

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY A LA DETECCIÓN DE Cl EN ACELGA PARA INFERIR LA PRESENCIA DE PLAGUICIDAS

APPLICATION OF THE LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY TECHNIQUE TO THE DETECTION OF Cl IN CHARD TO INFER THE PRESENCE OF PESTICIDES

L. J. Martino^{*1} y C. A. D'Angelo¹

¹Centro de Investigaciones en Física e Ingeniería del Centro de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA - CONICET - UNCPBA), Tandil, Argentina.

Recibido: 02/07/2020 ; Aceptado: 22/07/2020

Los residuos de plaguicidas en alimentos son una amenaza para su consumo. Sin embargo detectar los residuos en forma rápida y directamente sobre la muestra es un trabajo complejo. En este trabajo, se explora la aplicación potencial de la técnica Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) para la medición rápida de residuos de plaguicidas (imidacloprid, cipermetrina y clorpirifos) en hojas de acelga mediante el registro de la línea de emisión de Cl I (725.66 nm). Pueden observarse diferencias significativas con respecto a la muestra control, evidenciando la aplicabilidad de esta técnica como una potencial herramienta para el estudio de residuos de plaguicidas en matrices de alimentos.

Palabras clave: Laser Induced Breakdown Spectroscopy, cloro.

Pesticide residues in food are a threat to consumption. However, detecting residues quickly and directly on the sample is a complex job. In this work, the potential application of the Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) technique for the rapid measurement of pesticide residues (imidacloprid, cypermethrin and chlorpyrifos) in chard leaves is explored by registering the chlorine emission line (725.66 nm). Significant differences can be observed with respect to the control sample, evidencing the applicability of this technique as a potential tool for the study of pesticide residues in food matrices.

Keywords: Laser Induced Breakdown Spectroscopy, chlorine.

<https://doi.org/10.31527/analesafa.2020.31.4.135>



ISSN 1850-1168 (online)

I. INTRODUCCIÓN

La técnica LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy) es una técnica de diagnóstico sencilla. Se trata de enfocar radiación láser dentro o en la superficie del medio en estudio, provocando una ruptura dieléctrica originada por el fuerte campo eléctrico del pulso láser, que da información respecto de los componentes del medio en cuestión [1-3]. En el microplasma formado se alcanzan temperaturas de algunos eV y se obtienen densidades electrónicas altas, del orden de 10^{17} electrones/cm³. En esas condiciones el material se separa en sus componentes atómicos con alto grado de ionización produciendo emisión intensa de luz, que puede ser analizada espectralmente para la detección de las líneas de emisión características de los elementos que constituyen la muestra analizada.

El análisis de las líneas espectrales de emisión, propias de cada elemento, proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre las especies presentes en el plasma (iones, átomos neutros y moléculas simples). La técnica LIBS posee la capacidad de realizar mediciones rápidas, in-situ y de varios elementos simultáneamente, requiriendo muy poca o ninguna preparación previa de las muestras a analizar. Sin embargo, existen ciertos elementos cuya detección a presión

atmosférica es compleja, como es el caso de los halógenos. Esta dificultad, es debida a las altas energías de los niveles electrónicos excitados. Para la detección de halógenos se utilizan algunas técnicas, tales como la espectroscopía de absorción atómica (AAS), la espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), la fluorescencia de rayos X (XFR), no obstante estas técnicas suelen consumir una gran cantidad de tiempo, y la detección de Cl resulta compleja.

La detección de residuos de pesticidas en las superficies de alimentos mediante la técnica LIBS es un nuevo método. Debido a que los plaguicidas poseen algunos elementos específicos, sus residuos pueden medirse por inferencia de los elementos presentes. En este trabajo, se estudia un método de detección de plaguicidas en la superficie de acelgas, cuyo elemento utilizado para su detección es el registro de la línea de emisión de Cl I (725.66 nm). La detección se realiza bajo condiciones de baja presión, en una celda realizada para tal fin.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Los plaguicidas en los cuales se va a detectar la presencia de Cl son: clorpirifos (C₉H₁₁Cl₃NO₃PS), imidacloprid (C₉H₁₀ClN₅O₂) y cipermetrina (C₂₂H₁₉Cl₂NO₃), los mis-

* lumartino91@gmail.com

mos son utilizados como insecticidas en la producción de cultivos.

Preparado de muestras

Para este estudio se seleccionaron muestras de acelga (*Beta vulgaris* var. Cicla) obtenidas de una huerta donde se lleva a cabo una producción orgánica, sin la aplicación de plaguicidas o fertilizantes que pudieran provocar interferencias en las mediciones.

Para preparar las muestras contaminadas con los diferentes plaguicidas, las acelgas frescas se sometieron a un lavado bajo agua de red con el fin de eliminar restos de suciedad y microorganismos que pudieran quedar sobre la superficie. Luego se procedió a un lavado con agua destilada, y se secaron en un horno a 60°C hasta peso constante. Una vez obtenida una muestra seca, ésta fue pulverizada y tamizada bajo un tamiz de 60 mesh (250 μm) para obtener tamaños de partículas homogéneos. Luego, 2.5 g de acelga pulverizada fue mezclado y homogeneizado con 0.75 mL de cada plaguicida y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se prepararon pellets mediante un compactador a 100 MPa por 1 min, con un tamaño aproximadamente de 3 cm de diámetro y 0.2 cm de espesor. Mediante este proceso también se preparó una muestra de acelga con agua destilada con fines de control.

Experimental LIBS

En la Fig. 1 se presenta un esquema del equipo experimental utilizado. Está constituido por un láser Nd:YAG Q-switched pulsado (Continuum Surelite II), que emite en la longitud de onda fundamental de 1064 nm, ancho de pulso ≈ 7 ns, con una tasa de repetición de 2 pulsos/s, y una energía 100 mJ/pulso.

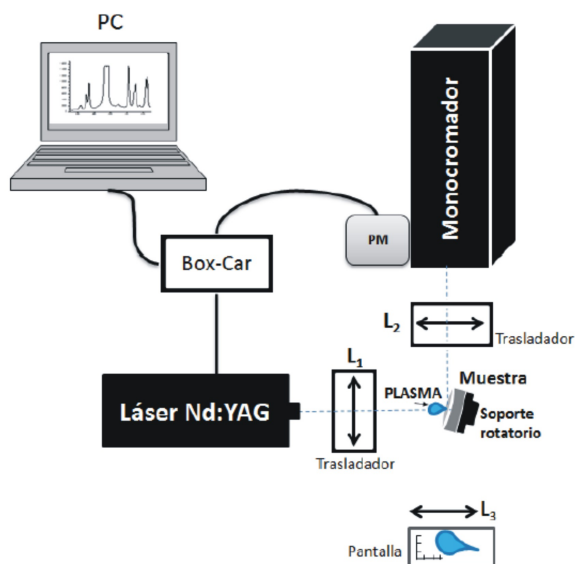


FIG. 1: Esquema experimental LIBS.

Los pulsos láser fueron enfocados sobre la superficie de las muestras a baja presión y en dirección normal, con una lente (L1) de 100 mm de longitud focal.

Las muestras a ser analizadas, se ubicaron en un soporte rotativo para evitar cráteres por ablación dentro de una celda para generar plasma a baja presión.

La luz emitida por el plasma es colectada mediante una segunda lente (L2) de 200 mm de longitud focal, que forma la imagen del plasma sobre la rendija de entrada de un monocromador (Jobin Yvon THR 1500, configuración Czerny-Turner, resolución de $R = 300000$ en doble pasaje a $\lambda = 300$ nm, longitud focal 1.5 m). La dispersión se produce mediante una red de difracción holográfica de 2000 líneas/mm. Por otro lado, también se tiene una imagen del plasma formada por una lente L3 sobre una pantalla para lograr un ajuste de alineación del plasma en forma visual.

La luz es detectada por un fotomultiplicador, (Hamamatsu modelo R928) colocado en la rendija de salida del monocromador. La señal eléctrica del fotomultiplicador es discriminada en el tiempo y promediada por un promediador Boxcar (Stanford Research System, módulos SR 250, SR 280). La señal registrada por el fototubo es resuelta temporalmente con determinados tiempos de retardo post-breakdown (coordinada con una señal trigger proveniente del láser) y tiempos de ventana adecuados. Luego es promediada (promedio por cada tres muestras), enviada a un convertidor analógico-digital, y finalmente es registrada por una PC.

La señal final registrada está dada por la intensidad de luz medida en la ventana temporal seleccionada. Para analizar una porción del espectro se hace un barrido de una determinada zona espectral, mediante la rotación de la red de difracción del monocromador con una velocidad adecuada. Esto permite hacer registros espectrales con una resolución óptima en función de la cantidad de disparos láser.

Esta configuración experimental es muy eficaz para análisis muy detallados, especialmente para el análisis de líneas muy débiles o difíciles de observar. Por otro lado, este arreglo permite el estudio de la física de plasmas específicamente cuando es necesario el estudio de perfiles de líneas.

Obtención de señales LIBS

En los trabajos encontrados en la literatura [4-6], demostraron que la detección de Cl en muestras se realiza mediante el estudio de la línea de emisión 837.6 nm, sin embargo en este trabajo se eligió estudiar la línea 725.66 nm debido a especificaciones del monocromador utilizado, el cual no permite la visualización de líneas por encima de los 800 nm.

En la Tabla 1, se puede observar la línea de emisión seleccionada de Cl I conjuntamente con sus datos espectroscópicos más importantes en la aplicación de la cuantificación por plasmas delgados [7].

TABLA 1: Información espectroscópica de la línea seleccionada para identificación de Cl en plaguicidas.

Elemento y estado de ionización	Línea [nm]	Probabilidad de transición [s^{-1}]	E_i [eV]	E_k [eV]	g_k
Cl I	725.66	1.5×10^7	8.92	10.63	4

El cloro al ser un halógeno es un elemento químico de compleja detección a presión atmosférica debido a las altas energías de los niveles electrónicos excitados. Estudios previos [6, 8], determinan que para su detección es neces-

rio contar con un dispositivo de baja presión, de esta forma se produce un aumento de la intensidad de emisión y de la relación señal/ruido. La mejora observada se debe principalmente a la reducción de la protección del plasma, lo que resulta en una mayor ablación y un ensanchamiento Stark menor debido al aumento del camino libre medio. Para esto se trabajó con una celda creada para tal fin que permite llegar a estas condiciones experimentales utilizando una bomba mecánica que alcanzaba una presión del orden de los $6-7 \times 10^{-2}$ mbar. En la Fig. 2 puede observarse claramente la diferencia obtenida en el registro de línea de Cl I, en condiciones de presión atmosférica y baja presión, para una muestra de acelga con clorpirifos.

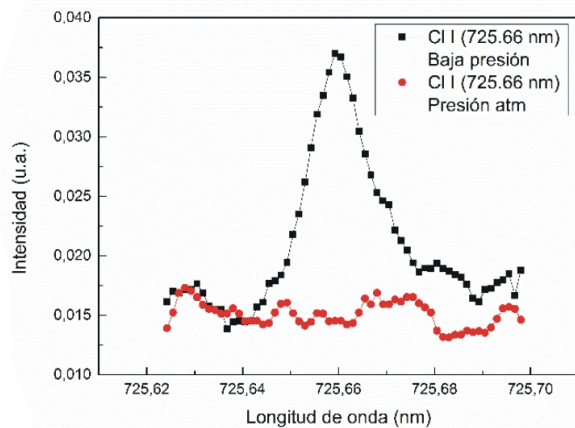


FIG. 2: Perfil de línea de emisión de Cl I (725.66 nm) registrado con rendija de entrada y salida de $80 \mu\text{m}$, en condiciones de presión atmosférica y en baja presión.

Los tiempos óptimos post-breakdown para el registro de la línea de Cl I fueron obtenidos mediante un estudio de la línea de emisión integrada a lo largo del tiempo. De esta forma, se registraron señales para un tiempo de integración determinado, y se estudiaron las variaciones de intensidades a lo largo del tiempo para encontrar condiciones experimentales donde el registro de línea sea más intenso, así la intensidad es proporcional a la concentración del elemento en la muestra. Para la línea seleccionada se eligió un rango de tiempo entre 50 ns a 1000 ns, con un tiempo de integración de 60 ns y un ancho de rendija de entrada y salida del monocromador de $300 \mu\text{m}$ en ambos casos, para asegurar integración espectral completa de un perfil de línea. En la Fig. 3 se observa el registro neto, obtenido luego de realizar la diferencia entre el promedio de tres mediciones, y un fondo donde se aseguró que fuera obtenido en zonas donde no exista presencia de otros elementos posiblemente presentes en las muestras.

Puede observarse de la Fig. 3 que la mayor diferencia se obtuvo alrededor de 150 ns, donde la intensidad neta alcanza su mayor valor. Este tiempo de medición fue el elegido para realizar los cálculos de registro de señal de Cl I en las muestras en cuestión, con un tiempo de integración de perfil (gate time) de $4 \mu\text{s}$.

III. RESULTADOS

Para la adquisición de los registros de señales LIBS se implementó un nuevo método de medición, a fin de mejo-

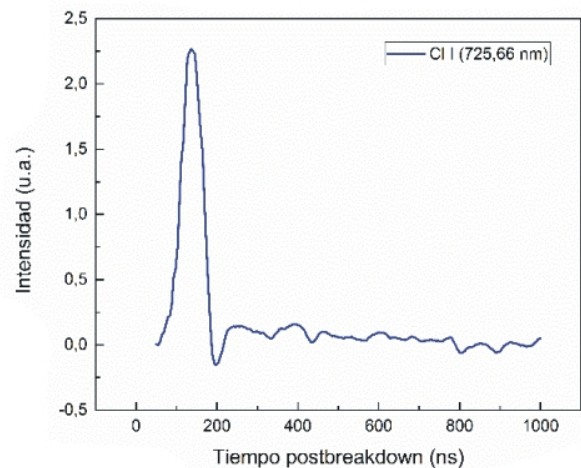


FIG. 3: Registro de señal temporal de la intensidad neta de la línea de Cl I (725.66 nm).

rar y simplificar mediciones del tipo analíticas. Este método consistió en emplear el monocromador de alta resolución como un espectrógrafo de integración por línea completa, de manera que es posible integrar todo el perfil de una línea en cada plasma producido, sin detalles de la misma, pero obteniendo la intensidad total. Para que la línea sea totalmente registrada por el fotomultiplicador, se seleccionó un ancho de la rendija de salida acorde a la dispersión lineal del monocromador en el plano de la misma. En este caso, un ancho de rendija de $300 \mu\text{m}$ equivale a unos 0.034 nm para la longitud de onda de la línea elegida. Este es un valor adecuado tanto para la integración de la línea, como para minimizar la componente del continuo fuera de ella. Esto permitió un análisis rápido, con mínima destrucción de la muestra (menos disparos de láser), pero al mismo tiempo con mayor adquisición de datos de intensidades de línea, para realizar una buena estadística y mejorar la limitación de repetitividad de LIBS. De esta forma pudieron adquirirse 40 registros de señal de cada elemento en cada muestra y también se obtuvieron fondos, con el fin de obtener un registro de señal neta de cada elemento. Debido a las diferencias de matriz por propiedades diferentes entre los plaguicidas, fue necesario realizar un procesamiento de los datos. Para esto, se llevó a cabo una normalización de los registros de línea obtenidos, con la función de obtener los datos en la misma escala, se normalizaron los datos con respecto a un fondo medido. Lo descrito anteriormente puede observarse en la Fig. 4.

De la Fig. 4 pueden evidenciarse diferencias entre las líneas netas registradas a través de la medición de la técnica LIBS en los plaguicidas en estudio, y a su vez también puede observarse la diferencia con respecto a una muestra control que solamente estaba formada por acelga y no posee Cl. En el caso del clorpirifos, que posee un total de 30.33% de Cl en su molécula, a diferencia de la cipermetrina y el imidacloprid que sólo poseen un 17.03% y 13.86% de este elemento, se observa la mayor intensidad y diferencia en relación a la muestra control.

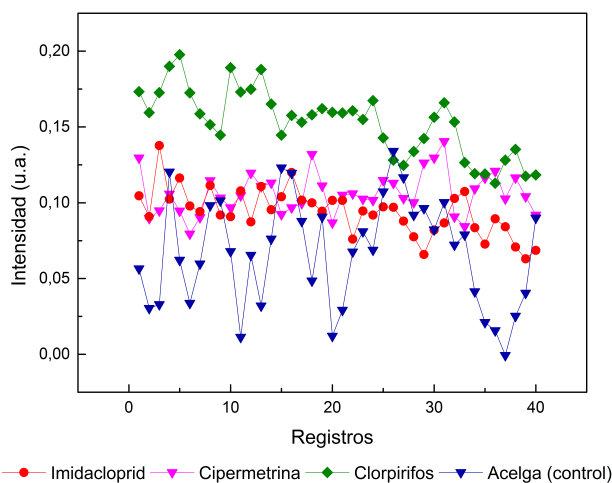


FIG. 4: Registros de líneas de emisión de la línea Cl I (725.66 nm) en muestras de acelga contaminadas con plaguicidas y la muestra control.

IV. CONCLUSIÓN

En este trabajo se pudieron estudiar registros de líneas de emisión de Cl I (725.66 nm) en muestras de acelga contaminadas con clorpirifos, imidacloprid y cipermetrina. A partir de un análisis previo y la utilización de un esquema experimental adecuado para el registro de líneas complejas, se obtuvo el tiempo post-breakdown más óptimo, en función de un análisis temporal del perfil de línea seleccionada. El método no requiere preparación de muestras mediante largas técnicas con producción de desechos peligrosos. A partir de este estudio es posible inferir la presencia de plaguicidas en muestras preparadas con acelga a partir de la comparación con una muestra control. Siendo esto, un primer indicio de la detección de plaguicidas en muestras vegetales mediante la técnica LIBS.

REFERENCIAS

- [1] D. A. Cremers y L. J. Radziemski. *Laser - Induced Plasmas and Applications* (CRC Press, 1989).
- [2] A. W. Miziolek, I. Schechter y V. Palleschi. *Laser Induced Breakdown Spectroscopy. Fundamentals and Application* (Cambridge University Press, 2006).
- [3] D. A. Cremers y L. J. Radziemsky. *Handbook of Laser - Induced Breakdown Spectroscopy* (Jhon Wiley & Sons, Ltd, 2006).
- [4] X. Zhao, C. Zhao, X. Du y D. Dong. Detecting and Mapping Harmful Chemicals in Fruit and Vegetables Using Nanoparticle-Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Sci. Rep.* **9**, 906 (2019).
- [5] X. Du, D. Dong, X. Zhao, L. Jiao, P. Hana e Y. Langa. Detection of pesticide residues on fruit surfaces using laser induced breakdown spectroscopy. *RSC Adv.* **5**, 79956-79963 (2015).
- [6] M. Tran, Q. Sun, B. W. Smith y J. D. Winefordner. Determination of F, Cl, and Br in Solid Organic Compounds by Laser-Induced Plasma Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **55**, 739-744 (2001).
- [7] A. Corney. *Atomic and Laser Spectroscopy* (Clarendon Press, 1977).

- [8] A. J. Effenberger y J. R. Scott. Effect of atmospheric conditions on LIBS spectra. *Sensors* **10**, 4907-4925 (2010).