGRFÍA GASEOSA

Arquímedes Bécquer Portuondo

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

La formulación de 1,3 dicloropropeno y cloropirina puede sustituir al bromuro de metilo en la desinfección de sustratos, por lo que llegaría a tener una rápida y amplia utilización para el manejo integrado de plagas en determinados cultivos agrícolas del país. Para garantizar buena efectividad biológica y uso seguro es necesario realizar un control sistemático de su calidad; entonces es importante disponer de métodos analíticos precisos y exactos para determinar la concentración real. Con este fin se desarrolló en el Laboratorio de Control de la Calidad, del Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal (Inisav) una técnica analítica basada en la separación por cromatografía gaseosa de 1,3 dicloropropeno y cloropirina del resto de los componentes de la formulación, por medio de una columna DB 5 de 25 m de longitud; 0,54 mm de diámetro interior y 1,5 µm de espesor, y detector de ionización por llama (FID). Como patrón interno se empleó el benzoato de bencilo. El método mostró una buena reproducibilidad y exactitud. Actualmente es el método oficial del laboratorio de Control de la Calidad de la División de Química del Inisav ante las firmas comerciales que ofertan este producto al país.

Palabras claves: desinfección, dicloropropeno, cromatografía gaseosa

ABSTRACT

The formulation of 1, 3 dicloropropeno and cloropirina could substitute methyl bromide in the disinfection of substrata and therefore it would have a quick and wide use for integrated pest management in some crops. To guarantee good biological effectiveness is necessary to carry out a systematic control of its quality, reason why it is important to have precise and exact analytic methods to determine the real concentration of 1, 3 dicloropropeno and cloropirina. In that way an analytical method based on the separation by gas chromatography of 1,3 dicloropropeno and cloropirina from the rest of formulation components was developed in the Quality Control Laboratory of INISAV, using a column DB 5 of 25 m of longitude; 0,54 mm of internal diameter and 1,5 µm of thickness and an flame ionization detector (FID). The benzyl benzoate was used as internal standard. The method showed a good reproducibility and accuracy. It is the official method of Quality Control Laboratory for the commercial signatures that offer this product to the country, at this moment.

Key words: disinfection, dicloropropen, gas chromatography

INTRODUCCIÓN

Una de las principales amenazas que se cierne sobre la capa de ozono de la Tierra en la actualidad es el bromuro de metilo, potente plaguicida que desempeña una función fundamental en las economías que dependen de la comercialización de sus cultivos; sin embargo, existen alternativas viables a este producto que se pueden adoptar a un costo mínimo para los productores.

En el último decenio se ha logrado un fuerte consenso internacional sobre la necesidad de proteger la capa de ozono. En septiembre de 1987 se aprobó el Protocolo de Montreal, relativo a las sustancias que agotan esa capa, y que constituye el fundamento jurídico de los esfuerzos mundiales por salvaguardarla mediante

controles sobre la producción, el consumo y el uso de sustancias que agotan el ozono [Citma, 2004].

El consumo de bromuro de metilo se ha destacado en Cuba durante muchos años, y ante los esfuerzos para sustituirlo se han introducido en el mercado otras sustancias tales como el 1,3 dicloropropeno mezclado con la cloropirina [CNSV, 2006].

Después de fumigados los sustratos, el plaguicida pasa a las capas superiores de la atmósfera, donde daña la capa de ozono que bloquea la trayectoria de los rayos ultravioletas (UV) e impide su llegada a la superficie de la Tierra. Si bien es una sustancia que dura menos que los clorofluorcarbonos (CFC) de los aerosoles –fa-

milia mejor conocida de compuestos que atacan el ozono— el bromuro de metilo destruye las moléculas de ozono a un ritmo cincuenta veces superior que los CFC. En una evaluación científica realizada en 1994, la Organización Meteorológica Mundial concluyó que la puesta fuera de circulación del bromuro de metilo es la medida individual más importante que los gobiernos pueden tomar para proteger la capa de ozono [Pesticide Action Network, 1995].

Existen varias alternativas químicas potenciales como dazomet, 1,3-dicloropropano, metan-sodio, cloropirina y formalina, así como también medidas no químicas de conocimiento común, especialmente rotación de cultivos y otras prácticas culturales, tales como control bio-

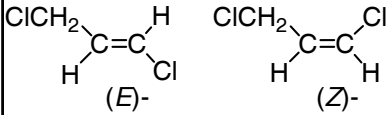
lógico y la solarización, que actualmente se usan en una cantidad limitada en los países en desarrollo para complementar o remplazar al bromuro de metilo [Pesticide Action Network, 1995].

El 1,3 dicloropropeno y la cloropirina son fumigantes del suelo que por su baja presión de vapor se difunden fácilmente en el terreno y ejercen su acción tóxica sobre las plagas [Barberá, 1967] (*Tablas 1 y 2*). La cloropirina actúa además como un insecticida en la fumigación de granos almacenados. Estos fumigantes se utilizan en Cuba en el cultivo del tabaco en la desinfección de sustratos, semilleros, plantaciones y cultivos protegidos para el control de hongos y nematodos [CNSV, 2006].

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de la cloropirina [Tomlin, 2000]

Fórmula empírica	Cl ₃ CNO ₂
Nombre común	Cloropirina
Nombre químico	Tricloronitrometano
Apariencia	Líquido incoloro con acción lacrimógena
Peso molecular	164,4
Punto de fusión	-64°C
Presión de vapor	3,2 kPa (25°C)
Solubilidad a 25°C	En agua: 2,27 g/L (0°C), 1,62 g/L (25°C)
Solubilidad en otros solventes	Soluble en la mayoría de los solventes orgánicos: acetona, benceno, etanol, metanol, bisulfuro de carbono, éter etílico y tetracloruro de carbono
Toxicidad	Clase 2B Oral aguda LD ₅₀ 150 mg/kg Termal aguda LD ₅₀ 1200 mg/kg

Tabla 2. Propiedades físico-químicas del 1,3 dicloropropeno [Tomlin, 2000]

Fórmula empírica	C ₃ H ₄ Cl ₂
Fórmula química	
Nombre común	1,3 dicloropropeno
Nombre químico	1,3-dicloro-1-propeno
Apariencia	Líquido incoloro a ámbar con un olor penetrante dulce
Peso molecular	111
Punto de fusión	<-50°C
Presión de vapor	3,7 kPa; (E)- isomer 2,3 kPa; (Z)- isomer 3,5 kPa (20°C)
Solubilidad a 25°C	En agua: 2 g/L (20°C); (E) - isómero 2,32 g/L; (Z) - isómero 2,18 g/L (25°C).
Solubilidad en otros solventes	Miscible con los hidrocarburos, solventes halogenados, ésteres y cetonas
Toxicidad	Clase 2B Oral aguda LD ₅₀ 150 mg/kg Termal aguda LD ₅₀ 1200 mg/kg

El paralelismo en el desarrollo de los plaguicidas sintéticos y el de la cromatografía gaseosa es notable. Ambas ramas de la ciencia crecieron en la década de los cuarenta, tomaron cuerpo en la década siguiente y alcanzaron desarrollo pleno hacia la década de los sesenta. El progreso de la química de plaguicidas ha llevado a la industria a producir más de quinientos compuestos diferentes de uso comercial, con los que se presenta un problema analítico que solo la cromatografía gaseosa, con su gran versatilidad, le ha hecho frente sin grandes complicaciones [Dierksmeier, 2005].

Dadas estas magníficas ventajas de la cromatografía gaseosa en cuanto a precisión, exactitud y selectividad, se decidió utilizar este método analítico para determinar la concentración real de 1,3 dicloropropeno y cloropirina en sus formulaciones, y de esta forma contar con una herramienta de trabajo que permita verificar la calidad de estos fumigantes durante el proceso del registro en Cuba y su posterior uso en la agricultura.

MATERIALES Y MÉTODOS

El método de determinación se basó en la separación gas cromatográfica del 1,3 dicloropropeno y la cloropirina del resto de los componentes de la formulación, por medio de una columna semicapilar, y su posterior determinación con un detector de ionización por llama. Las condiciones cromatográficas fueron:

- Cromatógrafo de gases equipado con detector con ionización por llamas.
- Columna cromatografica DB-5 de 15 m de longitud, 1,5 μ m de espesor y 0,54 mm de diámetro interno.
- Programación de temperatura de la columna: temperatura inicial, 35°C; tiempo inicial, 1 min; primer incremento de temperatura, 35°C/min; segundo incremento de temperatura, 40°C/min; temperatura

intermedia, 60°C; temperatura final, 230°C; tiempo de temperatura intermedia, 10 min; tiempo de temperatura final, 20 min.

- Temperatura del inyector, 225°C; temperatura del detector, 225°C; flujo de nitrógeno, 5 mL/min; flujo de hidrógeno, 50 mL/min; flujo de aire, 500 mL/min; estándar interno, benzoato de bencilo; detector de ionización por llama, volumen de inyección, 1 μ L.
- Reactivos: patrón puro de 1,3 dicloropropeno, patrón puro de cloropirina, benzoato de bencilo, éter etílico puro, nitrógeno seco certificado, hidrógeno comprimido, aire comprimido.
- Soluciones: patrón interno, benzoato de bencilo 0,8 mg/mL en éter etílico; patrón de cloropirina, 0,1 g del patrón de cloropirina en un matraz aforado de 10 mL y enrasar con la solución del patrón interno; patrón de 1,3 dicloropropeno, 0,1 g de 1,3 dicloropropeno en un matraz de 10 mL y enrasar con la solución del patrón interno.

La muestra se preparó a partir de 0,5 mL del formulado en matraz de 25 mL y se enrasó con la solución del patrón interno. De esta solución se pipetearon 5,0 mL que se trasvasaron a un matraz aforado de 10 mL y se enrasó con la solución del patrón interno.

La determinación se realizó por la inyección en el cromatógrafo de 1 μ L de las soluciones de 1,3 dicloropropeno y cloropirina por separado, y luego 1 μ L de la muestra por duplicado.

Los picos en el cromatograma se midieron con el empleo de un sistema de adquisición de datos mediante un software por computadora. Para evaluar el 1,3 dicloropropeno se sumaron las alturas de los picos correspondientes a los isómeros cis y trans, y en los cálculos se determinaron como un pico único. El contenido de 1,3 dicloropropeno se determinó por la fórmula:

$$P / P \text{ de 1,3 dicloropropeno } (\%) = \frac{Dm \times Wd \times Pd \times 1000}{Dp \times D}$$

$$Dm = \frac{\text{Suma de las alturas de los picos de los isómeros de 1,3 dicloropropeno en el formulado}}{\text{Altura del pico del patrón interno en el formulado}}$$

$$Dp = \frac{\text{Suma de las alturas de los picos de los isómeros de 1,3 dicloropropeno en la solución patrón}}{\text{Altura del pico del patrón interno en la solución del patrón analítico}}$$

donde:

Wd: Peso del patrón de 1,3 dicloropropeno (g)

D: Densidad de la muestra (g/mL)

Pd: Pureza del patrón de 1,3 dicloropropeno

El contenido de cloropicrina se determinó por la fórmula:

$$P/P \text{ de cloropicrina (\%)} = \frac{C_m \times W_c \times P_c \times 1000}{C_p \times D}$$

donde:

$$C_m = \frac{\text{Altura del pico de cloropicrina en la muestra}}{\text{Altura del pico del patrón interno en la muestra}}$$

$$C_p = \frac{\text{Alturas del pico de cloropicrina en el formulado}}{\text{Altura del pico del patrón interno en la solución del patrón analítico}}$$

W_c : Peso del patrón de cloropicrina (g)

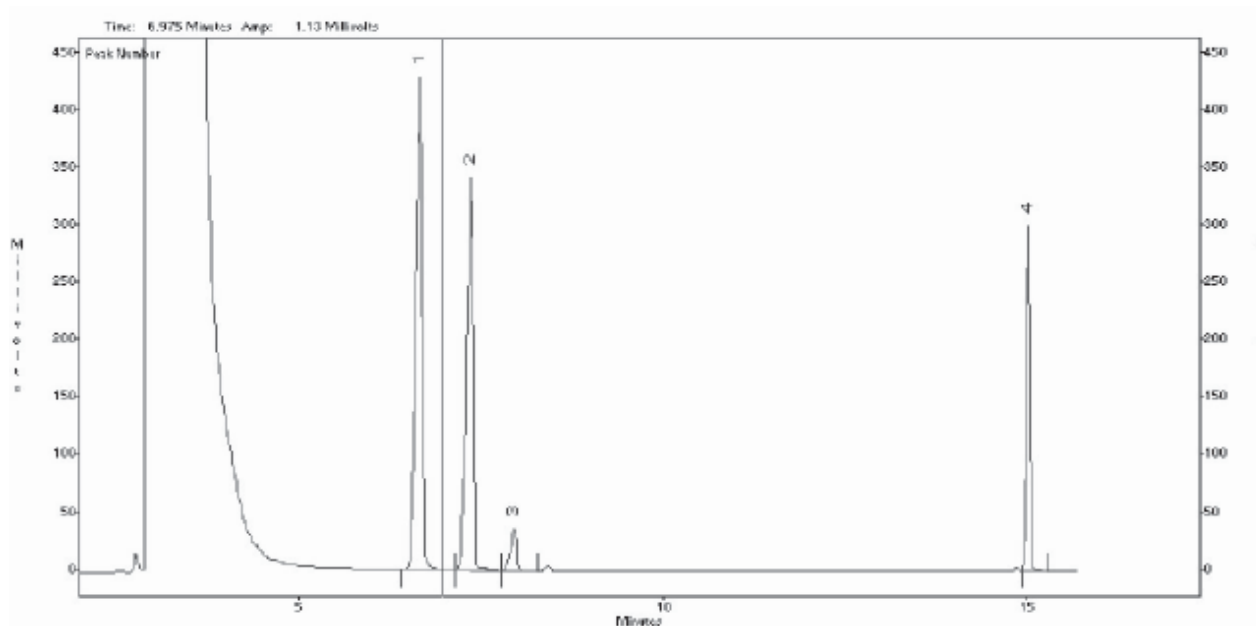
D : Densidad de la muestra (g/mL)

P_c : Pureza del patrón de cloropicrina

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La programación de la temperatura del horno del cromatógrafo permitió una correcta separación del patrón interno (benzoato de bencilo) del resto de los com-

ponentes de la formulación, y la posibilidad de analizar dos compuestos (1,3 dicloropropeno y cloropicrina) en un solo cromatograma (*Fig. 1*).



Pico 1: Cis dicloropropeno, Pico 2: Trans 1,3 dicloropropeno, Pico 3: Cloropicrina, Pico 4: Patrón interno (benzoato de bencilo)

Figura 1. Cromatograma obtenido al inyectar las soluciones de patrón y de la muestra.

Para comprobar la linealidad del método propuesto se preparó una solución madre de 1,3 dicloropropeno a una concentración de 1,214 g en 10 mL disuelto en la solución del patrón interno (benzoato de bencilo). A partir de esta solución, posteriormente se prepararon tres patrones del compuesto antes mencionado, para lo que se pipetearon 0,8; 1,0 y 1,2 mL en cada volumétrico de 10 mL y se enrasó con la solución del patrón interno.

De la misma forma se prepararon los tres patrones de cloropicrina, pero con la diferencia que la solución madre tuvo un peso de 1,112 g en 10 mL.

Cada solución patrón de ambos productos se inyectó al cromatógrafo por duplicado, y el cromatograma obtenido se evaluó mediante un software de adquisición de datos.

La cloropicrina y el 1,3 dicloropropeno presentaron un coeficiente de correlación de 0,99994 y 0,999901, respectivamente. En ambos casos fue mayor de 0,99, que es el valor mínimo requerido para que la linealidad sea aceptable [Camacho *et al.*, 1993], por lo que se puede afirmar que la técnica analítica para la determinación de estos compuestos es lineal en el rango de concentración estudiado (*Figs. 2 y 3*).

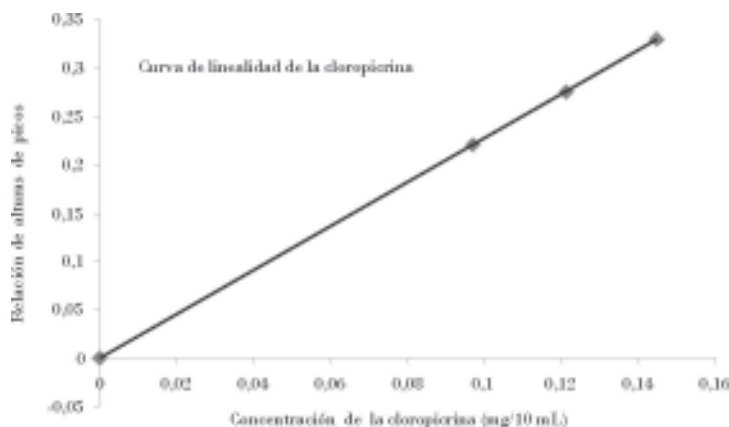


Figura 2. Curva de calibración en la determinación de la cloropicrina.

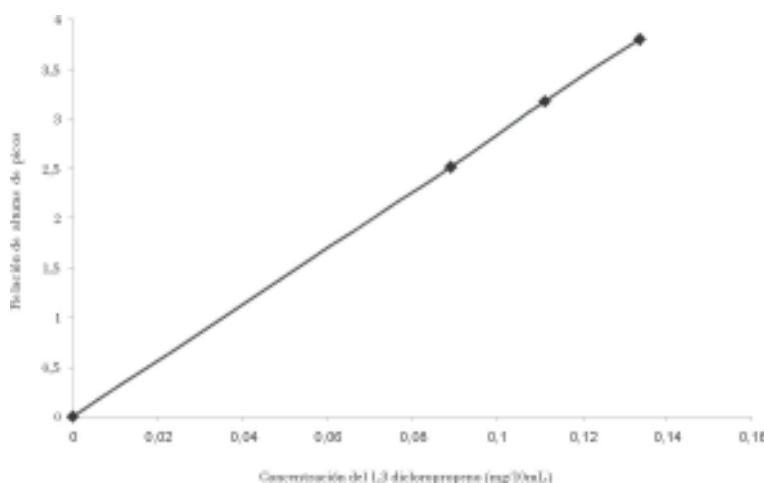


Figura 3. Curva de calibración en la determinación del dicloropropeno.

Tabla 3. Relación entre la concentración de cloropirina y la altura de los picos

Concentración de la cloropirina (mg/10 mL)	Relación de las alturas de los picos cloropirina/patrón interno
97,1	0,2204
121,4	0,2745
145, 0	0,3289

Tabla 4. Relación entre la concentración del 1,3 dicloropropeno y la altura de los picos

Concentración del 1,3 dicloropropeno (mg/10mL)	Relación de las alturas de los picos cloropirina/patrón interno
88,96	2,521011
111,2	3,179991
133,4	3,806530

Se realizaron cinco determinaciones por cada producto, y los valores obtenidos se procesaron estadísticamente y se determinó la desviación típica (*SD*), la desviación estándar relativa (*RSD*) o coeficiente de variación (Tablas 5 y 6).

Para que el método se pueda considerar preciso tiene que cumplirse que los valores de desviación estándar relativa sean inferiores a los calculados por la ecuación de Horwitz:

$$RSD < 2^{(1-0,5 \log C)} \times 0,67$$

donde:

C: Concentración del formulado como fracción decimal.

La ecuación de Horwitz es el resultado de estudios de intercomparación realizados por el Cipac (Collaborative International Pesticides Analytical Council) en laboratorios internacionales acreditados, a partir de los cuales se llegó a la conclusión que la precisión para técnicas analíticas donde se determinen ingredientes activos de formulados de plaguicidas, con concentraciones entre el 100 y 0,25%, será aceptable si el coeficiente de variación obtenido es inferior al valor determinado por la mencionada ecuación [Cipac,1995]. La desviación estándar relativa se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100$$

donde:

RSD: Desviación estándar relativa

SD: Desviación típica

X: Promedio

Tabla 5. Comprobación de la repetibilidad de la cloropirina

Muestra	Concentración de la cloropirina (% p/p)
1	39,62
2	40,11
3	39,55
4	41,20
5	39,15
Media	39,92
SD	0,789639
RSD	1,97(RSD = 2,3)

Tabla 6. Comprobación de la repetibilidad del 1,3 dicloropropeno

Muestra	Concentración del 1,3 dicloropropeno (% p/p)
1	59,87
2	60,25
3	59,75
4	60,55
5	59,36
Media	59,95
SD	0,4594
RSD	0,766(RSD = 2,16)

En ambas determinaciones se obtuvieron valores de *RSD* menores que los calculados por la ecuación de Horwitz.

Para la comprobación de la exactitud se analizó, por el método propuesto, una muestra certificada enviada por el proveedor, de una concentración de 1,3 dicloropropeno y cloropirina conocida.

Los valores de concentración de ambos productos de la muestra analizada se corresponden con los resultados analíticos proporcionados por el proveedor, según se puede apreciar en la *Tabla 7*.

Tabla 7. Concentración del 1,3 dicloropropeno y la cloropirina en la formulación

<i>Plaguicida</i>	<i>Concentración real (% p/p)</i>	<i>Concentración obtenida (% p/p)</i>
1,3 dicloropropeno	60,01	59,95
Cloropirina	40,11	39,92

CONCLUSIONES

- El método desarrollado por cromatografía gas-líquido para determinar el contenido de 1,3 dicloropropeno y cloropirina en sus formulaciones resultó ser preciso y exacto.
- El método es adecuado para utilizarlo en el control de la calidad de las formulaciones de 1,3 dicloropropeno y cloropirina.

REFERENCIAS

- Barberá, C.: *Pesticidas agrícolas*, 2.ª ed., Ed. Omega, Barcelona, 1974.
- Camacho, M. A.; A. I. Torres; M. E. Gil; M. M. Obregón; V. Ruz: «Validation Protocol of Analytical Methods for Finished Pharmaceutical Products», *ATP Pharma Practique*, 3 (3):197-202, 1993.
- Cipac: *Guidelines on Method Validation To Be Performed in Support of Analytical Methods for Agrochemical Formulations*, Collaborative International Pesticides Analytical Council, Document 3807, 1995.
- Citma: «Resolución 108/2004», Dirección Jurídica del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, La Habana, Cuba. 2004.
- CNSV: *Lista oficial de plaguicidas autorizados*, Registro Central de Plaguicidas, Centro Nacional de Sanidad Vegetal, Minag, La Habana, 2006.
- Dierksmeier, G.: *Métodos cromatográficos*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 2005.
- Pesticide Action Network: «Alternativas al bromuro de metilo», extracto de la evaluación de 1995 del Comité de Opciones Técnicas al Bromuro de Metilo de NN.UU. para Norteamérica, San Francisco, California, EE. UU., agosto de 1995.
- Tomlin, C.: *The Pesticide Manual. A World Compendium*, British Crop Protection Council, Inglaterra, 2000.