



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

**PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES**

EVALUACIÓN AMBIENTAL DEL FIPRONIL

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

Q.F.B. ROGELIO FLORES RAMÍREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

COMITÉ TUTELAR:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

DR. CARLOS CONTRERAS SERVÍN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

**PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES**

EVALUACIÓN AMBIENTAL DEL FIPRONIL

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

Q.F.B. ROGELIO FLORES RAMÍREZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

SINODALES:

PRESIDENTE:

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

SECRETARIO:

DR. CARLOS CONTRERAS SERVÍN

VOCAL:

DR. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA

**PROYECTO REALIZADO EN:
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
BECA-TESIS (CONVENIO No. 20122)**

**LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES ESTA INCLUIDO EN EL
PADRÓN NACIONAL DE POSGRADOS DEL CONACYT.**

Índice

	Páginas
Abreviaturas	i
Resumen	ii
Capítulo I	
1. Antecedentes	1
1.1 Insecticidas	1
1.2 Fipronil	2
1.3 Uso de Fipronil en México	3
1.4 La plaga de la langosta y su distribución geográfica	5
1.5 La langosta en la Huasteca Potosina	6
1.6 Propiedades Fisicoquímicas	9
1.6.1 Estructura Química	9
1.6.2 Constante Carbono Orgánico (Koc)	9
1.6.3 Volatilidad	9
1.6.4 Solubilidad	10
1.6.5 Constante octanol/agua (Kow)	10
1.6.6 Características Fisicoquímicas de los productos de degradación	10
1.7 Mecanismo de acción	12
1.8 Comportamiento ambiental	12
1.8.1 Tiempo de vida media ($t_{1/2}$)	13
1.9 Toxicidad	14
1.9.1 Especies acuáticas	14
1.9.2 Insectos	15
1.9.3 Mamíferos y aves	16
1.9.4 Humanos	16
Capítulo II	
2. Justificación	19
Capítulo III	
3. Objetivo General	20
3.1 Objetivos Específicos	20
Capítulo IV	
4. Metodología	21
4.1 Materiales y reactivos	21
4.2 Preparación del suelo	21
4.2.1 Blanco de suelo	21
4.2.2 Tratamiento de suelo blanco	21
4.2.2.1 Secado y tamizaje	21
4.2.2.2 Esterilización del suelo	23
4.2.2.3 Fortificación del suelo	23
4.3 Método de extracción	23
4.3.1 Extracción asistida con sonda ultrasónica	23
4.3.2 Limpieza	23
4.4 Condiciones cromatográficas	24
4.5 Muestras problema	25

4.6 Control de calidad	27
4.6.1 Control y aseguramiento de calidad	27
4.6.2 Validación de la metodología	27
Capítulo V	
5. Resultados	28
5.1 Desempeño analítico	28
5.2 Cuantificación de Fipronil y los productos de degradación en muestras	35
Capítulo VI	
6. Discusión	36
Capítulo VII	
7. Conclusiones	41
Capítulo VIII	
8. Futuras líneas de investigación	42
Capítulo IX	
9. Anexos	43
Referencias	45

Índice de figuras

	Páginas
Figura 1. Estructura química de Fipronil	9
Figura 2. Productos de degradación de Fipronil (A) bajo condiciones ambientales, Fipronil-detrifluorometisulfonyl (B), Fipronil-desulfinil (C), Fipronil-sulfuro (D), y Fipronil-sulfona	13
Figura 3. Cromatograma obtenido del GC-ECD	24
Figura 4. Curva de calibración de F. desulfinil	30
Figura 5. Curva de calibración de F. sulfuro	30
Figura 6. Curva de calibración de Fipronil	31
Figura 7. Curva de calibración de F.sulfona	31

Índice de tablas

Tabla 1. Efectividad de insecticidas para el control de ninfas de la langosta <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> en la Planicie Huasteca. 2002.	4
Tabla 2. Residualidad de insecticidas para el control de ninfas de la langosta <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> en la Planicie Huasteca. 2002.	4
Tabla 3. Intervalo de seguridad, toxicidad y clasificación de los insecticidas evaluados para el control de la langosta <i>Schistocerca piceifrons piceifrons</i> en la Planicie Huasteca.	5
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de Fipronil (25° C)	11
Tabla 5. Muestras obtenidas del sitio y su localización geográfica.	22
Tabla 6. Límite de detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOC) en sistema y matriz fortificada para Fipronil y sus productos de degradación.	28
Tabla 7. Linealidad del método analítico expresada como coeficiente de correlación (r) en sistema y matriz fortificada.	29

Tabla 8. Sensibilidad del método analítico expresada como la pendiente \pm L.C.al 95 % en sistema y matriz fortificada.	29
Tabla 9. Porcentaje de recobro de la metodología para Fipronil y sus productos de degradación a concentración baja, intermedia y alta en matriz fortificada.	32
Tabla 10. Precisión del método expresada como repetibilidad, comparando los Coeficientes de Variación (C.V.) obtenidos con los C.V. aceptables.	33
Tabla 11. Precisión expresada como reproducibilidad intralaboratorio, comparando los Coeficientes de Variación (C.V.) obtenidos con los C.V. aceptables.	34
Tabla 12. Resultados de concentraciones de Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo de el Bagre Huasteco.	35
Tabla 13. Comparación de LOD y LOC de Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo.	37
Tabla 14. Técnicas de extracción de Fipronil y sus productos de degradación en suelo.	40

i. Abreviaturas

BU: Baño Ultrasónico

d: días

ECD: Detector de Captura de Electrones

F. desulfinil: Fipronil desulfinil

F. sulfona: Fipronil sulfona

F. sulfuro: Fipronil sulfuro

GABA: Ácido Gamma Amino Butírico

GC: Cromatografía de Gases

h: horas

ha: hectáreas

i.a.: ingrediente activo

INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Koc: Constante Carbono Orgánico

Kow: Constante Octanol-Agua

LLE: Extracción Líquido-Líquido

LOC: Límite de Cuantificación

LOD: Límite de Detección

ppb: partes por billón

ppm: partes por millón

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

SPE: Extracción en Fase Sólida

SPME: Micro extracción en Fase Sólida

ii. Resumen

Fipronil es un insecticida de la familia de los fenilpirazoles utilizado contra una amplia variedad de plagas urbanas y agrícolas, es efectivo a bajas dosis de aplicación en especies que han adquirido resistencia contra insecticidas piretroides, organofosforados y carbamatos. Ha demostrado ser altamente tóxico contra especies de insectos polinizadores e invertebrados acuáticos. Las metodologías desarrolladas para la cuantificación de Fipronil y sus productos de degradación involucran grandes cantidades de residuos generados. Se desarrolló una metodología por CG-ECD mediante una extracción con una sonda de ultrasonido focalizada (FU), obteniendo un intervalo de porcentajes de recobro entre 85 a 120 %. La cantidad de solvente utilizado disminuyó hasta un 70, 82 y 96 % y un 97.5, 90, y 99.7 % en tiempo con respecto a metodologías de BU, SPE-SLL y Soxhlet respectivamente. El método fue validado en matriz fortificada, presentó linealidad en un intervalo de 25 a 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$, el LOD para Fipronil, F. desulfinil, F. sulfuro y F. sulfona fue de 14.7, 9.8, 8.97 y 10.7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente. El método fue aplicado a muestras de suelo agrícola impactado por la plaga de la langosta, se encontraron los productos de degradación F. desulfinil y F. sulfona. El método puede ser utilizado para monitorear las concentraciones ambientales de Fipronil y sus productos de degradación en suelo y poder prevenir un riesgo ecotoxicológico.

Agradecimientos

Esta tesis es dedicada a mi esposa Susanna Edith y mi hija Ana Sofía que son el motor de mi vida y que me impulsan a seguir cumpliendo mis sueños.

A mis padres Rogelio y Mercedes por su apoyo y consejos que me brindaron.

A usted Dra. Pury que me dio la oportunidad de ser su alumno y me brindó su confianza, paciencia y enseñanzas de vida, solo me queda decirle gracias.

Al Dr. Fernando Díaz-Barriga y el Dr. Carlos Contreras que sus conocimientos reforzaron esta tesis.

A Líli Batres e Izanami López que me apoyaron incondicionalmente en la metodología y compartieron sus puntos de vista acerca de la técnica lo cual me permitió mejorarla.

A todos mis compañeros del laboratorio de Bioquímica por el ambiente excelente de trabajo.

Capítulo I

1. Antecedentes

1.1 Insecticidas

El incremento en la población mundial requiere de una producción elevada de alimentos, por lo que la protección de cultivos contra el ataque de parásitos y de otros agentes biológicos es más que necesaria. El empleo de insecticidas en la agricultura es imprescindible para mejorar su potencial económico, permitiendo la protección de los cultivos, aumentando el periodo de desarrollo de las plantas, incrementando el periodo de almacenamiento post-cosecha, reduciendo los costos de producción de los alimentos y disminuyendo el riesgo de aparición de plagas (FAO, 2003).

El uso de insecticidas también está relacionado con el control de plagas que puedan afectar a la salud humana, sobretodo en países con climas tropicales, con el fin de prevenir contagios de enfermedades tales como la malaria, el dengue o el cólera (WHO, 1999). Entre sus múltiples campos de aplicación podemos citar su uso sistemático tanto a nivel agrícola, como industrial, doméstico, en jardinería o en veterinaria (Kolaczinski y Curtis 2004).

A pesar de que los pesticidas han sido diseñados para ofrecer una alta especificidad de acción, su uso indiscriminado genera innumerables efectos secundarios como la generación de organismos resistentes, persistencia en el medio ambiente o la contaminación de los recursos hídricos. Los pesticidas organoclorados son un ejemplo de persistencia ambiental, ya que algunos de ellos permanecen en los suelos sin degradación significativa hasta 30 años después de ser aplicados. Esa permanencia favorece su incorporación a las cadenas tróficas, la biomagnificación y la acumulación en los tejidos grasos de humanos y animales. Por otro lado, la aplicación sistemática de plaguicidas conduce a la contaminación de los medios ambientales que pueden producir efectos en salud, por lo que es importante determinar el tipo y cantidad de plaguicida a utilizar. Esto lleva a la necesidad de generar nuevos insecticidas como el Fipronil, perteneciente a la familia de los fenilpirazoles, el cual presenta características de mayor selectividad, bajas dosis de aplicación y baja

persistencia en el ambiente, cualidades que le permite ser de elección ante otros insecticidas.

1.2 Fipronil

El compuesto Fipronil es un insecticida perteneciente a la familia de los fenilpirazoles (**Fig. 1**), sintetizado por la compañía Rhône-Poulenc en 1987 e introducido en 1993 en el mercado europeo (The British Crop Protection, 2000) y registrado en Estados Unidos de América en 1996 (Ware, 2000).

Para el año de 1997 aproximadamente se producían 480 toneladas anuales, y se registró en 63 países un uso urbano y en 51 países para el uso agrícola (Tingle *et al.*, 2000). Los productos que contienen Fipronil han sido distribuidos en más de 70 países y tan solo en Estados Unidos de América ha incrementado su uso de 300 kg i.a. en el 2000 a 44,803 kg i.a. en 2006, por lo que se espera un crecimiento constante en la demanda de este insecticida (CDPR, 2006).

El insecticida Fipronil se comercializa bajo la marca Regent® para su uso contra las principales plagas de lepidópteros y ortópteros en una amplia variedad de cultivos de campo y plantaciones hortícolas y contra larvas de coleópteros en los suelos. Bajo los nombres comerciales Goliat®, Nexa® y Frontoline® se utiliza en el control de las cucarachas, hormigas y pulgas en perros y gatos, respectivamente (BASF, 2005).

En países del Medio Oriente, el Sur de Europa, EE.UU., Japón, México y Brasil, han aprobado formulaciones de Fipronil como termicidas de elección. En gran parte de África y los países de Asia Central el uso de este insecticida se da para el combate contra la plaga de la langosta (Tingle *et al.*, 2000).

El Fipronil ha demostrado muchas ventajas con respecto a otros insecticidas de diferentes familias por su alta potencia, alta eficiencia, selectividad, un amplio espectro de insectos y baja resistencia dada su reciente incorporación (Gunasekara y Troung, 2007). Fipronil es efectivo a bajas dosis de aplicación,

se ha demostrado la eficacia contra insectos que han adquirido resistencia a insecticidas piretroides, organofosforados y carbamatos (Bobe *et al.*, 1997), por ejemplo Stevens *et al.* (1997) encontraron que la aplicación de Fipronil en semillas de arroz a 12.5 g de i.a./ha, es más eficaz que Malathión a 300 g i.a./ha y que además proporciona protección contra insectos quironómidos en un intervalo de 9 a 14 días después de sembrar las semillas de arroz.

Fipronil puede ser formulado en distintas composiciones como sólido (ej. Cebo para insecto; White, 1998), aerosol líquido o como producto granular (ej. aplicación en césped; U.S. EPA, 1996). La importancia de la composición radica en la influencia del destino ambiental del compuesto, esto lo sustenta Ngim y Crosby (2001) que encontraron que el producto granular de Fipronil fue más persistente que otras formulaciones en agua, con un tiempo de vida media de 125 h y en suelo de 438 h.

1.3 Uso de Fipronil en México

El amplio espectro de Fipronil contra diferentes plagas permite utilizarlo en el ámbito urbano y agrícola. En México es utilizado para la protección de diversos cultivos agrícolas contra la plaga *Schistocerca piceifrons piceifrons* conocida como langosta, esto en base a estudios de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) que evaluaron la efectividad de diversos insecticidas empleados contra dicha plaga valorando: el intervalo de seguridad y toxicidad; su manejo toxicológico; la resistencia; los costos de uso y manejo (**Tablas 1, 2 y 3**). Con todo ello llegaron a la conclusión de que Malathión y Fipronil son los insecticidas más convenientes, debido a su efectividad, residualidad, economía y bajo impacto ambiental por su selectividad. También determinaron que las dosis de aplicación más adecuadas serían para el Fipronil de 5 g i.a./ha y para el Malathión de 1000 g i.a./ha (INIFAP, 2005).

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Tabla 1. Efectividad de insecticidas para el control de ninfas de la langosta *Schistocerca piceifrons piceifrons* en la Planicie Huasteca. 2002 (INIFAP, 2005).

	Dosis g i.a./ha	Dosis L/ha	Porcentaje de mortalidad	
			24 h DA	48 h DA
Malathión	1000	1.0	91	92
Paratión	720	1.0	99	99
Clorpirifós	480	1.0	100	-
Cipermetrina	50	0.25	100	-
Fipronil	0.5	0.0025	80	90
Fipronil	1.0	0.005	84	100
Fipronil	3.0	0.015	100	-
Fipronil	5.0	0.025	100	-

DA= Después de la aplicación

Tabla 2. Residualidad de insecticidas para el control de ninfas de la langosta *Schistocerca piceifrons piceifrons* en la Planicie Huasteca. 2002 (INIFAP, 2005).

	Dosis g i.a./ha	Dosis L/ha	Porcentaje de mortalidad				
			2 d DDA	4 DDA	6 DDA	9 DDA	10 DDA
Malathión	1000	1.0	12	-	92.5	92.5	92.5
Paratión	720	1.0	20	-	-	-	-
Clorpirifós	480	1.0	100	0	-	-	-
Cipermetrina	50	0.25	56	-	-	-	-
Fipronil	0.5	0.0025	96	100	83	36	100
Fipronil	1.0	0.005	100	100	100	100	-
Fipronil	3.0	0.015	100	100	100	-	-
Fipronil	5.0	0.025	100	100	100	100	-

DDA= Días después de la aplicación

Tabla 3. Intervalo de seguridad, toxicidad y clasificación de los insecticidas evaluados para el control de la langosta *Schistocerca piceifrons piceifrons* en la Planicie Huasteca (INIFAP, 2005).

Insecticida	Intervalo de seguridad (d)	Toxicidad		
		OA*	DA*	CLASIF.
Endosulfán	16	18-110	74-130	Altamente tóxico
Malathión	Sin límite	895-2800	4000-4444	Moder. tóxico
Paratión	12-15	9-42	63-72	Extram. tóxico
Azinfós metílico	16	11-16	220	Altamente tóxico
Clorpirifós	21	82-245	202	Moder. tóxico
Diazinón	10	66-600	379-1200	Moder. tóxico
Matamidofós	10	12-30	110	Altamente tóxico
Naled	4	250-430	800	Moder. tóxico
Carbaril	sin límite	307-966	500-4000	Moder. tóxico
Metomil	7	17-24	5000	Altamente tóxico
Deltametrina	1	129-139	2000	Ligeram. Tóxico
Cipermetrina	14-17	247	-	Moder. tóxico
Lambda cyhalotrina	15	-	-	Moder. tóxico
Fipronil		5000	2000	Moder. tóxico

*mg/kg

OA=Oral aguda

DA= Dermal aguda

1.4 *La plaga de la langosta y su distribución geográfica*

La langosta pertenece al orden orthóptera y presenta las fases de desarrollo de huevo, ninfa y adulto o imago. Los huevos son ovipositados en masas conocidos como ootecas dentro del suelo. Estos huevos de color crema o amarillo claro, tienen una forma alargada y miden entre 8 y 10 mm de longitud y de 1 a 2 mm de ancho. En su etapa joven las langostas son conocidas como ninfas, la cual está compuesta de 5 a 6 estadios en base a su desarrollo. En la primera fase mide de 6 a 7 mm y cuenta con 17 segmentos en las antenas, en la segunda su tamaño se incrementa entre 4 y 7 mm, así como también sus segmentos antenares suben a 20 y aparecen los paquetes alares. Durante la tercera etapa de juventud su tamaño se encuentra ya entre los 16 y 18 mm, sus antenas presentan 22 segmentos y los paquetes alares toman una forma triangular, en el cuarto lapso tiene una dimensión que va de los 20 a los 24 mm, sus antenas adquieren 2 segmentos y en sus alas se percibe el inicio de la

venación, en el quinto momento de su juventud su tamaño es de entre los 27 a los 30 mm, se incorporan otros 2 segmentos a sus antenas y su paquete alar cambia de su posición, anteriormente ventral, a una postura posterior, para el sexto instante su cuerpo mide de 35 a 45 mm, sus antenas contienen 28 segmentos.

La última fase de desarrollo es conocida como imago la cual representa a una langosta voladora joven cuyos órganos sexuales son inmaduros. Un adulto es un imago cuyos órganos reproductores son funcionales. La langosta en este momento presenta dimorfismo sexual; su color cambia de forma gradual de un café rojizo en el caso de imagos a café amarillento en los adultos, lo que significa que han alcanzado la madurez sexual.

La distribución geográfica de la langosta es desde el Sureste de México, al Sur del Trópico de Cáncer, en altitudes por debajo de los 2000 metros sobre el nivel del mar (m.n.s.m.) hasta Costa Rica. Las áreas de reproducción permanente y gregarización en México están en la Península de Yucatán. En Guatemala se localizan sobre la Costa del Pacífico y en El Salvador, Honduras y Nicaragua en las zonas aledañas al Golfo de Fonseca. Estas áreas de reproducción requieren contar con altitudes iguales o menores a los 100 m.s.n.m., estaciones climáticas de secas y lluvias muy bien definidas y temperatura media entre 28 y 32° C durante todo el año (INIFAP, 2005).

1.5 La langosta en la Huasteca Potosina

Una de las regiones del país más afectadas por la plaga de langosta es la Planicie Huasteca ya que presenta condiciones favorables para las áreas de reproducción de la plaga. La región comprende el oriente de San Luis Potosí, norte de Veracruz y sur de Tamaulipas. En ella año con año más de 200 mil hectáreas de pastizales y cultivos son afectados por la langosta, principalmente en los municipios de Tamuín, San Vicente Tancuayalab, Ébano, Cd. Valles, San Martín Chalchicuautla, Tanquián y Tanlajas en el estado de San Luis Potosí; Mante, Xicoténcatl, Altamira, Aldama y González en Tamaulipas; en el Sureste de Veracruz se localizan las zonas gregarianas que comprende los

municipios de Acayucan, Hueyapan de Ocampo, Ciudad Isla, Juan Rodríguez Clara, Playa Vicente, San Andrés Tuxtla y San Pedro Soteapan. Además de encontrarse en el norte de Veracruz en los municipios de Pánuco, El Higo, Tempoal y Ozuluama; la plaga ha avanzado hacia altitudes mayores, ya que durante el año 2004 llegó a la Huasteca Hidalguense, Zona Media y al Altiplano de San Luis Potosí en los municipios de Cd. del Maíz y Villa Hidalgo (Garza, 2005).

En la Huasteca Potosina la distribución geográfica de la plaga de la langosta parece presentarse en los espacios de cultivo de los 20 municipios que la componen. Sin embargo, en los datos que se tienen registrados, desde 1960 se destaca que las plagas se presentan con mayor frecuencia en los municipios de Ébano, Tamuín y San Vicente Tancuayalab. En concreto, en los registros de 1963 a 1965, 1989 a 1991 y 1996 a 1998, las plagas que más se manifestaron fueron las del chapulín y la langosta. A partir del año 2000 estas plagas han estado atacando diversos cultivos en cada uno de los municipios, por ejemplo en Tamuín se han visto afectados los pastizales, el cultivo de caña y en el 2002 también el cultivo de cítricos. En el municipio de Ébano en los últimos años han sido perturbados los cultivos de maíz, algodón, soya, sorgo, cítricos y pastizales. En San Vicente fueron generalmente pastizales los que se han visto afectados por la langosta y el chapulín (Herrera Godina, 2009).

Las medidas de control para la langosta son tomadas y puestas en práctica generalmente en los meses de agosto a septiembre, cuando está en etapa adulta. En este período la langosta forma mangas, altamente voraces y se desplazan rápidamente, características que dificultan su control. El INIFAP, recomienda para un manejo más eficaz de la plaga de la langosta, que el control se haga en tres etapas, basadas éstas en las fases de desarrollo de la langosta. Éste tipo de manipulación tiene el objetivo de evitar la formación de mangas de langostas en fase adulta. La primera etapa va de junio a agosto, cuando la langosta está en ninfas de primera generación. La segunda atacando a las ninfas de segunda generación durante los meses de septiembre a

noviembre, y por último, la tercera etapa será cuando la langosta sea imago, esto se da en el período comprendido de diciembre a junio (INIFAP, 2005).

El control cultural es un método propuesto para el manejo de la plaga de la langosta sin la aplicación de químicos. Éste consiste en barbechar los terrenos a una profundidad no menor a los 30 centímetros, con lo cual se expondrá a los huevecillos a las inclemencias del tiempo y estarán a merced de sus enemigos naturales. Para prevenir la formación de plagas, el proceso fitosanitario debe realizarse en las zonas gregarígenas. Otra alternativa de control de la langosta es el empleo de micoinsecticidas, una opción de control considerada ambientalmente más segura. En la Huasteca Potosina, los mejores resultados en el control de la plaga de la langosta mediante la aplicación de insecticidas biológicos, se han obtenido por el hongo *Metarhizium anisopliae*, de la variedad *acridum*, en concentraciones de 1.2×10^{12} conidias por hectárea, con lo que ha obtenido hasta un 100 por ciento de efectividad a los 10 días de aplicación (INIFAP, 2005).

En lo concerniente a la práctica del control químico de la langosta, en la Huasteca Potosina se han empleado el insecticida Fipronil y el Malathión, los cuales solo deben ser utilizados cuando existan zonas gregarígenas. Herrera Godina en 2009 desarrolló un modelo cartográfico para los municipios de Tamuín, Eban y San Vicente Tancuayalab donde se presentan los mayores daños de la región. Se obtuvieron áreas geográficas donde se aplicó Fipronil (Anexo 1), encontrando cantidades significativas de volumen y extensión geográfica de aplicación, por lo que es importante realizar un estudio de las concentraciones ambientales que puedan existir, ya que debido a su reciente incorporación se carece de estudios de los efectos en el medio ambiente y en la salud humana.

1.6 *Propiedades Fisicoquímicas*

1.6.1 *Estructura Química*

El nombre químico del Fipronil de acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) es 5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-[(1-

R,S) (trifluorometil) sulfonil] 1Hpirazol- 3-carbonitrilo, la estructura química está representada en la Figura 1, este compuesto contiene un sustituyente único llamado trifluorometilsulfinil siendo el sitio activo de la molécula.

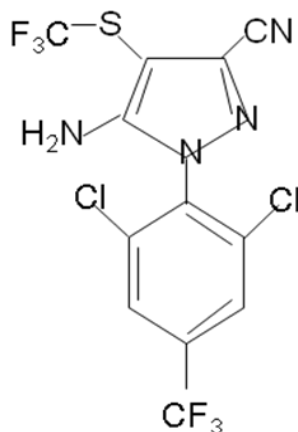


Fig. 1 Estructura química de Fipronil

1.6.2 Constante Carbono Orgánico (Koc)

Una de las características de Fipronil es su capacidad para ser adsorbido por suelos o sedimento, evaluado mediante el Koc siendo 803 mL/g (**Tabla 4**) colocándolo en el intervalo de 100 a 1000 mL/g, correspondiente a la clase de baja a moderadamente adsorbible al suelo (Ying y Kookana, 2002).

1.6.3 Volatilidad

Un factor importante en la distribución de insecticidas es la velocidad de volatilización, la que se calcula medio de la constante de la ley de Henry (H) que toma en cuenta la presión de vapor, peso molecular, solubilidad y aumento de la temperatura, para el caso de Fipronil el valor de H es igual a $3 \cdot 10^{-5}$ atm m³/mol que entra en el rango de $3 \cdot 10^{-7}$ a $1 \cdot 10^{-5}$ atm m³/mol considerado de baja volatilidad (Tabla1) (Ngim y Crosby, 2001).

1.6.4 Solubilidad

Fipronil presenta baja solubilidad en agua, es afín a matrices orgánicas tales como lípidos, aceites, ligninas, proteínas y solventes orgánicos (Aajoud *et al.*, 2003).

1.6.5 Constante octanol/ agua (Kow)

El coeficiente octanol/agua (Kow por sus siglas en inglés) es la característica fisicoquímica que define a un compuesto hidrosoluble o liposoluble y el logaritmo de dicho coeficiente da la capacidad de un compuesto de bioacumularse (BCF). Los pesticidas altamente peligrosos en cuanto a una posible bioacumulación y biomagnificación de acuerdo a la guía FSC (2007) presentan un log Kow > 3. El Fipronil presenta un log Kow de 4.01 el cual es un valor significativo para la bioacumulación y biomagnificación (Conelly, 2001).

1.6.6 Características Fisicoquímicas de los productos de degradación

Se ha reportado que en el medio ambiente Fipronil se degrada a cuatro compuestos: Fipronil sulfona, Fipronil sulfuro, Fipronil desulfinil y Fipronil amida.

Los productos de degradación presentan características diferentes al compuesto inicial por ejemplo F. sulfona, F. sulfuro y F. desulfinil tienen un Koc de 4209, 2719 y 1290 mL/g respectivamente y son clasificados como moderadamente adsorbibles al suelo por lo que es poco probable encontrarlo en aguas subterráneas. Por otro lado, F. amida presenta un Koc de 166 mL/g y se encuentra como débilmente adsorbible al suelo. En cuanto a la constante de Henry los valores de F. sulfona, F. sulfuro y F. desulfinil son de $7.6 \cdot 10^{-7}$, $2.3 \cdot 10^{-6}$ y $0.4 \cdot 10^{-5}$ atm m³/mol respectivamente, estos valores reflejan que estos compuestos difícilmente serán encontrados en aire.

La bioacumulación y biomagnificación medidos por el log Kow, los productos F. sulfona, F. sulfuro y F. desulfinil presentan valores de 3.8, 3.7 y 3.4 respectivamente. Por lo que al igual que compuesto original, los productos tienen la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse en la cadena trófica (FAO/WHO, 2001).

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de Fipronil (25° C)

Peso Molecular (g/mol) ¹	473.2	
Solubilidad ¹	Agua (mg/L; pH = 5)	1.90
	Agua (mg/L; pH = 9)	2.40
	Hexano (mg/L)	28.0
	Tolueno (mg/L)	3000
	Acetona (mg/L)	543500
Punto de Fusión (°C) ¹	200-201	
Densidad (g/mL 20°C) ¹	1.48-1.63	
Presión de Vapor (mPa; calculada) ⁶	3.7 x 10 ⁻⁴	
Constante de Henry (m ³ ·atm/mol; experimental) ²	6.60 x 10 ⁻⁶	
Constante de Henry (m ³ ·atm/mol; calculada) ⁶	8.50 x 10 ⁻¹⁰	
Coeficiente de partición Octanol-Agua (Log Kow) ⁶	3.50	
Constante Carbono Orgánico (Koc) ³	825	
Fotólisis (días; pH = 5) ⁶	0.33	
Tiempo de vida media(Hidrólisis) (días) ⁴	pH = 5.5	>100
	pH = 7.0	>100
	pH = 9.0	32.08
	pH = 10	4.75
	pH = 11	0.45
	pH = 12	0.1
Tiempo de vida media en suelo (condiciones aeróbicas) (días) ⁵	188	
Tiempo de vida media en suelo por tipo formulación (días) ²	Formulación seca	19.3-22.2
	Granular	18.3
Tiempo de vida media en agua por tipo formulación (condiciones aeróbicas) (días) ¹	Formulación seca	0.92-2.83
	Granular	5.20

¹The Pesticide Manual, 2000; ² Ngim and Crosby, 2001; ³ Ying and Kookana, 2001; ⁴ Bobe *et al.* , 1998; ⁵ Ying and Kookana, 2002; ⁶ Rhône-Poulenc Ag Company, 1998.

1.7 Mecanismo de Acción

El Fipronil actúa por ingestión o por contacto, es un plaguicida sistémico que produce la inhibición de los canales de Cloro activados por el Ácido Gamma Amino Butírico (GABA), bloqueando la acción de los receptores de GABA en Sistema Nervioso Central (Cole *et al.*, 1993).

Los receptores de GABA de los insectos son estructuralmente similares a los receptores GABA_A y GABA_C de los vertebrados (Hosie *et al.*, 1997), que junto con los receptores de glicina son miembros de la familia de canales de Cloro activados por el ligando. (Jentsch *et al.*, 2002). Este insecticida tiene alta afinidad por receptores GABA de insectos, y relativamente baja en los receptores GABA_A y GABA_C de los vertebrados, por lo que presenta menor toxicidad en mamíferos que otros insecticidas que bloquean este canal como el Endosulfán y Lindano (Mohamed *et al.*, 2004). Sin embargo estudios *in vitro* señalan que los productos F. sulfona y F. desulfinil pierden la selectividad en el bloqueo de los receptores GABA de mamíferos, presentando hasta seis y nueve veces mayor potencia con respecto al compuesto original (Hainzl, 1998).

1.8 Comportamiento ambiental

En el ambiente al igual que otros insecticidas, Fipronil puede degradarse por diferentes mecanismos como reducción, hidrólisis, oxidación y fotólisis (**Fig. 2**), de estos procesos se han identificado cuatro productos principales (Bobe *et al.*, 1998) que son: F. sulfuro o MB 45950, producto de reducción en suelo por microorganismos (Zhu *et al.*, 2004), F. amida o RPA 20076, producto de hidrólisis en agua y suelo, Fipronil-sulfona o MB 46136, producto de la oxidación en suelo y Fipronil-desulfinil o MB46513, producto de fotólisis (Ngim y Crosby, 2001, Bobe *et al.*, 1997).

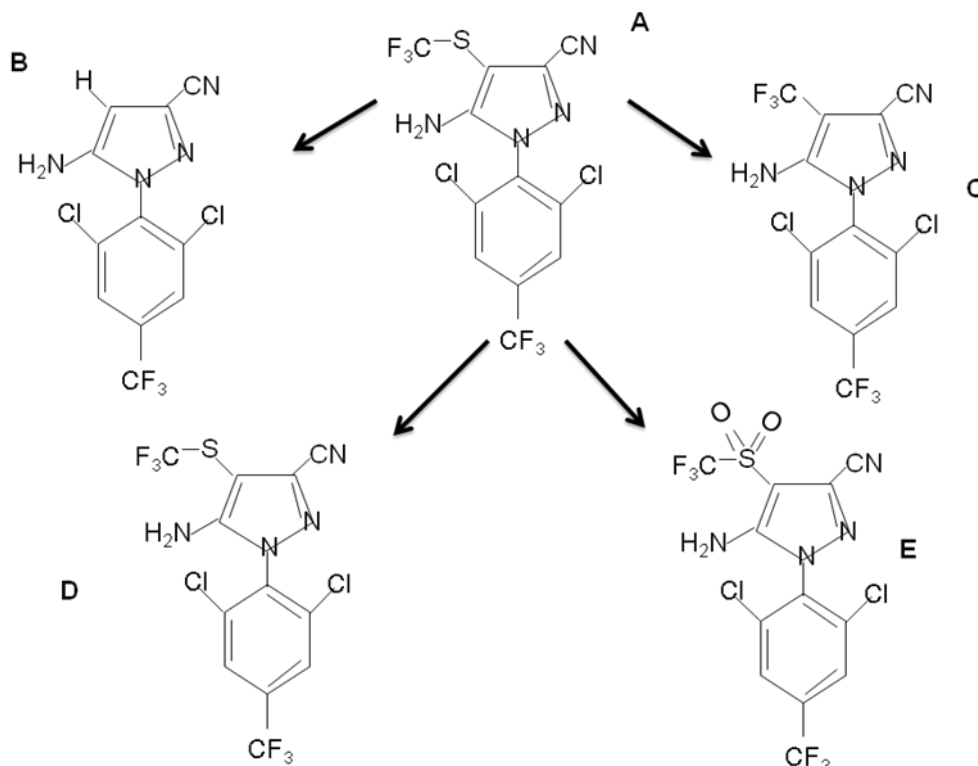


Fig. 2. Productos de degradación de Fipronil (A) bajo condiciones ambientales, Fipronil-detrifluorometisulfonyl (B), Fipronil-desulfinil (C), Fipronil-sulfuro (D), y Fipronil-sulfona (Bobe *et al.*, 1998).

1.8.1 Tiempo de vida media ($t_{1/2}$)

El $t_{1/2}$ de L Fipronil varía según la vía de degradación, por fotólisis, tiene un $t_{1/2}$ de 4.1 h (Bobe *et al.*, 1998) por lo que es la principal ruta de degradación. En la hidrólisis influyen factores como el pH, de acuerdo a Bobe *et al.*, (1998) a pH de 5 Fipronil es estable, un pH de 7 su $t_{1/2}$ es de más de 100 días y a pH de 12 es 300 veces más rápida su degradación.

Los cuatro productos de degradación de Fipronil también varían su $t_{1/2}$ dependiendo del mecanismo. El F. desulfinil tiene un $t_{1/2}$ de 41-55 días por fotodegradación y para F. amida por hidrólisis es de 542 h a pH 9 (Ying y Kookana, 2002, Ngim y Crosby, 2001).

La degradación microbiana de Fipronil en suelos ha sido estudiada por Zhu *et al.* (2004), encontrando que el $t_{1/2}$ de Fipronil en suelos arcillosos no estériles es de 8 a 9 días a 35 °C. Sin embargo, el $t_{1/2}$ observado por Tingle *et al.*, (2003) en suelos de limo fue de 342 días y en suelos arenosos de 126 días (Rhône-Poulenc Ag Company, 1998) por lo que se sugiere que el $t_{1/2}$ de Fipronil depende en forma considerable de la composición del suelo y el contenido de materia orgánica presente como asegura Mukherjee (2006). Por otra parte la degradación microbiana de los productos de degradación como F. desulfínil han reportado que el $t_{1/2}$ es de 630-693 días dependiendo del suelo, mostrando que el producto presenta mayor persistente en suelo (Rhône-Poulenc Ag Company, 1998).

Se tiene reportado que en suelos arenosos el tiempo de vida media de Fipronil fue de 122 días con F. amida y F. sulfona en porcentajes del 27-38% y 14-24% del total de los productos respectivamente (EPA, 1997). El $t_{1/2}$ de Fipronil en sedimentos es alrededor de 14.5 días siendo el producto mayoritario de degradación F. sulfuro (Rhône-Poulenc Ag Company, 1998). Por otro lado, estudios recientes han encontrado que bajo condiciones facultativas se estima que el $t_{1/2}$ de F. desulfínil, F. sulfuro, y F. sulfona son de 217 a 497, 195 a 352 y 502 a 589 d, respectivamente. Estos resultados indican que los productos de degradación presentan mayor persistencia en sedimento comparado con el compuesto original (Lin K. *et al.*, 2008).

1.9 Toxicidad

1.9.1 Especies acuáticas

El Fipronil es altamente tóxico para invertebrados acuáticos, presenta una alta toxicidad para los camarones y otros crustáceos y también para las ostras (EPA, 1996). Presenta bajas Concentraciones Letales 50 (LC₅₀), para los peces, varía según las especies por ejemplo para el pez luna de agalla azul, LC₅₀ es de 85 µg/L, es altamente tóxico para la trucha arcoíris LC₅₀ (96 h) de 248 µg/L y para la carpa europea LC₅₀ (96 h) de 430 µg/L (EPA, 1997). Está demostrada una alta toxicidad para una de las tilapias africanas (*Oreochromis niloticus*) con LC₅₀ (96 h) de 42 µg/L (EPA, 1997).

“Evaluación ambiental del Fipronil”

En concentraciones inferiores a la LC₅₀ (6.6 µg/L), Fipronil ha mostrado efectos negativos sobre el crecimiento de las larvas de la trucha arcoíris (EPA, 1997); de manera similar se observaron en especies de copépodos a menos de 1 µg/L un retraso del desarrollo sexual, baja producción de huevos, así como el aumento de hembras infértiles.

En algunos casos los productos de degradación han mostrado ser más tóxicos que el compuesto original. Por ejemplo con *Daphnia magna* la LC₅₀ es de 190, 230, 27 y 4.5 µg/L, para Fipronil, F. desulfinil, F. sulfuro y F. sulfona respectivamente (Gunasekara y Troung 2007). Por otro lado, Ngim y Crosby (2001) encontraron una toxicidad del Fipronil para los cangrejos que viven en campos de arroz con una LC₅₀ de 14.3-19.5 µg/L y que los productos F. sulfona, F. sulfuro, y F. desulfinil presentan una LC₅₀ (96 h) para los cangrejos de 11.2, 15.5, y 68.6 µg/L, respectivamente (Schlenk *et al.*, 2001).

Fipronil presenta una estructura quiral y en el ambiente se encuentra en mezclas racémicas, se han reportado estudios donde el enantiomero (S+) es significativamente más tóxico para los cangrejos y camarones de río, indicando que la toxicidad enantiómero selectiva es más común en crustáceos que en otros organismos acuáticos (Overmayer, 2007). Por otra parte, algunos reportes indican que Fipronil a LC₅₀ de 0.5 µg/L reduce la abundancia y la riqueza de macro invertebrados en arroyos aledaños a cultivos de arroz de Louisiana EE. UU (Myce *et al.*, 2008). Además afecta el desarrollo y reproducción de los estuarios específicamente sobre los copépodos (*Amphiascus tenuiremis*) causando significativamente el retraso en el desarrollo del estadio juvenil a adulto en concentraciones mayores a 0.22 µg/L y afecta la producción de huevos en hembras hasta un 94 % en concentración de 0.42 µg/L (Cary *et al.*, 2004).

1.9.2 Insectos

El Fipronil puede ser usado en el control de vectores de microorganismos que alteran la salud humana. Este insecticida presenta alta efectividad contra larvas de mosquitos (*Culex quinquefasciatus*), ya que tiene una LC₅₀ de 0.35 µg/L

“Evaluación ambiental del Fipronil”

(Ali *et al.*, 1998). Para otras especies de larvas de mosquitos como la de *Aedes aegypti* es altamente tóxico con un LC_{50} de 11.7 $\mu\text{g/L}$ a las 24 h y de 7.14 $\mu\text{g/L}$ a las 48 h. Por otro lado, los productos resultantes de la degradación siguen siendo tóxicos para dicha larva, siendo LC_{50} del F. sulfuro y F. sulfona de 3.79 $\mu\text{g/L}$ (Aajoud *et al.*, 2003).

Se ha encontrado que es eficiente en el control de *Triatoma infestans* vector del *Trypanosoma cruzi* causante del Chagas en América Latina, ya que la aplicación 200 mg i.a./m² de este insecticida durante tres meses causa la mortalidad del 50% de la población del vector en las zonas infestadas (Rojas de Arias y Fournet, 2002).

Utilizando Fipronil en presentación granular a concentraciones de 25 $\mu\text{g/mg}$ controla plagas como el gusano de la cebolla *Delia Antiqua* (Nault *et al.*, 2006). Presenta alta toxicidad contra el Gorgojo *Anthonomus grandis* ya que en dosis de 3 ng/cm^2 mata alrededor del 48% de la población (Mulrooney y Goli, 1999). Ha demostrado efectividad contra diversas plagas en cultivos de algodón como: *Heliothis (Helicoverpa virescens)*, *Spodoptera spp.* y *Alabama argillacea* (Hamon *et al.*, 1996). La hormiga roja (Hymenoptera formicidae) es otro insecto altamente sensible a Fipronil, el uso de cebo granulado en concentraciones de 3 a 30 $\mu\text{g/mg}$ elimina colonias hasta por 11 semanas después del tratamiento (Collins y Callcott, 1998).

A bajas dosis el Fipronil (0.6 i.a./ha) puede ser efectivo para el control de saltamontes, y con dosis de 2 g/ha acaba con el 90% de los insectos de 3 a 10 días (Balança y del Visscer, 1997). Además se está utilizando para el control de las termitas *Coptotermes acinaciformis* con un rango de aplicación de 0.1 a 10 ppm i.a./ha (Henderson y Forschler, 1997).

Debido a la actividad de polinización de las abejas (*Apis mellifera*), Fipronil puede entrar en contacto con ellas a través del polen o el néctar, siendo este plaguicida altamente tóxico con DL_{50} por contacto y por vía oral de 6 a 4 ng/abeja respectivamente, además otros estudios señalan que a dosis de 0.1

ng/ abeja con exposición de una semana induce la mortalidad y en dosis de 0.01 ng/abeja produce efectos negativos en funciones motoras, sensoriales y cognitivas, que son esenciales para la polinización (Rhône-Poulenc, 1998, Aliouane *et al.*, 2009). En cuanto a los productos de degradación, el Fipronil sulfona al igual que el compuesto original representa un riesgo en cuanto a mortalidad de abejas ya que su DL50 oral a las 96 horas es de 6.4 ng/abeja (Bocksh, 2004).

1.9.3 Mamíferos y aves

La EPA (1997) reporta que los animales tratados con Fipronil desarrollaron irritación de la piel, letargo, incoordinación, pupilas dilatadas, hinchazón facial, y convulsiones. El Fipronil presenta una mayor toxicidad para las aves de tierra, que para algunas aves acuáticas (EPA, 1997). La DL₅₀ para aves como los patos (*Anas platyrhynchos*), palomas (*Columba livia*), y gorriones es de 2150, 2000, y 1120 mg/kg, respectivamente. Mientras que para la codorniz del Norte, *Colinus virginianus*, es altamente tóxica ya que su DL₅₀ es de 11.3 mg/kg (BASF, 2005).

En Australia comprobaron que el uso de dialcohol acetona (DAA) como solvente de Fipronil, para el control de la langosta, es altamente tóxico para el ave pinzón cebra (*Phoephila guttata*) un depredador natural de la langosta (Kitulagodage *et al.*, 2008).

1.9.4 Humanos

Aún no existen reportes de efectos secundarios por exposición crónica a Fipronil y sus productos, sin embargo Mohamed *et al.* (2004), Chodorowski y Sein (2004) y Zygmunt y Sein (2005), reportaron intoxicación aguda por Fipronil en humanos con sintomatología que incluye dolor de cabeza, náusea, disnea, irritación de ojos.

Estudios metabólicos en hígado de ratones, indican que el derivado principal de Fipronil es el sulfonado, producto obtenido de la oxidación hepática (Hainzl y Casida, 1996). Un estudio *in vitro* de 15 diferentes isoformas del Citocromo

P450 (cit P450) indicó que las isoformas CYP3A4 y 2C19 mostraron actividad metabólica significativa con respecto a Fipronil, siendo CYP3A4 la isoforma responsable de la S-oxidación, siempre y cuando se coexpresa con b5 en la membrana microsomal (Das *et al.*, 2006).

El CYP3A4 es la isoforma más abundante en el hígado humano, por lo que tiene una amplia gama de sustratos. Fipronil es predominantemente metabolizado por esta isoforma, por lo que podría interactuar con otros sustratos causando una inhibición competitiva. Esto se comprobó en el metabolismo de la testosterona a 6 β -Hidrotestosterona forma activa de la testosterona, ya que al aumentar las dosis de Fipronil, el metabolismo de la testosterona fue inhibido. Otro caso de inhibición ocurre con el Diazepam una benzodiazepina que aumenta la potencia de la acción inhibitoria del neurotransmisor GABA, el Fipronil actúa inhibiendo hasta el 60 % del metabolito Desmetildiazepam (Thang *et al.*, 2004).

Recientemente fue desarrollada una técnica analítica que permitió identificar la exposición a mezclas de insecticidas en plasma humano, así se ha podido reportar el primer caso concerniente a la exposición ocupacional a Fipronil, donde se identificó al metabolito F. sulfona en concentración de 42 $\mu\text{g/L}$ (Dulaurent *et al.*, 2010). Sin embargo, la carencia de estudios sobre efectos secundarios por exposición crónica no permite llegar a una conclusión para relacionar la concentración encontrada con los posibles efectos.

Capítulo II

2 Justificación

El uso indiscriminado de insecticidas conduce a una contaminación de los medios ambientales, lo que incrementa el riesgo de producir efectos nocivos en la salud, debido a esta situación es importante determinar el tipo y la cantidad de plaguicida que se debe utilizar. Esto lleva a la necesidad de generar nuevos insecticidas como el Fipronil perteneciente a la familia de los fenilpirazoles, el cual presenta características de mayor selectividad, potencia y baja persistencia lo que le permite ser de elección ante otros insecticidas.

En la Huasteca Potosina se han empleado varios plaguicidas para combatir la plaga de la langosta, sin embargo en los últimos años se han inclinado por la utilización del Fipronil para sustituir insecticidas utilizados en años anteriores como los piretroides (inhibidores de los canales de sodio) y los organofosforados (inhibidores de la acetilcolinesterasa) (INIFAP, 2005). Esta decisión se basa en que el Fipronil actúa selectivamente sobre insectos y por lo tanto no generaría efectos adversos sobre mamíferos (Hainzl, 1998). Sin embargo debido a esta característica resulta altamente ecotóxico, con lo cual puede romper el equilibrio ecológico afectando a las especies que son benéficas como los insectos polinizadores. Existen algunos casos de impactos ambientales relacionados con el uso de Fipronil, como el ocurrido en Estados Unidos con la disminución de poblaciones de crustáceos lo que llevo a la restricción de este insecticida cerca de apiarios y criaderos de crustáceos (Bedient *et al.* 2005). En Francia, Uruguay y China se han presentado problemas con el uso de Fipronil ocasionando la mortandad masiva de abejas, lo que ha llevado a la prohibición y restricción de este insecticida sobre todo en la época de floración que es cuando existe un mayor riesgo (Maurin 1999).

En México no existen estudios acerca de los impactos que puede producir el uso de Fipronil, por lo que el objetivo de este proyecto es generar una herramienta analítica con la cual podamos cuantificar las concentraciones ambientales de Fipronil y sus productos de degradación y generar una evaluación de riesgo ecotoxicológico para prevenir impactos en la biota.

Capítulo III

3 Objetivo General.

- Desarrollar y estandarizar el método analítico por cromatografía de gases que permita cuantificar de manera confiable el insecticida Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo para determinar su persistencia en el ambiente.

3.1 Objetivos Específicos.

- Establecer las condiciones óptimas de extracción con solventes por sonda ultrasónica.
- Validar el método analítico de cromatografía de gases con detector ECD para la cuantificación de Fipronil.
- Identificar zonas de la Huasteca Potosina donde se aplique Fipronil para el control de la plaga de la langosta para evaluar la utilidad del método desarrollado.

Capítulo IV

4 Metodología

4.1 Materiales y reactivos

Los estándares de Fipronil, F. sulfuro, F. desulfenil y F. sulfona en concentración de 100 µg/mL fueron obtenidos de Accustandards con una pureza del 94.8, 99.6, 98 y 100 % respectivamente; los solventes (Acetona y Hexano) son de grado HPLC y fueron obtenidos de Burdick & Jackson.

Para la extracción se utilizó un Procesador Ultrasónico GEX130 (115 V 50/60 Hz, Ultrasonic Processor) equipado con una punta de titanio de 3 mm. Los agitadores mecánicos fueron obtenidos por Thermolyne y un evaporador por Zymark. En la preparación de la muestra se utilizaron filtros de jeringa PTFE con tamaño de poro de 0.2 µm (Millex), gases industriales (99.99 % de pureza) obtenidos por Praxair, cartuchos de Florisil (J.T.Baker) de 1000 mg/6 mL.

4.2 Preparación del suelo

4.2.1 Blanco de suelo

Se realizó una recolecta de 500 g de suelo en un frasco ámbar tomado del parque Juan H. Sánchez de la ciudad de San Luis Potosí (ubicado geográficamente en las coordenadas Latitud N 22.1489, Longitud O 101.0167 obtenidas en un GPS 12 XL (GARMIN).

4.2.2 Tratamiento del suelo blanco

4.2.2.1 Secado y tamizaje del suelo blanco

La muestra de suelo blanco se extendió sobre una superficie plana y se dejó a temperatura ambiente durante 2 días para disminuir la humedad. Posteriormente se realizó un procedimiento de trituración en un mortero con pistilo y se pasó por un tamiz (No. 60) con un diámetro de poro de 2 mm, lo que permite aumentar el área de superficie favoreciendo el procedimiento de extracción.

4.2.2.2 Esterilización del suelo blanco

Se sometió a un proceso de esterilización húmeda mediante autoclave a una temperatura de 120 °C durante 1 h por 2 días consecutivos, ya que el insecticida Fipronil presenta degradación bacteriana (Zhu *et al.*, 2004).

4.2.2.3 Fortificación del suelo blanco

A partir de una solución patrón de 1000 µg/L (ppb) que contiene Fipronil, F. sulfuro, F. desulfinitil y F. sulfona, se prepararon 6 estándares fortificados de 1 g de suelo en concentraciones que van de 25, 50, 75, 100, 200 y 400 µg/Kg formando la curva de calibración, además de un blanco de suelo como control negativo.

4.3 Método de extracción

4.3.1 Extracción asistida con sonda ultrasónica

A 1 g de suelo se le adicionan 6 mL de Acetona, posteriormente, la mezcla sólido-líquido se pone en contacto con la sonda ultrasónica sumergiéndola aproximadamente 1 cm. Los parámetros aplicados de la sonda fueron potencia (A) al 50 % con pulsación discontinua a un segundo encendido y un segundo apagado durante 1.5 minutos, el procedimiento se realiza a temperatura ambiente y por duplicado y aplicando un lavado con 3 mL de Acetona.

Al término del tratamiento de extracción, las muestras fueron pasadas a través de un microdisco de filtración con un diámetro de poro de 0.2 µm. Las fracciones fueron colectadas y se concentraron en un volumen de 1 mL, con la ayuda de un evaporador a temperatura de 30 °C con flujo de Nitrógeno (Esquema 1).

4.3.2 Limpieza

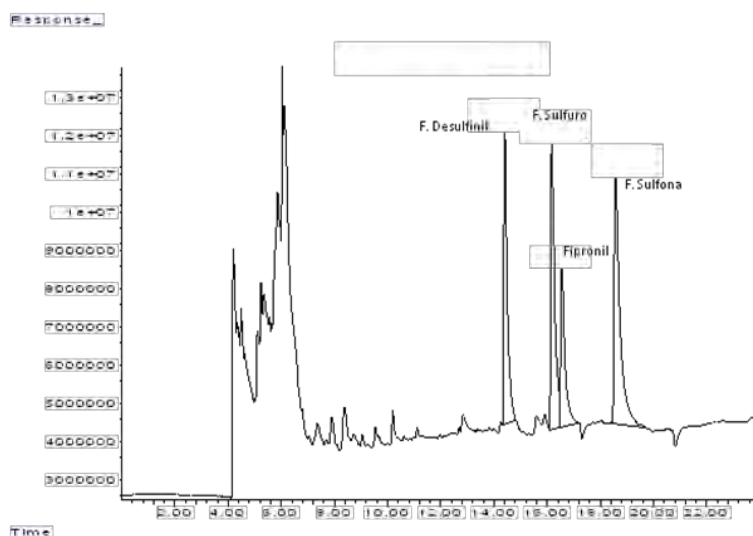
El evaporado de la matriz fortificada se sometió a un paso de limpieza utilizando cartuchos empacados con 1000 mg Florisil® desactivado (MgO.3.6 SiO₂) (J.T.Baker). Los cartuchos fueron lavados con 6 mL de Acetona y activados con dos volúmenes de 6 mL de Hexano. Se realizó el cambio de solvente a Acetona y se adicionó 1 mL del evaporado más dos lavados de 0.5 mL de Acetona. La muestra se pone en contacto durante 5 minutos con el sorbente y posteriormente se realizaron tres lavados de 5 mL con Acetona, al

término se aplica vacío durante 10 minutos y se evapora a temperatura de 30 °C con flujo de Nitrógeno hasta un volumen de muestra de 1 mL, para su posterior análisis (Esquema 1).

4.4 Condiciones cromatográficas

Se trabajó con un Cromatógrafo de gases (GC) 6890 (Agilent) equipado con inyector automático 7683 (Agilent), acoplado a un Detector de Captura de Electrones (ECD, por sus siglas en inglés). Se utilizó una columna capilar DB-*XLB* (Agilent) de 60 m de longitud por 0.25 mm de diámetro interno por 0.25 µm de espesor de película, empleando Helio como gas de arrastre a un flujo de 1 mL/min. La temperatura del inyector fue de 210 °C utilizando el modo splitless pulsado y el volumen de inyección fue de 1 µL. La temperatura del detector se mantuvo a 300 °C. Se trabajó un programa de temperatura en el horno iniciando en 100 °C durante 1 min, posteriormente se incrementa la temperatura en las siguientes velocidades: 15 °C/min hasta 240 °C, 5 °C/min hasta 255 °C permaneciendo 2 min, 2 °C/min hasta 260 °C permaneciendo 2 min, 2 °C/min hasta 270 °C permaneciendo 2 min y por último a 5 °C/min hasta 300 °C permaneciendo 10 min. La rampa de temperatura permitió obtener los tiempos de retención (min) en 14.49, 16.19, 16.57 y 18.13 para F. desulfinitil, F. sulfuro, Fipronil y F. sulfona respectivamente (**Fig. 3**).

Fig. 3. Cromatograma obtenido del GC-ECD



Muestra fortificada en matriz con una concentración de 200 µg/kg

4.5 Muestras problema

Se tomaron muestras de suelo de un sitio contaminado con Fipronil para demostrar la utilidad de método analítico desarrollado, para esto se seleccionó el predio denominado “Bagre Huasteco” ubicado en el municipio de Tamuín S.L.P, adjunto al río Tampaón, ubicado a nueve kilómetros en dirección sureste de la cabecera municipal (Bonilla, 2007).

El sitio de estudio presenta un clima Awo de acuerdo a la clasificación de Köpen modificada por Enriqueta García, el cual corresponde a un clima cálido sub húmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual varía entre 24 y 26 °C y de acuerdo a la información generada entre 1990 y 2002 por la estación climática de Tamuín el promedio de temperatura media anual fue de 25.9 °C mientras que la mínima y la máxima fue de 19.7 °C y 30.3 °C respectivamente, siendo los meses entre abril y septiembre cuando se presenta las temperaturas más altas (Bonilla, 2007).

La precipitación media anual correspondiente al periodo 1990-2002 fue de 1174.9 mm. Los meses que registran mayor cantidad de precipitación son de junio a octubre. El área de estudio se encuentra entre la topoformas denominada llanura salina con lomeríos su altitud promedio de 9 m.s.n.m. y cuenta con una pendiente del 0 al 2 %. El Bagre Huasteco al encontrarse adjunto del Río Tampaón se encuentra en un área de riesgo por inundación en virtud de su orografía cerril y de lomeríos seguida de planicies, aunado por las condiciones climáticas de Tamuín, siendo los meses de mayo a julio de mayor riesgo (Bonilla, 2007).

En el sitio, cuentan con cultivos de caña de azúcar y naranja, señalan el uso de Fipronil como control químico de la plaga de la langosta, además cuenta con 12 estanques con dimensiones de 25 x 10 x 1.40 m para el criadero de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Bonilla, 2007). Se obtuvieron 19 muestras compuestas mediante un muestreo sistemático y dirigido de la zona (**Tabla 5**), se tomaron a una profundidad de 10 cm aproximadamente ya que Fipronil y sus productos de degradación no penetran más allá de esta profundidad (Mukherjee, 2006).

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Tabla 5. Muestras obtenidas del sitio, su localización geográfica y el resultado del análisis.

	Muestra	tipo de muestra	Posición geográfica
Muestreo sistemático	A1	Suelo	14 Q 0528830
	A2	Suelo	14 Q 0528866
	A3	Suelo	14 Q 0528883
	A4	Suelo	14 Q 05228924
	B1	Suelo	14 Q 0529017
	B2	Suelo	14 Q 0528892
	B3		*
	B4	Suelo	14 Q 0529032
	C1	Suelo	14 Q 0529115
	C2	Suelo	14 Q 0528918
	C3	Suelo	14 Q 0529028
	C4	Suelo	14 Q 0529097
	D1	Suelo	14 Q 0529065
	D2	Suelo	14 Q 0528941
	D3		*
	D4	Suelo	14 Q 0529216
Muestreo dirigido	Huerta de Frijol 1	Suelo	14 Q 0528864
	Huerta de Frijol 2	Suelo	14 Q 0528858
	Suelo Criadero	Suelo	14 Q 0529105
	Sedimento del Poza # 9	Sedimento	14 Q 0529044
	sedimento del Poza # 4	Sedimento	14 Q 0529064

*Las muestras no se tomaron

4.6 Control de calidad

4.6.1 Control y aseguramiento de calidad

Los parámetros para la validación del método y control de calidad interno se realizaron en base a la guía de validación para métodos analíticos en la determinación de compuestos orgánicos en niveles trazas (AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 2000).

4.6.2 Validación de la Metodología

Los Límites de detección (LOD) y cuantificación (LOC), se calcularon con los resultados obtenidos del triplicado de la curva de calibración de cada uno de los compuestos a determinar en un intervalo de concentración de 10 a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Miller y Miller, 2002).

La linealidad expresada por el coeficiente de correlación y sensibilidad por la pendiente de la curva, se obtuvo del triplicado de la curva de calibración.

El porcentaje de recuperación del método para cada analito se obtuvo por el promedio de 5 lecturas por el duplicado de los puntos control a tres diferentes concentraciones independientes de los niveles de la curva de calibración (35, 90 y 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

La precisión de la metodología se calculó como repetibilidad y precisión intermedia evaluando la curva de calibración el mismo día por triplicado y en cinco días diferentes por duplicado, respectivamente.

Capítulo V

5. Resultados

5.1 Desempeño analítico

El LOD y el LOC, fueron calculados con una curva de calibración cercana al origen (10 a 50 ppb) en sistema y matriz, utilizando la ordenada al origen del promedio de las curvas de calibración más 3 y 10 veces los errores aleatorios en dirección de y ($s_{y/x}$) más el Límite de Confianza al 95 % para Fipronil y sus productos, los resultados están indicados en la **tabla 6**.

Tabla 6. Límite de detección (LOD) y Límite de Cuantificación (LOC) en sistema y matriz fortificada para Fipronil y sus productos de degradación.

	LOD		LOC	
	Sistema ($\mu\text{g/L}$)	Matriz Fortificada ($\mu\text{g/Kg}$)	Sistema ($\mu\text{g/L}$)	Matriz Fortificada ($\mu\text{g/Kg}$)
F. desulfinil	12.32	9.82	21.49	19.83
F. sulfuro	11.4	8.87	22.41	17.91
Fipronil	7.09	14.66	13.93	22.41
F. sulfona	8.1	10.66	15.91	21.54

La linealidad evaluado por el coeficiente de correlación (r) tanto en sistema como en matriz fue mayor a 0.99 en todos los compuestos (**Tabla 7**), sin embargo la sensibilidad expresado por la pendiente de la curva de calibración (**Tabla 8**), mostró una mayor sensibilidad en matriz para F. desulfinil, F. sulfuro y Fipronil. F. sulfona no presentó este comportamiento, esto puede apreciarse en las graficas 1, 2, 3 y 4, concluyendo que los compuestos F. desulfinil, F. sulfuro y Fipronil presentan efecto matriz.

Tabla 7. Linealidad del método analítico expresada como coeficiente de correlación (r) en sistema y matriz fortificada.

Compuesto	Coeficiente de correlación (r)	
	Sistema	Matriz fortificada
F. desulfinil	0.9985	0.9974
F. sulfuro	0.9989	0.9957
Fipronil	0.9989	0.9974
F. sulfona	0.9989	0.9963

Tabla 8. Sensibilidad del método analítico expresada como la pendiente \pm L.C.al 95 % en sistema y matriz fortificada.

	Sistema			Matriz		
		\pm			\pm	
F. desulfinil	2362533	\pm	187189	3975938	\pm	478579
F. sulfuro	3001683	\pm	145310	4195701	\pm	355076
Fipronil	1482843	\pm	540766	2493928	\pm	414909
F. sulfona	2909964	\pm	57203	5115760	\pm	1011092

Figura 4. Curva de calibración de F. desulfenil.

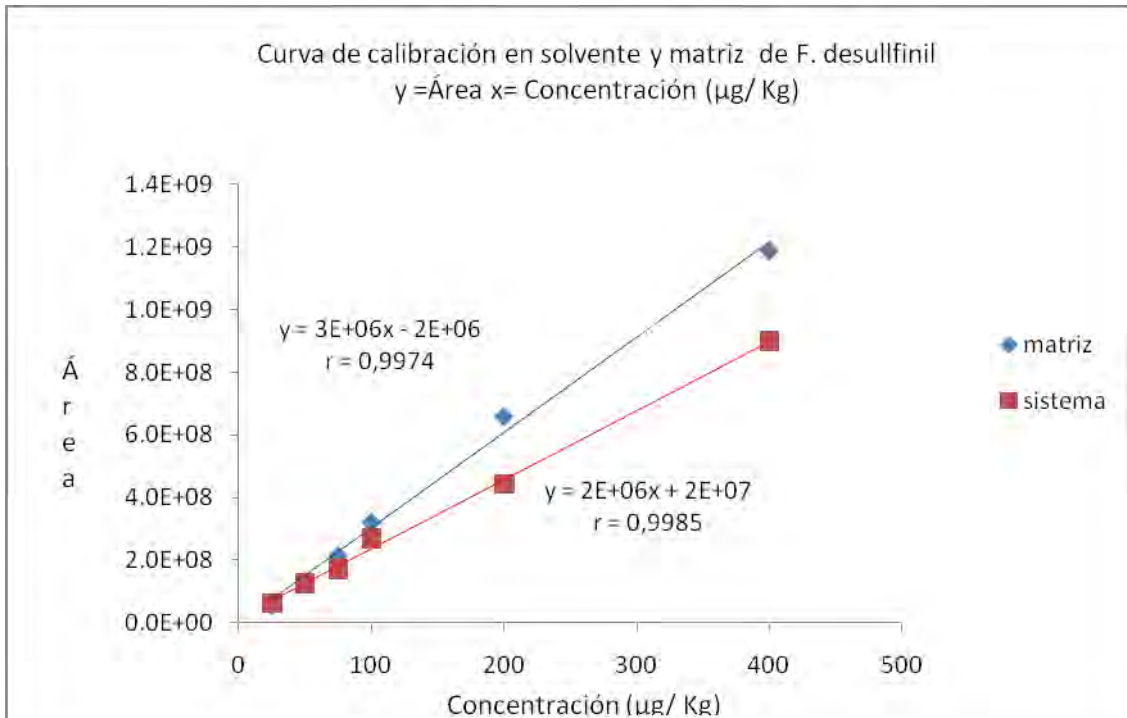


Figura 5. Curva de calibración de F. sulfuro.

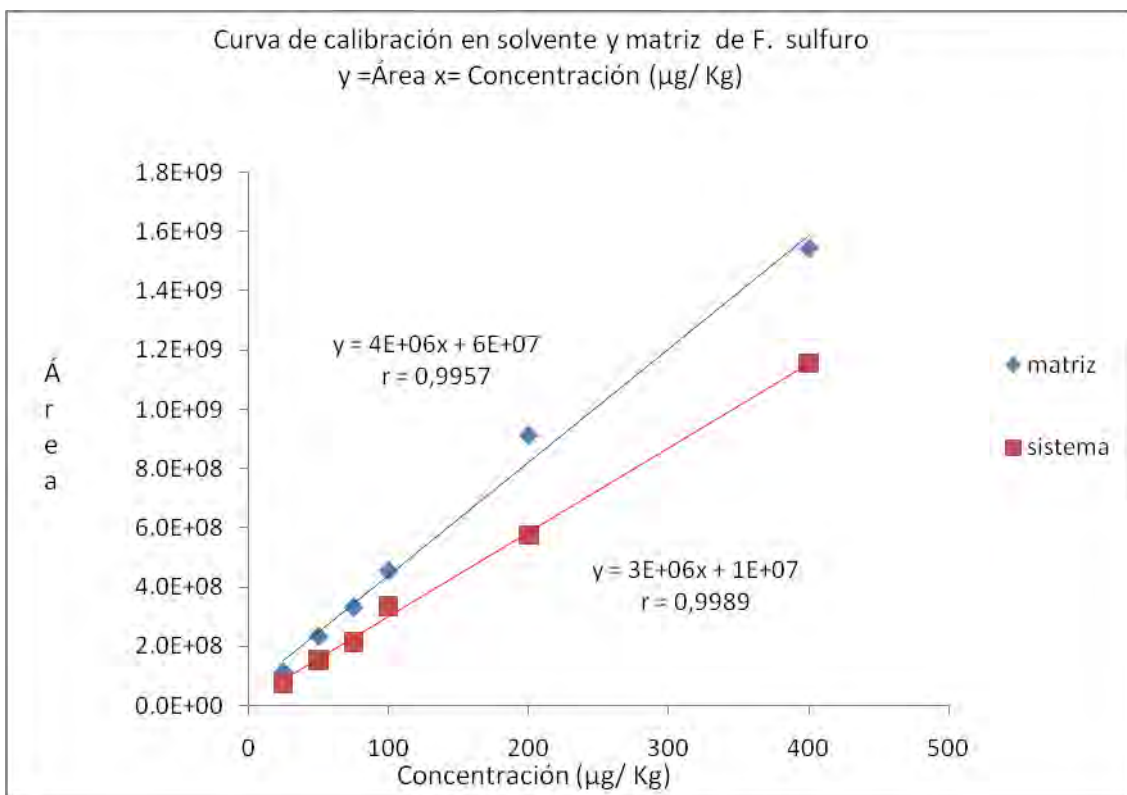


Figura 6. Curva de calibración de Fipronil.

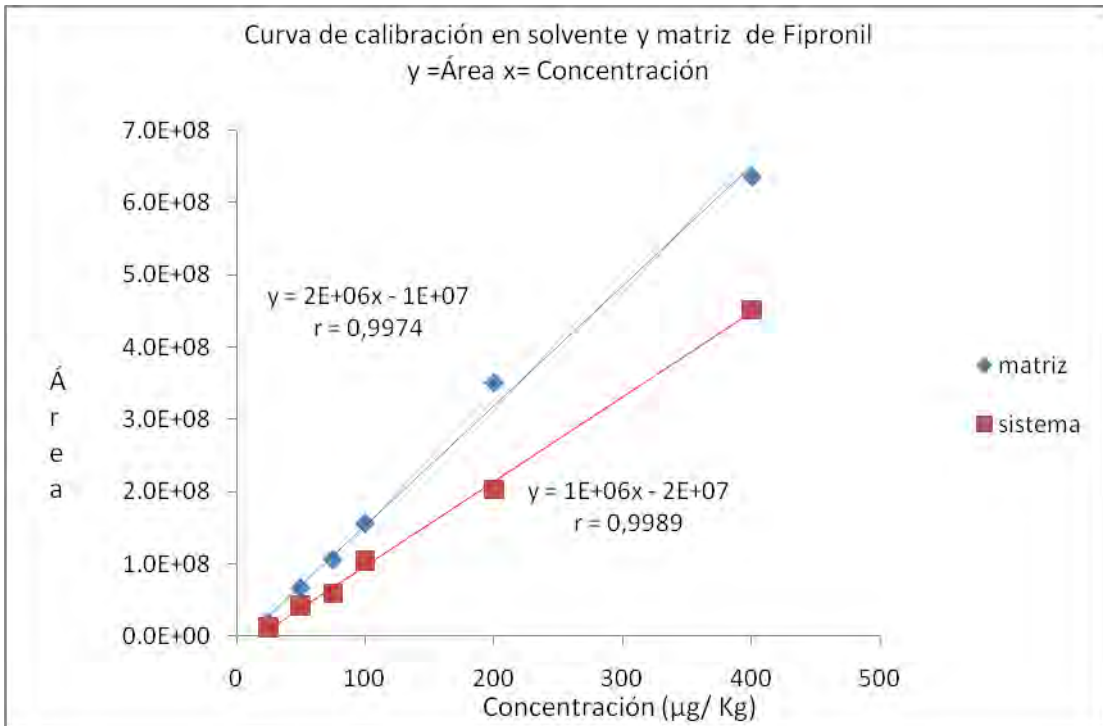
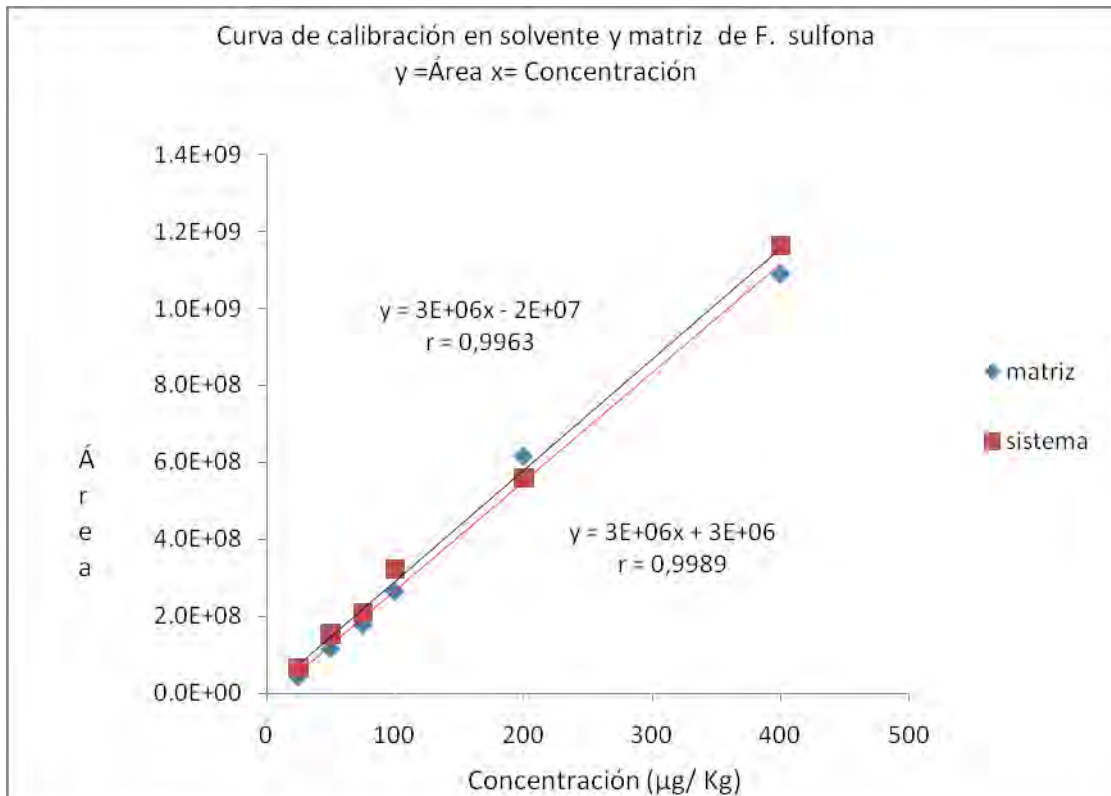


Figura 7. Curva de calibración de F.sulfona.



Los promedios de recobro de la metodología para todos los compuestos obtenidos de los puntos control a concentraciones de 35, 90 y 300 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) fueron 103.45 ± 8.31 , 96.97 ± 3.37 y 103.17 ± 0.85 respectivamente (**Tabla 9**).

Tabla 9. Porcentaje de recobro de la metodología para Fipronil y sus productos de degradación a concentración baja, intermedia y alta en matriz fortificada.

		35 $\mu\text{g}/\text{kg}$	90 $\mu\text{g}/\text{kg}$	300 $\mu\text{g}/\text{kg}$
F. desulfínil	Recobro (%)	103.1 ± 7.6	92.37 ± 6.59	104.42 ± 6.8
F. sulfuro		92.83 ± 7.02	100.1 ± 7.25	103.14 ± 7.6
Fipronil		102.83 ± 8.1	97.53 ± 5.4	102.69 ± 8.77
F. sulfona		113.82 ± 9.1	97.9 ± 5.9	102.44 ± 8.85

* Criterios de aceptación establecidos en la guía AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 2000, para porcentajes de recobro: $> 10 \mu\text{g}/\text{kg} \leq 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ de 70 a 120% y para $> 100 \mu\text{g}/\text{kg} \leq 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$ de 70 a 110%.

*Los datos presentados son la media \pm L.C. 95 %. n=5.

El promedio de los coeficientes de variación para evaluar la precisión de la metodología (repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio) se encuentran en la tabla 10 y 11, encontrando que el método cumple con los parámetros, esto en base a los criterios de aceptación de Horwitz (1982), estableciendo que el método está estandarizado y las variaciones son aceptables en los diferentes días en que se realizó.

Cada uno de los valores obtenidos para evaluar los parámetros de validación del método analítico desarrollado, se encontraron dentro de los criterios de aceptación de la guía AOAC/FAO/IAEA/IUPAC (2000).

Tabla 10. Precisión del método expresada como repetibilidad, comparando los Coeficientes de Variación (C.V.) obtenidos con los C.V. aceptables.

• **Sistema**

Concentración (µg/kg)	F. desulfínil	F. sulfuro	Fipronil	F. sulfona	C.V aceptable
25	15.23	5.54	18.25	13.37	13.93
50	2.09	1.91	4.06	2.75	12.55
75	1.91	1.28	2.58	2.81	11.81
100	5,45	3.34	5.56	2.77	11.31
200	5.1	1.62	9.19	2.17	10.19
400	2.33	1.17	1.72	0.92	9.18

• **Matriz Fortificada**

Concentración (µg/kg)	F. desulfínil	F. sulfuro	Fipronil	F. sulfona	C.V aceptable
25	10.54	9.98	10.96	6.2	13.93
50	16.69	14.29	18.62	14.59	12.55
75	5.06	0.72	1.82	0.94	11.81
100	6.04	5.34	4.19	9.58	11.31
200	3.9	3.14	3.58	3.16	10.19
400	7.89	6.75	7.61	6.78	9.18

* Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. Analytical Chemistry, 54, 185-190 pp.

Tabla 11. Precisión expresada como reproducibilidad intralaboratorio, comparando los Coeficientes de Variación (C.V.) obtenidos con los C.V. aceptables.

• **Sistema**

Concentración (µg/kg)	F. desulfinil	F. sulfuro	Fipronil	F. sulfona	C.V. aceptable
25	18.58	16.11	12.54	17.72	18.58
50	16.74	14.79	8.96	0.9	16.74
75	15.75	15.22	15.79	3.58	15.75
100	15.08	8.45	11.06	2.73	15.08
200	13.58	13.92	6.67	4.26	13.58
400	12.24	5.31	23.28	2.39	12.24

• **Matriz Fortificada**

Concentración (µg/kg)	F. desulfinil	F. sulfuro	Fipronil	F. sulfona	C.V. aceptable
25	15.71	12.06	14.81	18.46	18.58
50	4.99	4.72	12.71	12.04	16.74
75	9.9	3.68	7.51	15.41	15.75
100	10.91	7.85	5.36	8.19	15.08
200	11.57	9.57	10.18	10.14	13.58
400	4.83	3.07	7.83	8.13	12.24

*Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, 54, 185-190 pp.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

5.2 Cuantificación de Fipronil y los Productos de degradación en muestras

Se evaluaron muestras de suelo del sitio denominado Bagre Huasteco en el municipio de Tamuín, con la finalidad de determinar la utilidad de la metodología desarrollada. Se obtuvieron 19 muestras compuestas de suelo, de las cuales se encontró presencia de los productos F. desulfínil y F. sulfona. Las concentraciones de F. desulfínil están por debajo de 9.82 µg/kg, mientras que F. sulfona se encontraron siete muestras por debajo de 10.66 µg/kg, 4 muestras entre 10.66 y 21.54 µg/kg y una muestra con 25.97 µg/kg ± 12.97 µg/kg, los resultados se encuentran en la **tabla 12**.

Tabla 12. Resultados de concentraciones de Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo de el Bagre Huasteco.

		Concentración µg/kg			
		Fipronil	F. desulfínil	F. sulfuro	F. sulfona
Muestreo sistemático	A1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOC
	A3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOC
	A4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	B1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	B2	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	B3	-	-	-	-
	B4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	C1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	C2	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	C3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	C4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	D1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOC
	D2	< LOD	< LOD	< LOD	25.97 ±12.97
	D3	-	-	-	-
D4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOC	
Muestreo dirigido	Huerta de Frijol 1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Huerta de Frijol 2	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Suelo Criadero	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	sedimento del Poza # 9	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	sedimento del Poza # 4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

< LOC

Menor al Límite de Cuantificación

< LOD

Menor al Límite de Detección

LOD de F. desulfínil

9.82 µg/kg

LOD de F. sulfona

10.66 µg/kg

LOC de F. desulfínil

19.83 µg/kg

LOC de F. sulfona

21.54 µg/kg

Capítulo VI

6. Discusión

El insecticida Fipronil es utilizado para el control de la plaga de la langosta en la Huasteca Potosina por su selectividad, potencia y baja persistencia. Ha mostrado ser altamente tóxico para especies polinizadoras como las abejas y algunas especies acuáticas, por lo que puede provocar un riesgo ecológico, como los ocurridos en Estados Unidos con la disminución de poblaciones de crustáceos y en Francia con la mortandad masiva de abejas (Maurin 1999; Bedient *et al.* 2005). Por otra parte, otros estudios de impacto ecotoxicológico por las aplicaciones emergentes de Fipronil (Adonis 7.5) contra la langosta en Madagascar, mostraron efectos adversos en las termitas (*Coptotermes spp.*), que fueron severos y persistentes. Además, señalan problemas a corto plazo en varios grupos de invertebrados, en especies de lagartijas (*Mabuya elegans*) y en varias especies de pájaros entre ellos el devorador de abejas de Madagascar (Tingle y McWilliam, 1999). Por otro lado, los productos de degradación de Fipronil han mostrado pérdida de selectividad ante mamíferos y resultan más potentes que el compuesto original, aumentando el riesgo para las especies susceptibles ya que estos compuestos además son más persistentes que Fipronil.

El uso de Fipronil ha ido en aumento en zonas agrícolas de la Huasteca Potosina por la proliferación de la plaga de la langosta, debido a que esta región al encontrarse entre la planicie costera y las sierras bajas presenta condiciones óptimas para el desarrollo de la langosta (Aceves, 2009).

Existen diferentes metodologías de extracción desarrolladas para la cuantificación de Fipronil y sus productos de degradación en suelo (Tabla 13). La técnica de extracción por sonda de ultrasonidos focalizada (FU), ha mostrado ser una atractiva alternativa analítica ya que obtiene altos porcentajes de recobro y disminuye hasta un 70, 82 y 96 % de solvente y un 97.5, 90, y 99.7 % en tiempo con respecto a metodologías de Baño Ultrasónico (BU), Extracción en Fase Sólida (SPE) – Extracción Líquido- Líquido (SLL) y Soxhlet

“Evaluación ambiental del Fipronil”

respectivamente (Bobe *et al.*, 1998, Lin *et al.*, 2008, Mohapatra *et al.*, 2010). Esto se debe al mecanismo de acción de la sonda ultrasónica, ya que este sistema causa un fenómeno de cavitación, provocando micro fisuras sobre la superficie del sólido lo que permite extraer los compuestos absorbidos y adsorbidos con menor volumen y tiempo (Capelo *et al.*, 2005).

Los límites de detección obtenidos por metodología empleando la FU son mayores que los obtenidos por Lin *et al.* (2008) con el BU (5 µg/kg) y Mohapatra *et al.*, (2010) con la SLL (10 µg/kg), sin embargo no existen reportes que a concentraciones menores a los LOD obtenidos en el presente trabajo puedan causar un daño toxicológico, por lo que el método es de utilidad y presenta ventajas disminuyendo la generación de residuos (**Tabla 15**).

Tabla 13. Comparación de LOD y LOC de Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo.

Autores	Método de extracción	LOD/LOC (µg/kg)				Técnica de cuantificación
		Fipronil	F. Desulfinitil	F. Sulfona	F. Sulfuro	
Lin <i>et al.</i> ,2008	BU	5 / NR				GC-ECD
Mohapatra <i>et al.</i> , 2010	SLL	NR / 10				GC-ECD
Metodología desarrollada	FU	14.6 / 22.4	9.8 / 19.8	10.6 / 21.5	8.8 / 17.9	GC-ECD

SLL Extracción Líquido-Líquido
 B.U. Baño Ultrasónico
 FU Sonda ultrasónica focalizada
 LOD Límite de Detección
 LOC Límite de Cuantificación
 NR No reportado

La metodología presenta un intervalo lineal de 25 a 400 µg/kg para Fipronil y sus productos de degradación, lo que significa que la respuesta es linealmente proporcional a la concentración del analito, permitiendo cuantificar concentraciones bajas, intermedias y altas, demostrando que la metodología es útil en muestras de sitios para determinar las concentraciones.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Cuando se requiere analizar compuestos químicos en muestras ambientales, se debe tener en cuenta que la matriz ambiental contiene otros componentes, que pueden causar interferencias en la cuantificación de los analitos de interés. En este caso, en la cuantificación del Fipronil y sus productos de degradación en sistema y matriz fortificada, se observa interferencia de matriz ya que existe mayor sensibilidad cuando se realiza la curva de calibración en matriz que en sistema, esto ha sido observado en muchas otras matrices y se especula que los compuestos co-extraídos probablemente protejan al analito del estrés térmico y eviten la adsorción en los sitios activos del sistema cromatográfico, principalmente en el puerto de inyección del cromatógrafo (Erney *et al.*, 1993, Hajslova *et al.*, 1998).

La aplicación de la metodología en muestras reales fue realizada con el objetivo de demostrar que el método analítico es conveniente para cuantificar Fipronil y sus productos de degradación en muestras de suelo. La confiabilidad de los resultados está sustentada por los parámetros de validación, ya que se encontraron dentro de los criterios de aceptación reportados en la guía de validación para métodos analíticos en la determinación de compuestos orgánicos en niveles trazas (AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 2000) y los coeficientes de variación aceptables (Horwitz, 1982).

Se realizó el análisis en muestras de suelo del predio “El Bagre Huasteco” del municipio de Tamuín. En las muestras no se detectó la presencia de Fipronil y F. sulfuro, esto se debe a que Fipronil tiene un tiempo de vida media corto de 4.1 h por fotodegradación y de 8 a 9 d por degradación microbiana, además la persistencia de este insecticida disminuye considerablemente en climas cálidos como es el caso de la Huasteca Potosina con una temperatura media anual de 24-26 °C (Conelly, 2001). Por otra parte, Fenet *et al.*, (2001) han demostrado la degradación en suelos de condiciones tropicales en los cuales el Fipronil es transformado a los productos de degradación F. desulfinil y F. sulfona en concentraciones equitativas, estas características concuerdan con el trabajo realizado por Bobe *et al.*, (1998) encontrando que en suelos de Senegal, se forman rápidamente los productos obtenidos por fotodegradación y oxidación, después de este procedimiento de rápida transformación el proceso se

“Evaluación ambiental del Fipronil”

estabiliza y los productos desaparecen lentamente, ya que en el caso del producto F. desulfinil no es degradado por la luz UV ya que por su alto Koc ocurre un efecto protector de partículas de suelo (Hebert y Miller, 1990).

En el suelo del predio Bagre Huasteco se encontraron los productos obtenidos por fotodegradación (F. desulfinil) y oxidación (F. sulfona), que son los más persistentes y menos selectivos entre artrópodos y mamíferos (Hainzl, 1998). Hasta el momento no existen reportes que a las concentraciones encontradas se observen un daño a las especies de insectos o humanos, sin embargo es importante señalar que los resultados evidencian que los productos F. desulfinil y F. sulfona presentan persistencia en el tipo de suelo de la Huasteca Potosina.

Por otro lado, al ser estos compuestos fuertemente unidos a partículas de suelo y materia orgánica, estos pueden estar unidos por un periodo largo de tiempo y ser transportados hacia sistemas hidrológicos y dado a las características descritas del sitio en cual presenta un elevado riesgo de inundación, se corre el riesgo al utilizar Fipronil, ya que puede contaminar los pozos de criadero de tilapia (*Oreochromis niloticus*) siendo esta especie susceptible a este insecticida con LC₅₀ (96 h) de 42 µg/L .

Tabla 14. Técnicas de extracción de Fipronil y sus productos de degradación en suelo.

Autores	Método de extracción	Muestra (g)	Solvente	Volumen (mL)	tiempo (min)	Concentración $\mu\text{g}/\text{kg}$	Porcentaje de recobro (%)				
							Fipronil	F. desulfenil	F. sulfona	F. sulfuro	
Bobe <i>et. al.</i> , 1998	SPE/SLL	1	Acetonitrilo:Acetona 70:30	40	60	2500	85 \pm 3	90 \pm 5	-	-	GC-MS
						50	94 \pm 8	-	-		
Vilchez <i>et. al.</i> , 2001	BU - SPME	0.5	Acetonitrilo	1.5	60	100	92 \pm 13	-	-	-	GC-MS
						300	95.3 \pm 8.6	-	-		
Lin <i>et. al.</i> , 2008	BU	20	Acetona: Cloruro de Metileno 1:1	70	15	50	89-106 \pm 6.7				GC-ECD
Mohapatra <i>et. al.</i> , 2010	SLL	100	Acetonitrilo- Acetona 70:30	300	-	10	92.11 \pm 0.02	93.26 \pm 1.2	92.33 \pm 2.25	91.9 \pm 3.6	GC-ECD
			Hexano-Ac. Etilo 1:1	50	1000	95.3 \pm 0.1	93.80 \pm 1.2	95.78 \pm 2.58	93.0 \pm 1.5		
					35	102.8 \pm 8.2	103.1 \pm 7.7	113.82 \pm 9.12	92.8 \pm 7.0		
Flores <i>et. al.</i> , 2010	Sonda ultrasónica focalizada	1	Acetona	12	6	90	97.5 \pm 5.4	92.4 \pm 6.6	97.9 \pm 5.95	100.1 \pm 7.3	GC-ECD
						300	102.7 \pm 18.6	104.4 \pm 12.9	102.44 \pm 13.68	103.14 \pm 16.97	
SPE	Extracción en Fase Sólida										
SLL	Extracción Líquido-Líquido										
B.U.	Baño Ultrasónico										
\pm	LC 95%										

Capítulo VII

7. Conclusiones

La decisión de usar Fipronil en la Huasteca Potosina debe ser objeto de una cuidadosa consideración cuando existe la posibilidad de contaminación del medio ambiente acuático, ya que este producto químico es altamente tóxico para algunos peces e invertebrados acuáticos y para épocas de floración donde utilizan colmenas de abejas. En general, parecería imprudente utilizar un insecticida a base de Fipronil sin un monitoreo ambiental que acompañe su uso en regiones o países donde no ha sido empleado antes y donde su uso puede llevar a que el producto químico se introduzca en el medio ambiente.

Se desarrolló un método por Cromatografía de Gases con detector de Captura de Electrones acoplado a una técnica de extracción rápida y confiable que nos permite cuantificar Fipronil y sus productos de degradación en suelo.

Con la sonda de Ultrasonidos Focalizados se puede alcanzar la misma eficiencia de extracción que los métodos convencionales como SPE y LLE, la principal ventaja de esta metodología es la reducción de costos en el análisis por la reducción en el tiempo de análisis y el consumo de solvente, además de ser un procedimiento con menor cantidad de residuos generados.

Capítulo VIII

8. Futuras Líneas de investigación

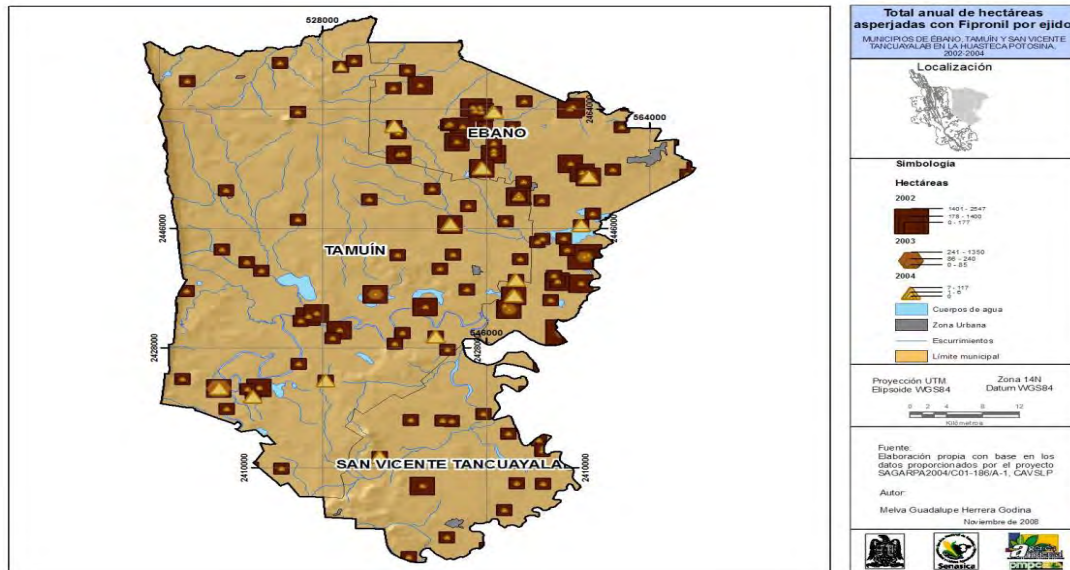
Debido a la efectividad de Fipronil contra plagas en zonas agrícolas y urbanas el uso de este insecticida seguirá en aumento. Es evidente que la mayor degradación se llevará a cabo en las regiones agrícolas por la exposición directa a medios ambientales representando un riesgo mayor ya que los productos de degradación son más tóxicos que el compuesto original, por lo que se propone establecer un monitoreo ambiental de este insecticida en la Huasteca Potosina e identificar zonas con mayor riesgo de contaminación en zonas acuáticas y agrícolas.

Por otro lado, es importante realizar la evaluación en las en el interior de las casas de las zonas urbanas utilizando la metodología desarrollada en esta tesis, ya que de acuerdo a reportes en Estados Unidos se han cuantificado concentraciones de Fipronil total (Fipronil, F. desulfinitil y F. sulfuro) en polvos de casa de hasta 1320-14200 µg/kg. Esto debido a que el Fipronil es el insecticida más efectivo y popular para el control de pulgas en perros y gatos y en el control de termitas (Mahler *et. al.*, 2009). Estos datos ayudarían a evaluar rutas de exposición en humanos de este insecticida y sus productos de degradación ya que aún no se cuenta con estos estudios.

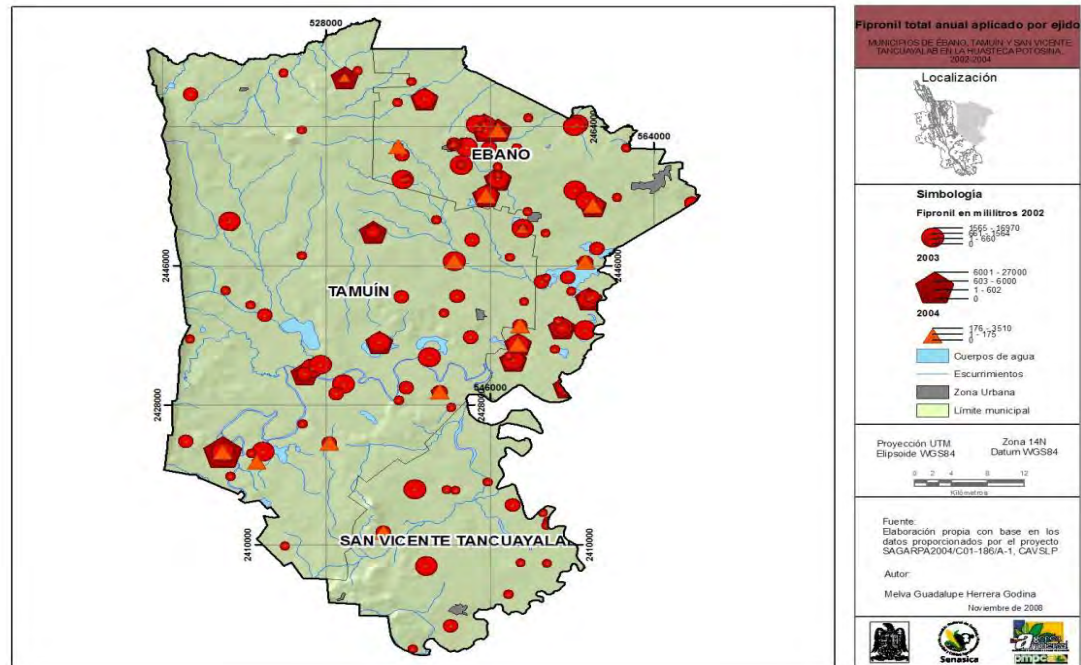
Para disminuir los volúmenes utilizados por la sonda de Ultrasonidos Focalizada puede acoplarse con la técnica desarrollada por Vilchez *et. al.*, (2001) con Micro Extracción en Fase Sólida (SPME) disminuyendo volúmenes de extracción, tiempo y manipulación de muestra. Estas metodologías se pueden utilizar para Fipronil y sus productos además de una amplia variedad de compuestos que sean cuantificados por Cromatografía de Gases, constituyendo una metodología con menor cantidad de costos y desechos.

Capítulo IX

9. Anexos

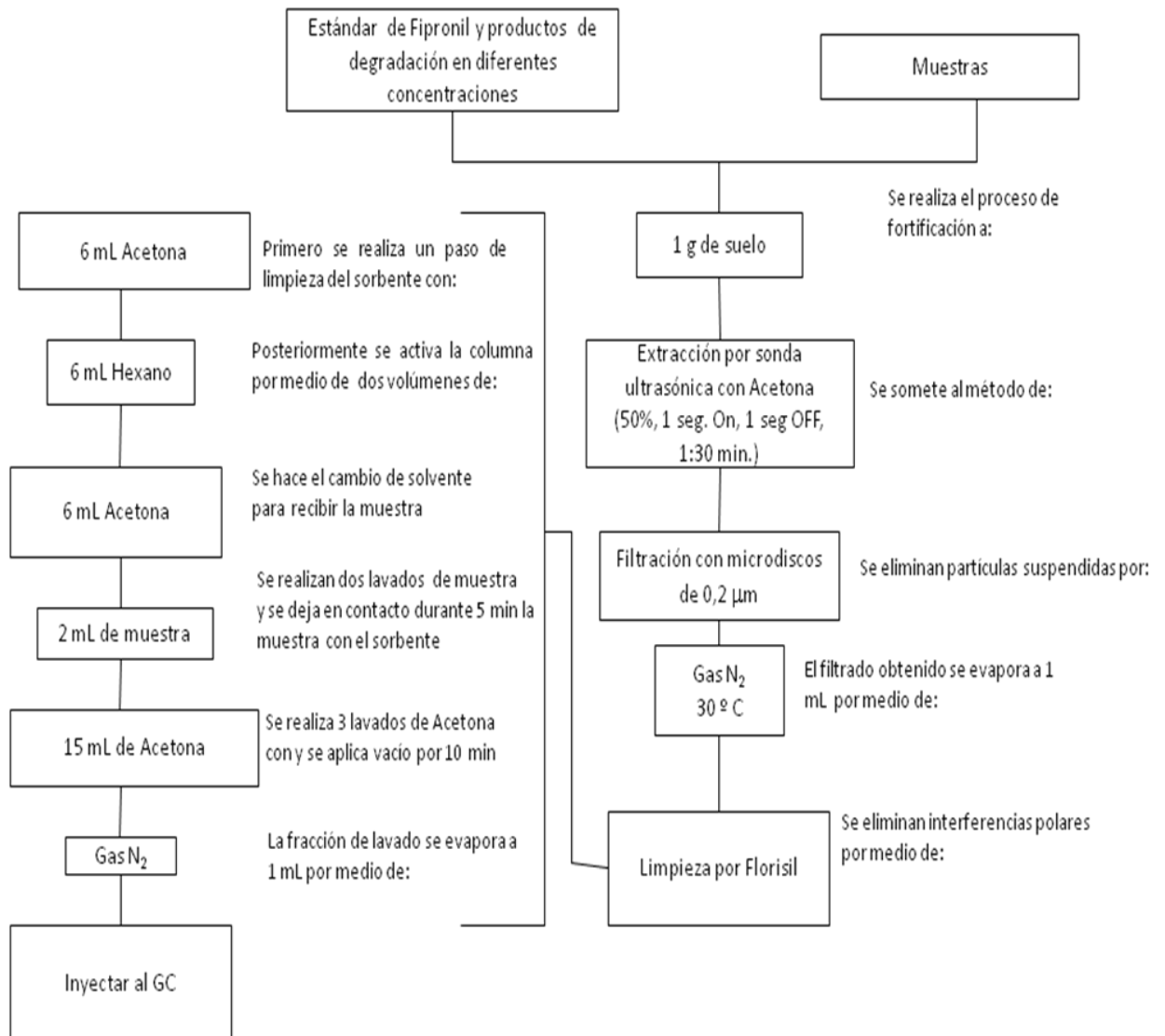


Mapa 1. Extensión territorial (ha) de uso de Fipronil del año 2002-2004 en los municipios de Ebanó, San Vicente Tancuayalab y Tamuín (Herrera Godina, 2009).



Mapa 2. Volumen utilizado de Fipronil (mL) del año 2002-2004 en los municipios de Ebanó, San Vicente Tancuayalab y Tamuín (Herrera Godina, 2009).

Esquema 1. Procedimiento general aplicado a la curva de calibración en matriz y muestras de suelo.



Referencias

- Aajoud, A., Ravanel, P., & Tissut, M. (2003). Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1347-1352.
- Aceves de Alba, J. (2009). Evaluación del Riesgo por la presencia de la langosta centroamericana (*Schistocerca piceifrons piceifrons* W.) en la Huasteca Potosina apoyado en SIG y Evaluación Multicriterio. *Tesis de maestría*. San Luis Potosí, UASLP, PMPCA.
- Ali, A., Nayar, J. K. y Gu, W. D. (1998). Toxicity of a phenylpyrazole insecticide fipronil, to mosquito and chironomid midge larvae in the laboratory. *J. Am. Mus. Control Assoc.*, 14, 216-218.
- Aliouane, Y, el Hassani, A., Gary, C., Armengaud, V., Lambin, M., y otros. (2009). Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effect on behavior. *Environ. Tox. Chem.*, 28, 113-122.
- AOAC/FAO/IAEA/IUPAC. (2000). Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals.
- Balança, G. y del Visscer, M. (1997). Effect of very low doses of fipronil on grasshoppers and non-target insects following field trials for grasshopper control. *Crop. Prot.*, 16, 553-564.
- BASF, Agricultural Products. (2005). *Fipronil worldwide technical bulletin*. Recuperado el 19 de Enero de 2009, de http://www.agro.basf.com/p02/AP-Internet/en_GB/function/conversions:/publish/upload/15377_Fipronilo_tech_bro.pdf.
- Bedient P., Horsak R. D., Schlenk D., Hovinga R. M. y Pierson J. D. (2005) Environmental Impact of Fipronil to the Louisiana Crawfish Industry. *Environ. Foren.* 6, 289–299.
- Bobe, A., Cooper, J. F., y Coste, C. M. (1997). Factors influencing the adsorption of fipronil on soils. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 4861-4865.
- Bobe, A., Cooper, J. F., Coste, C. M. y Muller, M. A. (1998). Behavior of fipronil in soil under Sahelian plain field conditions. *Pestic Sci.*, 52 (3), 275-281.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Bocksh, S. (2004). Assessment of side effects of Reg. No. 4673253 (MB46136) to the honeybee *Apis mellifera* L. in the Laboratory. 3 (no. 1027274) . Final Addendum to the Draft Assessment Report (DAR).

Bonilla Angeles V.O. (2007) Establecimiento de una granja acuícola (estanques y jaulas flotantes) en el predio “El bagre Huasteco” anexo al río Tampoan municipio de Tamuín S.L.P. Reporte Manifestación de impacto ambiental, sector pesquero-acuícola. Servicios técnicos, forestales y ambientales de la Huasteca. Vol. 2, 1, 190 pp.

California Department of Pesticide Regulation. (2006). www.cdpr.ca.gov/docs/pur/pur06rep/chmrpt06.pdf. Recuperado el 19 de enero de 2009, de www.cdpr.ca.gov/docs/pur/pur06rep/chmrpt06.pdf

Capelo, J., Galesio, M., Felisberto, G., Vaz, C. y Costa Pessoa, J. (2005). Micro-focused ultrasonic solid-liquid extraction (mFUSLE) combined with HPLC and fluorescence detection for PAHs determination in sediments: optimization and linking with the analytical minimalism concept. *Talanta* (66), 1272-1280.

Cary, T. L., Chandler, G., Volz, D. C., Walse, S. y Ferry, J. L. (2004). Phenylpyrazole Insecticide Fipronil Induces Male Infertility in the Estuarine Meiobenthic Crustacean *Amphiascus tenuiremis*. *Environ. Sci. Technol.* , 38, 522-528.

Chodorowski, Z. y Sein, J. (2004). Accidental Dermal and Inhalation Exposure with Fipronil—A Case Report. *J. of Toxicol.*, 42 (2), 189–190.

Cole, L. M., Nicholson, R. A. y Casida, J. E. (1993). Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA- gated chloride channel. *Pestic. Biochem. Physiol.* , 40 (1), 47-54.

Collins, H. L. y Callcott, A. M. (1998). Fipronil: an ultra-low-dose bait toxicant for control of red imported fire ants (Hymenoptera: formicidae). *Florida Entomol* , 81, 407-415.

Connelly, P. (2001). Environmental Fate of Fipronil. 1-17. California: Environmental Protection Agency.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Das, P., Cao, Y., Cherrinton, N., Hodgson, E., & Rose, R. L. (2006). Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. *Chem Biol Interact.*, 164, 200-214.

Dulaurent, S., Moesch, C., Marquet, P., Gaulier, J.-M., & Lachâtre, G. (2010). Screening of pesticides in blood with liquid chromatography–linear ion trap mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.*, 396, 6, 2235-2249.

Environment Protection Agency (EPA) (1997). Human Health Risk Assessment for Fipronil. *Incorporating the IR-4 section 3 petition for registration on Onion and Shallot Seed (dry bulb) and a proposed permanent tolerance on tuberous and cornvegetables and crop group 1C.* Washington D.C.

Environmental Protection Agency (EPA) (1996). *New pesticide fact sheet – fipronil.* EPA 737-F-96-005. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Washington D.C.

Erney, D., Gillespie, A., Gilvydis, D., & Poole, C. (1993). Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. *Journal of Chromatography A.*, 638 (1), 57-63.

Fenet H., E. Beltran E., Gadj B., Cooper J.F. y Coste C.M. (2001). Fate of a Phenylpyrazole in Vegetation and Soil under Tropical Field Conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1293-1297.

Food and Agriculture Organization/ World Health Organization (FAO/WHO). (2001). *Pesticide residues in food.* Report of the 2001 Joint FAO/WHO meeting on pesticides residues, Geneva.

Food and Agriculture Organization (FAO). (2003). *Global Food security and the role of sustainable fertilization.* Roma, Italia.: Organización de Naciones Unidas.

Forest Stewardship Council A.C. (2007). *FSC Pesticides Policy: guidance on implementation.* Policy and Standards Program. Bonn, Germany: Forest Stewardship Council, A.C.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Garza Urbina, E. (2005). *La langosta Schistocerca piceifrons piceifrons y su manejo en la planicie Huasteca*. Recuperado el 04 de enero de 2009, de www.oeidrusportal.gob.mx.

Gunasekara, A., y Troung, T. (2007). *Environmental Fate of Fipronil Environmental Monitoring Branch*. Environmental Protection Agency, Department of Pesticide Regulation. Sacramento, U.S.A.: Environmental Monitoring Branch.

Hainzl, D. y Casida, J. (1996). Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 93, 12746-12767.

Hainzl, D. (1998). Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. *Chem. Res. Toxicol.* , 11 (12), 1529-1535.

Hajslova, J., Holadová, K., Kocourek, V., y Poustka, J. (1998). Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. *Journal of Chromatography A* , 800 (2), 283-295.

Hamon, N., Gamboa, H., y Garcia, J. (1996). Fipronil: a major advance for the control of boll weevil in Columbia. *Cotton insect research and control conference*, 2, 990-994 pp. Nashville TN.

Hebert, V. R. y Miller, G. C. (1990). Depth dependence of direct and indirect photolysis on soil surfaces. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 913-918.

Henderson, G., y Forschler, B. (1997). Termite bait tests Louisiana Agriculture. 40, 9-11.

Herrera Godina, M. G. (2009). Utilización de los Sistemas de Información Geográfica para el estudio de la vulnerabilidad en los municipios de Ebano, Tamuín y San Vicente Tacuayalab ante la ruta de exposición del plaguicida Fipronil. *Tesis de maestría, San Luis Potosí, PMPCA-UASLP* , 156.

Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Anal. Chem.* 54, 185-190.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Hosie, A., Sattlle, D., Aronstein, K., & French-Constant, R. (1997). Molecular biology of insect neuronal GABA receptors. *Trends Neurosci.* , 20, 578-583.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (2005). Recuperado el 04 de enero de 2009, de www.oaidrusslp.gob.mx/modulos/tecnologiasdesc.php?id=68

Jentsch, T., Stein, V., Weinreich, F., & Zdebik, A. (2002). Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol. Rev.* , 82, 503-568.

Kitulagodage, M., Astheimer, L. y Buttermer, W. (2008). Diacetone alcohol, a dispersant solvent, contributes to acute toxicity of a fipronil-based insecticide in a passerine bird. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 71 (2), 597-600.

Kolaczinski, J., y Curtis, C. (2004). Chronic illness as a result of low level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a review of the debate,. *Food Chem. Toxicol.* , 42 , 697-706.

Lin, K., Haver, D., Oki, L. y Gan J. (2008). Transformation and sorption of fipronil in urban stream sediments. *J Agr Food Chem.*, 56, 8594-8600.

Mahler, B., Van Metre, P. C., Wilson, J. y Musgrove, M. (2009). Fipronil and its Degradates in Indoor and Outdoor Dust. *Environ. Sci. Technol.* , 43, 5665-5670.

Maurin, G. (1999). Effet du traitement de semences REGENT TS vis-à-vis des abeilles pendant la floraison du tournesol. 2ème Partie: Expérimentation en plein champs. Reporte no. C019707. Final Addendum to the Draft Assessment Report (DAR). Vol. 3.

Miller, J. N. y Miller, J. C. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Prentice Hall.

Mohamed, F., Senaratha, L. y Percy, A. (2004). Acute Human Self-Poisoning with N- Phenylpirazole Insecticide Fipronil-a GABAA- Gated Chloride Channel Blocker,. *J. of Toxicol.*, 42 (7), 955-963.

Mohapatra, S., Deepa, M., Jagdish, G., Rashmi, N., Kumar, S. y Prakash, G. (2010). Fate of Fipronil and its Metabolites in/on Grape Leaves, Berries and Soil

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Under Semi Arid Tropical Climatic Conditions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 84:587–591.

Mukherjee, I. K. (2006). Sorption of Fipronil in Tropical Soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 76, 334–340.

Mulrooney, J. y Goli, D. (1999). Efficacy and degradation of fipronil applied to cotton for control of *Anthonomus grandis grandis* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.*, 92, 1364-1368.

Myce, S., Porter, S. y Dencheck, D. (2008). Influence of fipronil compounds and rice-cultivation land-use intensity on macroinvertebrate communities in streams of southwestern Louisiana, USA. *Environmental Pollution*, 152 (2), 941-503.

Nault, B., Straub, R., y Taylor, A. (2006). Performance of novel insecticide seed treatments for managing onion maggot (Diptera: Anthomyiidae) in onion fields. *Crop. Prot.*, 25, 58-65.

Nigm, K., Mabury, S., y Crosby, D. (2000). Elutidation of Fipronil Photodegradation pathways. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4661-4665.

Ngim, K., y Crosby, D. (2001). Abiotic processes influencing fipronil and desthiofipronil dissipation in california, USA, rice fields. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 972-977.

Overmyer, J., Rouse, D., Avants, J., Garrison, W., Lorenzo, M., Chung, K., y otros. (2007). Toxicity of fipronil and its enantiomers to marine and freshwater non-targets. *J. of Environmental Science and Health*, 42, 471-480.

Rhône-Poulenc Ag Company;. (1998). *Application for Registration. Volume No. 52062-071. Vol 1. Department of Pesticide Regulation.*. Environmental Protection Agency, Sacramento, CA.

Rojas de Arias, A. y Fournet, F. (2002). Fipronil Insecticide: Novel Application against Triatomine Insect Vectors of Chagas Disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97 (4), 535-539.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

Schlenk, D., Huggett, D., Bennett, E., Rimoldi, J., Beeler, A., Block, D., y otros. (2001). Toxicity of fipronil and its degradation products to *Procambarus* sp.: field and laboratory studies. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 325-332.

Stevens, M., Hellewell, S., & Warren, G. (1997). *Fipronil seed treatments for the control of chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in aerially-sown rice crops*. Recuperado el 04 de enero de 2009, de http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6M3T6RX6K5&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=0c22b0877e68915526a92305592f20e9.

Thang, J., Usmani, A., Hodgson, E., y Rose, R. (2004). In vitro metabolism of fipronil by human and rat cytochrome P450 and its interactions with testosterone and diazepam. *Chem. Biol. Interac.*, 147 (3), 319-329.

The British Crop Protection. (2000). *The Pesticide Manual*. Surrey, U.K.: C. D. S. Tomlin.

Tingle, C., y McWilliam, A. (1999). *Evaluation of short-term impact on non-target organisms of two pesticides used in emergency locust control in Madagascar*. Chatham: Final Report to DFID, Unpublished Report.

Tingle, C., Rother, J., Dewhurst, C., Lauer, S., & King, W. (2000). *Health and environmental effects of fipronil*. Recuperado el 04 de 01 de 2009, de Pesticides Network UK: <http://www.pan-uk.org/Publications/Briefing/Fipronil.pdf>

Tingle, C., Rother, J., Dewhurst, C., Lauer, S., & King, W. J. (2003). Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 176, 1-66.

Vílchez, J., Prieto, A., Araujo, L., y Navalón, A. (2001). Determination of fipronil by solid-phase microextraction and gas chromatography- mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 919, 215-221.

Ware, G. W. (2000). *The Pesticide Book*. (5 ed.). Fresno, CA: Thomson Publications.

“Evaluación ambiental del Fipronil”

White, G. L. (1998). Control of the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich.) and *Atta cephalotes* (L.) (Formicidae, Attini) with a bait of citrus meal and fipronil. *Int. J. Pest. Manag.*, 44, 115-117.

World Health Organization (WHO). (1999). Environmental Health Criteria. Geneva.

Ying, G. y Kookana, R. S. (2001). Sorption of fipronil and its metabolites on soils from south Australia. *J. Environ. Sci. Health. B.*, 36, 545-558.

Ying, G. y Kookana, R. (2002). Laboratory and field studies on the degradation of fipronil in a soil. *Aust. J. Soil Res.*, 25 (8), 1095-1102.

Zhu, G., Wu, H., Guo, J., & Kimaro, F. M. (2004). Microbial degradation of Fipronil in clay loam soil. *Water, Air and Soil Pollution*, 153, 35-44.

Zygmunt, C. y Jacek Sein, A. (2005). Accidental Dermal and Inhalation Exposure with Fipronil, A Case Report *Clinical Toxicology*,. *Clinical Toxicology*, 42 (2), 189-190.