

# Extracción ultrasónica de diazinón, Clorpyrifos y paratión-etil en muestras de suelo

## Ultrasonic extraction of diazinon, chlorpyrifos, and parathion-ethyl in soil samples

J. Raga<sup>1</sup>, G. Ettiene<sup>1</sup>, D. Medina<sup>1</sup>, E. Pérez-Pérez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. Maracaibo, Zu 4005. Venezuela. <sup>2</sup>Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola-Corpozulia. Km 27 de la vía hacia San Rafael del Mojan, Mara, Zu 4044.

### Resumen

La necesidad de contar con metodologías sensibles y selectivas para el control de los niveles de concentración de los plaguicidas organofosforados (POFs) en muestras medioambientales, llevó a optimizar un método de extracción ultrasónica para diazinón, Clorpyrifos y paratión-etil en muestras de suelo, empleando 15 mL de una solución de acetato de etilo: acetona (80:20%, v/v) como solvente extractante y para la limpieza se empleó 0,5 g de sulfato de sodio anhidro. Los POFs se cuantificaron por cromatografía de gases acoplada a un detector de nitrógeno-fósforo (GC-NPD). Las recuperaciones fueron diazinón 82,08%; Clorpyrifos 102,77% y paratión-etil 91,31% para dos niveles de adición (1-5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) con desviaciones estándares relativas entre 2,59-4,38%. Los límites de detección fueron diazinón 2,0235  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; Clorpyrifos 2,0145  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  y paratión-etil 2,0024  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . El método proporcionó aceptable recuperación, repetibilidad y reproducibilidad, además de ser simple y rápido.

**Palabras clave:** extracción ultrasónica, plaguicidas organofosforados, cromatografía de gases.

### Abstract

The need for sensitive and selective methods for controlling the concentration level of organophosphorus pesticides in environmental samples has led to optimize an ultrasonic extraction method for diazinon, chlorpyrifos and parathion-ethyl in soil samples, using 15 mL of a solution of ethyl acetate: acetone (80:20%, v/v) as extracting solvent and clean-up used 0.5 g anhydrous sodium sulfate. The organophosphorus pesticides were quantified by gas

chromatography coupled to a nitrogen-phosphorus detector (GC-NPD). The recoveries were 82.08% diazinon, chlorpyrifos 102.77% and 91.31% ethyl parathion for two addition level ( $1\text{-}5\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) with relative standard deviations between 2.59 to 4.38%. The detection limits were diazinon  $2.0235\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; chlorpyrifos  $2.0145\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  and ethyl parathion  $2.0024\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . The method provided acceptable recovery, repeatability and reproducibility, as well as being simple and rapid.

**Key words:** ultrasonic extraction, organophosphorus pesticides, gas chromatography.

## Introducción

Los plaguicidas han proporcionado grandes beneficios a la producción agrícola al incrementar la productividad debido a que minimizan el efecto de diversos vectores que destruyen los cultivos y también afectan la calidad de los alimentos. Sin embargo, estos sistemas de producción están caracterizados por el uso indiscriminado de plaguicidas tóxicos, lo que ha contribuido a la contaminación de los recursos naturales como los suelos, aire y los sistemas hídricos, repercutiendo en el deterioro del ecosistema y la calidad de vida de las personas (Gutiérrez *et al.*, 2007; Diez *et al.*, 2006). Los plaguicidas organofosforados POFs son empleados en los cultivos como insecticidas o acaricidas debido a su alta selectividad y baja persistencia; sin embargo, poseen la desventaja de ser altamente tóxicos (Alvin *et al.*, 2004).

Los métodos de extracción sólido-líquido con solventes orgánicos constituyen los procedimientos más empleados para la extracción de residuos de plaguicidas. Con el fin de minimizar el volumen de solventes y aumentar la eficiencia de extracción en matrices complejas, se ha incorporado la energía ultrasónica, la cual,

## Introduction

Pesticides have provided huge benefits to the agriculture production incrementing the productivity since minimize the effect of different vectors that destroy the crops and also affect the quality of food. However, these production systems are characterized by the indiscriminate use of toxic pesticides, which have contributed to the contamination of natural resources such as soil, air and water system, affecting the deterioration of the ecosystem and the life quality of people (Gutiérrez *et al.*, 2007; Diez *et al.*, 2006). Organophosphorus pesticides POFs are employed in crops as pesticides or acaricides due to the high selectivity and low persistence, however, they have an important disadvantage by being highly toxic (Chai *et al.*, 2004).

The extraction methods solid-liquid with organic solvents constitute the most employed procedures for extracting the residual of pesticides. With the aim of minimizing the volume of solvents and accumulating the extraction efficiency in complex matrixes, has been incorporated ultrasonic energy, which accelerates the osmotic processes and the diffusion of analytes from the solid

acelera los procesos osmóticos y de difusión de los analitos desde las matrices sólidas a las fases líquidas de extracción (Tadeo *et al.*, 2010). El uso intensivo, la toxicidad y la capacidad de acumulación de los POFs en los sistemas naturales, ha llevado a la necesidad de tener control de los niveles de concentración de estos compuestos en el ambiente, a través de metodologías muy sensibles y selectivas (Pico *et al.*, 2007). Por tal razón, fue optimizado un método de extracción ultrasónico para diazinón, Clorpyrifos y paratión-etil en muestras de suelo.

## Materiales y métodos

### Localización del ensayo

El ensayo se llevó a cabo en el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola del Zulia (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (10°49'46,6" LN; 71°46'29,2" LO), ubicado en la altiplanicie de Maracaibo, específicamente, en el municipio Mara, estado Zulia. Esta zona presenta condiciones de bosque muy seco tropical, con precipitación anual de 600 a 800 mm distribuidos en dos picos bien definidos de Abril a Mayo y de Octubre a Noviembre, siendo éste último el más pronunciado. Presenta una evaporación de 2000 a 2200 mm, una temperatura media anual de 28°C y una humedad relativa de 75%. El tipo de suelo utilizado en el ensayo corresponde a un típico haplargo, con textura franco arenosa; 78,00% arena; 8,00% arcilla; 14,00% de limo y 0,90% de materia orgánica; 0,12ds.m<sup>-1</sup> de conductividad eléctrica y 6,9 de pH.

matrixes to the liquid phases of extractions (Tadeo *et al.*, 2010). The intensive use, toxicity and accumulating capacity of POFs in the natural systems, have carried the necessity of taking the control of the concentrations of these compounds in the environment, through very sensitive and selective methods (Pico *et al.*, 2007). For this reason, an ultrasonic extraction method was optimized for diazinon, chlorpyrifos and parathion-ethyl in samples of soil.

## Materials and methods

### Localization of the essay

The essay was carried out at the Socialist Center for Fruits and Beekeeping Investigation and Development (CESID-Fruticola and Apicola) of CORPOZULIA (10°49'46,6" LN; 71°46'29,2" LO), located in Maracaibo, specifically in Mara parish, Zulia state. This area has conditions of a very dry tropical forest, with annual precipitations from 600 to 800 mm distributed in to peaks well defined, from April to May and from October to November, being the latter, the most pronounced. It has evaporation from 2000 to 2200 mm, an annual mean temperature of 28°C and relative humidity of 75%. The type of soil used in the essay corresponds to a typical haplagird, with clay sandy texture; 78% sand, 8% clay, 14% lime and 0.90 % of organic matter, 0.12ds.m<sup>-1</sup> of electrical conductivity and 6.9 of pH.

### Standard and reactives

The evaluated pesticides were: Diazinon (97.50% of pureness), chlorpyrifos (98.50% of pureness) and

### Estándares y reactivos

Los plaguicidas evaluados fueron: Diazinón (97,50% de pureza), Clorpyrifos (98,50% de pureza) y paration-etil (99,00% de pureza) los cuales se obtuvieron del Laboratorio Dr. Ehrenstorfer GMBH (Ausburg, Alemania). Se empleó como estándar interno trifenilfosfato (TPP) con 99,00% de pureza (Reidel de Haën).

Los solventes empleados en la optimización del trabajo fueron: acetona (99,80% de pureza Reidel-de Haën), acetato de etilo, *n*-hexano (98,05% E.M. Science), diclorometano (99,90% Burdick & Jackson) y acetonitrilo (99,90% Fischer Scientific Company). Todos los solventes empleados fueron grado HPLC.

### Tratamiento de la muestra

Las muestras de suelo fueron tomadas del campo y llevadas al laboratorio, seguidamente se secaron al aire libre durante 10 horas, para eliminar el contenido de humedad. Para llevar a cabo este trabajo se realizó un muestreo puntual para optimizar la metodología.

### Selección del solvente de extracción

Los solventes comúnmente empleados para el análisis multiresidual de plaguicidas son acetonitrilo, acetona, acetato de etilo, hexano, diclorometano y metanol (Anastassiades *et al.*, 2003). Sin embargo, la acetona es usualmente preferida para plaguicidas polares y no polares, además se caracteriza por ser un solvente poco tóxico, fácil de evaporar (bajo punto de ebullición), menos costoso y genera extractos más limpios que los generados por el acetonitrilo. Por otra parte, el

parathion-ethyl (99.99% of pureness) which were obtained at the Laboratory Dr. Ehrenstorfer GMBH (Ausburg, Germany). As internal analysis was employed triphenylphosphate (TPP) with 99.00% of pureness (Reidel of Haën).

The solvents employed in the optimization of the study were: acetone (98.50% of pureness Reidel of Haën, ethyl acetate, *n*-hexane (98.05% E.M. Science Company). All solvents employed were HPLC grade.

### Treatment of the sample

Samples of soil were taken from the field and carried to the laboratory, then, were let dry for 10 hours to eliminate the humidity content. To do this investigation, a punctual sampling was done to optimize the methodology.

### Selection of extraction solvents

The commonly employed solvents for the multi-residual analysis of pesticides are: acetonitrile, acetone, ethyl acetate, hexane, dichloromethane, methanol (Amastassiades *et al.*, 2003). However, acetone is usually preferred for polar and non polar pesticides, also, are characterized by being a less toxic solvent, easy to evaporate (under boiling point), less expensive and generate cleaner extracts than those generated by acetonitrile. On the other hand, acetronitirile has a prejudicial effect in the detectors of nitrogen-phosphorus and the electrolytic conductivity; however, some GC may purify the front of the solvent system (Kristenson *et al.*, 2006).

Binary mixes and pure solvents were evaluates (acetone, ethyl

acetonitrilo presenta un efecto perjudicial en detectores de nitrógeno-fósforo y de conductividad electrolítica; sin embargo, algunos GC pueden purificar el frente de solvente del sistema (Kristenson *et al.*, 2006).

Se evaluaron mezclas binarias y solventes puros (acetona, acetato de etilo, diclorometano, hexano, acetonitrilo), estos se seleccionaron de acuerdo a su polaridad (cuadro 1) y compatibilidad con el sistema de detección. Los solventes clorados, alcoholes y agua presentaron incompatibilidad con el sistema de detección, sin embargo, se evaluó una estrategia al emplear diclorometano, que consistió en evaporar los extractos a sequedad y luego reconstituir con un solvente adecuado, lo cual presentó el inconveniente de incorporar mayor tiempo al análisis.

El estudio se inició evaluando tres sistemas de solventes con dos etapas de extracción ultrasónica conse-

acetate, dicloromethane, hexane and acetonitrile), these were selected according to their polarity (table 1) and compatibility with the detection system. The chloride solvents, alcohols and water presented incompatibility with the detection system, however, a strategy was evaluated to employ dicloromethane, which consisted on evaporating the extracts until dried and then reconstitute with an adequate solvent, which presented the inconvenient of spending more time to the analysis.

The study initiated evaluating three solvent systems with two phases of consecutive ultrasonic extraction on the same sample, for which two total extraction volumes of 15 mL, and a time of ultrasonic extraction of 10 min for each extraction. After this, was evaluated the effect on the only process of ultrasonic extraction of 10 min, with a volume of 15 mL of solvent.

### Cuadro 1. Propiedades físico-químicas de los solventes evaluados (Thurman y Mills, 1998).

Table 1. Physical-chemical properties of the evaluated solvents (Thurman and Mills, 1998).

Solvente	$E^{\circ}$	$P'$	Constante dieléctrica	Punto de ebullición ( $^{\circ}\text{C}$ )
Disolventes no polares				
<i>n</i> -Hexano	0,00	0,06	2,00	69,0
Acetato de etilo	0,45	4,30	6,00	77,0
Disolventes polares apróticos				
Diclorometano	0,32	3,40	9,10	40,0
Acetona	0,43	5,40	21,00	56,0
Acetonitrilo	0,50	6,20	37,00	81,0

$E^{\circ}$  fuerza eluotrópica;  $P'$  polaridad.

cutiva sobre la misma muestra, para la cual se emplearon dos volúmenes de extracción (10 y 5 mL), los cuales fueron combinados para un volumen de extracción total de 15 mL, y un tiempo de extracción ultrasónica de 10 min para cada extracción. Seguidamente, se evaluó el efecto de un único proceso de extracción ultrasónico de 10min, con un volumen de 15 mL de solvente.

### **Metodología de extracción**

Una porción de muestra (2 g) se colocó en un matraz de 25 mL y se adicionó 15 mL de la mezcla de solvente, se realizó la extracción ultrasónica (35 KHz) por 10 min, se centrifugó por 10 min (3000 rpm) y se procedió a filtrar en una columna conteniendo 0,5 g de sulfato de sodio anhidro, aplicando presión reducida. Los extractos obtenidos se recolectaron en tubos cónicos graduados de 15 mL y se concentraron en un evaporador con corriente de flujo de nitrógeno hasta un volumen de 2 mL. Se analizaron alícuotas (1  $\mu$ L) de los extractos directamente por cromatografía de gases con un método previamente desarrollado por Ettiene *et al.*, 2006 (cuadro 2).

### **Estudio de recuperación**

Para determinar la eficiencia de la extracción, una porción de 2 g de muestra se colocó en un matraz de 25 mL y se fortificó con 200  $\mu$ L de la solución de concentración 50  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> (nivel alto) o 10  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> (nivel bajo), almacenándola por un periodo de 30 min, para lograr las interacciones entre los plaguicidas y la matriz. Las muestras se fortificaron a dos niveles de concentración (1 y 5  $\mu$ g.g<sup>-1</sup>). Los analitos evaluados en las muestras

### **Methodology of extraction**

A portion of the simple (2 g) was put on a flask of 25 mL and 15 mL of the solvent mix was added, the ultrasonic extraction (35 KHz) per 10 min was done, was centrifuged for 10 mi (3000 rpm) and proceeded to filter it in a column containing 0.5 g of anhydride sodium sulphate, applying reduced pressure. The extracts obtained were collected in graduated conic tubes of 15 mL and were concentrated in an evaporator with a nitrogen flow until reaching 2 mL of volume. Aliquots of (1  $\mu$ L) were analyzed of the extracts, directly using chromatography of gases with a method previously developed by Ettienne *et al.* (2006, table 2)

### **Recuperation study**

To determine the extraction efficiency, a portion of 2 g of simple was put in a flask of 25 mL and fortified with 200  $\mu$ L of the concentrated solution at 50  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> (high level) or 10  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> (low level), storing it for 30 min to obtain the interactions among pesticides and the flask. Samples were fortified at two concentration levels (1 and 5  $\mu$ g.g<sup>-1</sup>). The evaluated analytes in the fortified and non fortified samples were extracted according to the extraction method described before. Non fortified samples were employed as targets. The analytical accuracy was evaluated through the standard relative deviations (DER) for a total of three replications.

### **Chromatographic analysis**

The determination was carried out in a gas chromatograph, Perkin Elmer Autosystem, equipped with a thermal-ionic detector of nitrogen-

**Cuadro 2. Condiciones instrumentales del cromatógrafo de gases.****Table 2. Instrumental conditions of the gas chromatograph.**

Gas de arrastre	Helio 10 mL.min <sup>-1</sup> .
Gases del detector	H <sub>2</sub> 1,70 mL.min <sup>-1</sup> ; aire sintético 100mL.min <sup>-1</sup> .
Temperatura del inyector	250°C.
Temperatura del detector	280°C.
Umbral del detector	1 mV.
Programa del horno	T <sub>1</sub> 60°C por 0,80 min. Rampa 1:40°C min <sup>-1</sup> -160°C. Rampa 2:3,5°C min <sup>-1</sup> -230°C. Rampa 3:8°C min <sup>-1</sup> -280°C por 1min.
Inyección	Automática, modo split-less con apertura de válvula a los 0,80 min.

fortificadas y no fortificadas se extrajeron de acuerdo al método de extracción descrito anteriormente. Las muestras no fortificadas se emplearon como blancos. La precisión analítica se evaluó a través de las desviaciones estándares relativas (DER) para un total de tres repeticiones.

**Análisis cromatográfico**

La determinación se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases, Perkin Elmer Autosystem, equipado con un detector termoiónico de nitrógeno-fósforo, un inyector automático Perkin Elmer, operado en el modo splitless y una columna capilar DB-17 (30,00 m x 0,53 mm D.I.). La cuantificación de los analitos se realizó por estándar interno, empleando trifenilfosfato (TPP).

**Resultados y discusión**

Al optimizar un método de extracción, es deseable estudiar la influencia de factores específicos en el proceso analítico. En este estudio se evaluó el efecto de los solventes puros mostrados en el cuadro 1 y algunas

phosphorus, an automatic injector Perkin Elmer, operated in the splitless mode and a capillary column DB-17 (30.00 m x 0.53 mm D.I.). The analytes quantification was done by internal standard, employing triphenylphosphate (TPP)

**Results and discussion**

When optimizing the extraction method, it is desirable to study the influence of specific factors in the analytical process. In this study was evaluated the effect of pure solvents showed on table 1, and some binary samples of these. For this, the study initiated evaluating two phases of consecutive ultrasonic extraction on the same sample, for which were employed two extraction volumes (10 and 5 mL), which were combined for a total extraction volume of 15 mL, and an ultrasonic extraction time of 10 min for each extraction. This procedure was evaluated with the aim of obtaining the maximum recoveries of analytes, results are



mezclas binarias de los mismos. Para ello, se inició el estudio evaluando dos etapas de extracción ultrasónica consecutiva sobre la misma muestra, para la cual se emplearon dos volúmenes de extracción (10 y 5 mL), los cuales fueron combinados para un volumen de extracción total de 15 mL, y un tiempo de extracción ultrasónica de 10 min para cada extracción. Este procedimiento se evaluó con la finalidad de lograr la máxima recuperación de los analitos, los resultados se muestran en el cuadro 3. Se observó que la acetona presentó un poder de solvatación menor al de acetato de etilo, lo cual podría deberse, a que los POFs evaluados se caracterizaron por ser de baja polaridad. Por tanto, intentando maximizar la recuperación se evaluó la mezcla binaria acetato de etilo: acetona (80:20%v/v) evidenciándose un aumento en la recuperación del analito más polar (diazinón) y una pequeña disminución para Clorpyrifos y paratión-etil.

Seguidamente, apuntando a la simplificación y mejora de la eficiencia del proceso de extracción, se evaluó el efecto de un sólo proceso de extracción ultrasónico de 10 min, con un volumen de 15mL de solvente, los resultados se muestran en el cuadro 4.

Comparando los resultados mostrados en los cuadros 3 y 4 para diclorometano, acetato de etilo, acetona y la mezcla binaria acetato de etilo: acetona (80:20%, v/v) se observó un aumento en la recuperación de los analitos al evaluar un sólo proceso de extracción (cuadro 4), debido al menor manejo de los extractos (péridas) al compararlo con el procedimiento donde se emplearon dos eta-

shown on table 3. It was observed that acetone presented a solvation power lower than ethyl acetate, which might be because the POFs evaluated were characterized by having low polarity. Therefore, trying to maximize the recovery, the binary mix of ethyl acetate was evaluated: acetone (80:20%v/v) evidencing a recovery increment of the more polar analite (diazinon) and a small reduction for chlorpyrifos and parathion-ethyl.

Later, trying to simplify and improve the efficiency of the extraction process, the effect of only one ultrasonic extraction process was evaluated for 10 min, with a volume of 15 mL of solvent, the results are shown on table 4.

Comparing the results showed on table 3 and 4 for dichloromethane, ethyl acetate, acetone and the binary mix of ethyl acetate: acetone (80:20%, v/v) was observed an increment in the recovery of analites when evaluating just one extraction process (table 4), due to the lower handle of extracts (loses) comparing it to the treatment where were employed two extraction phases. Therefore, in function of being practical, employ lower analysis time, and recovery of analites, this procedure was selected as the optimum for extracting POFs evaluated on this essay.

Among the pure solvents, the less extracting was dichloromethane, while ethyl acetate presented the best recoveries. The use of ethyl acetate as the only extraction solvent did not allow the enough elution strength to fulfill the complete desorption of analites in the matrix,



**Cuadro 3. Porcentajes de recuperación de los POFs al evaluar dos procesos de extracción ultrasónica (10 y 5 mL de solvente).****Table 3. Recovery percentages of POFs when evaluating two ultrasonic extraction processes (10 and 5 mL of the solvent).**

Solvente	Diazinón	Clorpirifos	Paration-etil
E	75,2006±0,79	75,5525±2,63	75,1938±1,56
A	72,8825±8,22	70,2517±6,17	69,8109±3,96
EA (80:20% v/v)	77,7975±12,48	73,3939±8,54	73,1921±5,68

E: Acetato de etilo; A: Acetona; EA: Acetato de etilo: Acetona. Los resultados fueron expresados en promedio ±DER;  $n=3$ ; Nivel de adición: 5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

pas de extracción. Por tanto, en función de la practicidad, menor tiempo de análisis y recuperación de los analitos se seleccionó este procedimiento como el óptimo para la extracción de los POFs evaluados en este ensayo.

Entre los solventes puros el menos extractante fue el diclorometano,

hence, the addition of a modifier agent such as acetone or acetonitrile had a great influence in the recovery of pesticides. The mixes of ethyl acetate:acetone exhibited a superior recovery of 77% being practically constant for mixes 90:10 and 50:50% v/v, while the mix 80:20% v/v showed recoveries higher than 87% for all the

**Cuadro 4. Porcentajes de recuperación de los POFs al evaluar un proceso de extracción ultrasónica (15 mL de solvente).****Table 4. Recovery percentage of POFs when evaluating an ultrasonic extraction process (15 mL of solvent).**

Solvente	Diazinón	Clorpirifos	Paration-etil
D	67,9803±0,13	73,5654±1,40	69,7755±1,67
E	80,8913±5,97	82,3152±4,97	76,2779±3,02
A	83,7862±2,41	79,5384±2,47	71,5647±2,02
EA (90:10% v/v)	77,3471±6,45	77,8710±5,27	72,2041±5,98
EA (80:20% v/v)	88,8237±2,01	89,3109±2,89	87,5340±1,64
EA (50:50% v/v)	77,3325±1,20	77,5438±2,32	73,6631±3,34
HA (80:20% v/v)	75,8078±0,51	77,0609±1,56	65,0991±0,07
HA (60:40% v/v)	67,2808±1,05	78,7168±1,20	76,7404±1,66
EN (80:20% v/v)	76,2407±5,63	83,3780±5,90	70,6112±8,41

D: diclorometano; E: Acetato de etilo; A: Acetona; EA: Acetato de etilo: Acetona; HÁ: Hexano:Acetona; EN: acetato de etilo: Acetonitrilo. Los resultados fueron expresados en promedio± DER;  $n=3$ ; Nivel de adición: 5  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

mientras que el acetato de etilo presentó las mejores recuperaciones. El empleo de acetato de etilo como único solvente de extracción no presentó la fuerza de elución suficiente para lograr la completa desorción de los analitos de la matriz, por ende, la adición de un agente modificador como fue la acetona o acetonitrilo tuvo una gran influencia en la recuperación de los plaguicidas. Las mezclas acetato de etilo:acetona exhibieron una recuperación superior al 77% siendo prácticamente constante para las mezclas 90:10 y 50:50% v/v, mientras que la mezcla 80:20% v/v produjo recuperaciones mayores al 87% para todos los analitos. Por otro lado, las mezclas compuestas por hexano: acetona presentaron una recuperación inferior al 78%.

En función de los resultados presentados en el cuadro 4, la mezcla binaria formada por acetato de etilo: acetona (80:20%, v/v) para la metodología optimizada, resultó ser eficiente en función de los porcentajes de recuperación y limpieza de los extractos. Por tanto, se evaluó el nivel bajo de adición ( $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) obteniendo una recuperación de 82,08% para diazinón, 102,77% para Clorpyrifos y 91,31% para paratión-etil.

Para la determinación de los parámetros analíticos se realizaron curvas de calibración para el intervalo de concentraciones de 0,125-1,00  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de los plaguicidas organofosforados evaluados, el modelo obtenido demostró satisfactoria linealidad para los plaguicidas con  $r > 0,9988$  (análisis de regresión lineal,  $n = 3$ ). Los límites de detección del método para los plaguicidas evalua-

analites. On the other hand, the mixes compound by hexane:acetone presented an inferior recovery to 78%.

In function of the results presented in table 4, the binary mix formed by ethyl acetate:acetone (80:20%, v/v) for the optimized methodology, resulted to be efficient in function of recovery percentages and cleaning of extracts. Therefore, the low addition level was evaluated ( $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) obtaining a recovery of 82.08% for diazinon, 102.77% for chlorpyrifos and 91.31% for parathion-ethyl.

For determining the analytical parameters, calibration curves were done for the concentration intervals of 0.125-1.00  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  of the evaluated organophosphorus pesticides, the model obtained showed a satisfactory equality for pesticides with  $r > 0.9988$  (lineal regression analysis,  $n = 3$ ). The detection limits of the method for the evaluated pesticides resulted to be diazinon  $2.0235 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , chlorpyrifos  $2.0145 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  and parathion-ethyl  $2.0024 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

The accuracy of the method was determined by repetition and reproduction studies, expressed by the standard relative deviation (DER). Repetition (intra-assay accuracy) was calculated through the standard relative deviation of recovery percentages of the soil samples fortified the same day. The reproduction (accuracy the same day) was determined using the soil samples fortified for three alternant days. The method showed to be exact (DER <10%) for all the pesticides studied in both fortifying levels.

dos resultaron ser diazinón 2,0235  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , Clorpyrifos 2,0145  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  y paration-etil 2,0024  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

La precisión del método fue determinada por estudios de repetibilidad y de reproducibilidad, expresada por la desviación relativa estándar (DER). La repetibilidad (precisión intraensayo) se calculó a través de la desviación estándar relativa de los porcentajes de recuperación de las muestras de suelo fortificadas el mismo día. La reproducibilidad (precisión entre día) se determinó analizando muestras de suelo fortificadas durante tres días alternos. El método mostró ser exacto ( $\text{DER} < 10\%$ ) para todos los plaguicidas estudiados en ambos niveles de fortificación.

## Conclusión

La extracción ultrasónica resultó una técnica efectiva y proporcionó niveles de recuperación adecuados, tomando en consideración la complejidad de la matriz. Se demostró que un solvente de fuerza intermedia entre el diclorometano y el alcohol isopropílico, como fue el caso del acetato de etilo, resultó en óptima selectividad extractiva al emplearse como solvente principal en mezclas binarias. Estas mezclas maximizaron su selectividad al emplearse con solventes de alta polaridad.

## Literatura citada

Anastassiades, M., S. Lehotay, D. Stainbahe, F. Schenck. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the

## Conclusion

The ultrasonic extraction resulted to be an efficient technique and provided adequate recovery levels, considering the complexity of the matrix. It was proved that a solvent with an intermediate strength between dichloromethane and isopropyl alcohol, as the case of ethyl acetate, resulted in optimum extractive selectivity when using as a main solvent in binary mixes. These mixes maximized their selectivity when employing with solvent of high polarity.

*End of english version*

determination of pesticide residues. J. AOAC Int. 86(2):412-431.

Chai, A., L. Kuet, L. Seng. 2004. Solid phase extraction cleanup method for the determination of organophosphorus pesticides in vegetables. Chem Mala. 6:029-038.

Díez, C., W. Traag, P. Zommer, P. Marinero, J. Atienza. 2006. Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and «dispersive solid-phase extraction» method with classical multi-residue method for the herbicide residues in barley samples. J. Chromatogr. A. 1131:11-23.

Ettiene, G., S. Ortega, J. Sepúlveda, D. Medina y L. Sandoval. 2006. Dissipation of organophosphorus pesticides in green onion (*Allium fistulosum* L.), cultivated in torced system called «barbacoas». Bull Environ Contam Toxicol. 76:415-421.

Gutiérrez, H., L. Barba y H. Materón. 2007. Movilidad de los plaguicidas carbofuran e imidacloprid en un

suelo Typic Humitropept. Agrono. Colomb. 25(1):160-167

Kristenson, E., L. Ramos y U. Brinkman. 2006. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. Trends Anal. Chem. 25(2):96-111.

Picó, Y., M. Fernández, M. Ruiz y G. Font. 2007. Current trends solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment, Review. J. Biochem. Biophys. Methods. 70:117-131.

Tadeo, J., C. Sánchez-Brunete, B. Albero y A. García-Valcárcel. 2010. Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. Review. J. Chromatogr. A. 1217:2415-2440.

Thurman, E. y M. Mills. 1998. Solid-phase extraction: Principles and practice. Chemical analysis. Wiley-Interscience, Canada. 41 p.

Nota: esta literatura no esta citada en el texto por favor indicar donde?