

PAISES BAJOS

Documento de trabajo sobre la verificación de la presencia en los cursos de agua de agentes neurotóxicos, sus productos de descomposición o materias primas procedentes de las instalaciones de producción química

1. Introducción

1.1 Un método no intrusivo para verificar la prohibición de la producción de agentes neurotóxicos

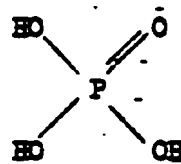
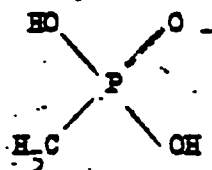
Una de las funciones de un sistema eficaz de verificación de una prohibición del desarrollo, la fabricación y el almacenamiento de armas químicas, es disuadir a los países de la producción de tales armas, en particular de los agentes neurotóxicos muy peligrosos. Para lograr una disuasión adecuada se necesitan procedimientos que ofrezcan una probabilidad suficiente de detectar la producción clandestina de agentes neurotóxicos. Por otra parte, debe tratarse siempre de aplicar métodos de verificación que excluyan en la medida de lo posible toda intrusión en los asuntos de otros países.

Como contribución a la solución de algunos de los problemas planteados, se describirá un método muy sensible para analizar las aguas residuales de las instalaciones de producción química en los cursos de agua y compararlas con una muestra tomada aguas arriba a fin de detectar la presencia en el río de agentes neurotóxicos, sus productos de descomposición o materias primas. El procedimiento analítico se puede efectuar en cualquier laboratorio dotado de un aparato de cromatografía en fase gaseosa, y el método es suficientemente sensible para dar una indicación positiva, incluso después de haber sido sometida el agua a una considerable purificación.

Los resultados permiten llegar a la conclusión de que el procedimiento descrito ofrece una respuesta prácticamente inequívoca, afirmativa o negativa, a la cuestión de si hay o no presentes agentes neurotóxicos, sus productos de descomposición o materias primas. Tras una detección positiva -que sólo haría sospechosa la instalación-, se podría realizar una visita a ésta para determinar la identidad del producto fabricado.

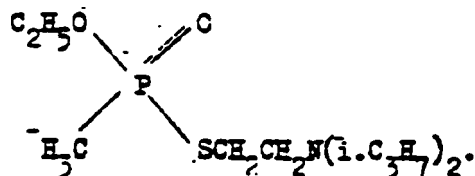
1.2 Fundamento del método

Los agentes neurotóxicos son compuestos organofosforados y estructuralmente están relacionados con los plaguicidas. Por lo general, ambos tipos de compuestos se suelen fabricar en instalaciones similares de producción. Sin embargo, hay una diferencia estructural importante entre ambos tipos de compuestos. La mayoría de los agentes neurotóxicos están relacionados con el ácido metilfosfónico (I), mientras que la estructura básica de la mayoría de los plaguicidas organofosforados para usos comerciales, es el ácido fosfórico (II); aparte de algunos plaguicidas basados en I que tienen generalmente carácter experimental ³⁻⁵.



La delegación del Japón en la Conferencia del Comité de Desarme señaló que el enlace fósforo-carbono no se rompe en condiciones de descomposición lenta. Además, se mencionó la cromatografía en fase gaseosa, junto con una detección específica, como método adecuado para detectar los compuestos organofosforados en concentraciones muy bajas ⁶.

En el presente informe se expone un procedimiento de verificación basado en las sugerencias anteriores. Se utilizaron muestras del Rin y el Mosa -ríos que se consideran muy contaminados como modelos para las aguas residuales considerablemente diluidas procedentes de las instalaciones de producción química. De este modo, el procedimiento ofrece un método de inspección que permite excluir bastante la intrusión. Como representante de los agentes neurotóxicos se utilizó el metilfosfonato de etil S-2-di-isopropilaminoetilo (V_A)



Tras un examen de las investigaciones sobre los distintos aspectos del procedimiento en la sección 2, el procedimiento definitivo se describe en la sección 3. En la sección 4 se exponen algunos de los resultados obtenidos al aplicar el procedimiento definitivo de verificación a las muestras de las aguas del Rin y del Mosa. En la sección 5, que concluye el informe, se dan algunas orientaciones para la labor futura.

2. Evaluación del procedimiento de verificación

2.1 Materiales

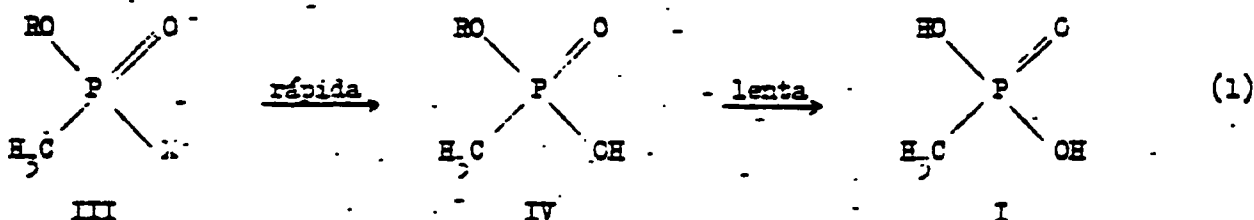
Las muestras de las aguas del Rin tomadas del Lek, en Bergambacht, fueron analizadas en la instalación de abastecimiento de agua Dune de La Haya. Las muestras del Mosa tomadas en Keizersveer fueron analizadas en la instalación de abastecimiento de agua de Rotterdam. Las muestras se conservaron en una cámara frigorífica. En el cuadro 1 se indican los análisis químicos de las muestras de agua.

En cada experimento se utilizaron nuevos artículos de vidrio para prevenir la contaminación de unas muestras por otras.

En ese laboratorio se sintetizaron el ácido metilfosfónico marcado con P^{32} (actividad específica, 1 mCi/g) y el VX marcado con P^{32} (actividad específica, 20 mCi/g), así como los correspondientes compuestos sin marcar. Se preparó y utilizó diazometano en solución de éter dietílico⁷.

2.2 Hidrólisis

Como se señala en el capítulo 1, la cromatografía en fase gaseosa, junto con una detección fosfórica específica, es un procedimiento adecuado para descubrir agentes neurotóxicos en el agua en concentraciones sumamente bajas. Para que el cuadro resultante de la cromatografía de gases sea lo más sencillo posible (sección 2.6), debe efectuarse una hidrólisis completa como resultado de la cual la mayoría de los agentes neurotóxicos que contienen fósforo se manifestarán como ácido metilfosfónico (ecuación 1), mientras que los plaguicidas organofosforados darán lugar al ácido fosfórico (ecuación 2).



Ejemplo de III. VX, donde $R = \text{C}_2\text{H}_5$, y $X = \text{SCH}_2\text{CH}_2\text{N}(i\text{-C}_4\text{H}_9)_2$.

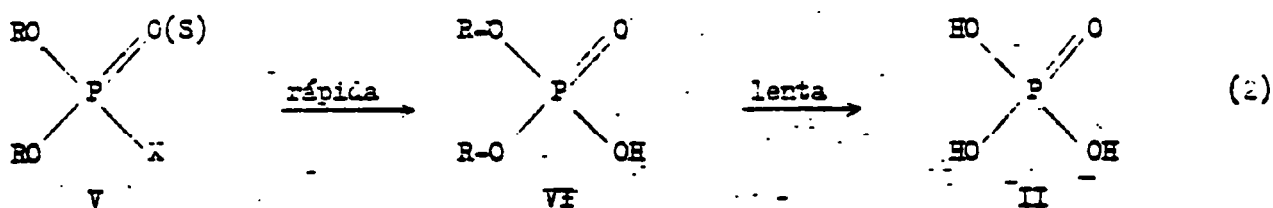
Sarin, donde $R = i\text{-C}_4\text{H}_9$, y $X = \text{F}$.

Cuadro 1
Análisis químicos de las muestras del Rin y del Mosa

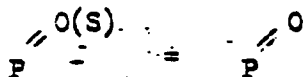
Componente	Rin						Mosa
	12-XII-73	12-VIII-74	20-XI-74	8-I-75	25-VIII-75	3-III-76	23-II-76
Cloruro (mg/l)	230	175	168	83	140	196	37
Sulfato "	89	86	85	59	70	94	54
Bicarbonato "	140	146	156	146	149	193	134
Nitrato "	11,5	10,8	12,2	14,0	12,7	17,6	17,0
Ortofosfato nitrogenado "	4,4	1,7	2,2	1,5	1,0	2,6	1,9
Kjeldahl sin filtrar "	0,62	0,55	0,75	0,41	0,98	0,97	0,73
"	1,95	1,27	1,70	1,10	1,61	1,92	1,4
Carbono orgánico total "	6,2	7,8	5,9	8,0	5,5	8,2	6,9
Limo "	64	10	19	46	33	23	26
Inhibición de la colinesterasa en equivalente de parationa (µg/l)	0,17	0,25	0,24	0,04	0,08	0,13	-
pH	7,55	7,60	7,50	7,65	7,77	7,50	7,6
Corriente (m ³ /seg)	2 572*	1 648*	2 870*	3 497*	1 964*	1 329*	350**

* Lobith.

** Lith.



Ejemplo de V. Parationa, donde $R = C_2H_5$, y $X = OC_6H_4NO_2-p$ y



Un agente ácido fuerte es indispensable para asegurar una hidrólisis completa tanto de los agentes de guerra química como de los plaguicidas cuyas fórmulas químicas se representan en las ecuaciones 1 y 2, respectivamente. Además, el proceso de hidrólisis debe efectuarse en un período razonable de tiempo. Con objeto de establecer condiciones óptimas, se han reunido datos hidrolíticos de varios compuestos organosforados.

Además de algunos valores hidrolíticos de vida media obtenidos de las publicaciones sobre la materia, se seleccionaron varios compuestos modelo para determinar sus velocidades de hidrólisis. Se realizaron experimentos en ampollas de vidrio de un miligrano herméticamente cerradas, que contenían una solución tampón de 0,5 miligramos de citrato sódico 0,05 M/ácido cítrico a pH 5. La concentración de los distintos compuestos del modelo fue de 0,02 M. Las ampollas se calentaron en un baño de aceite a 130°C. El análisis cuantitativo de la mezcla de reacción, utilizando electroforesis de alta tensión en papel, cromatografía de papel, cromatografía en fase gaseosa y espectroscopía por rayos ultravioletas, permitió determinar los valores hidrolíticos de vida media⁸. El cuadro 1 contiene los datos hidrolíticos de un representante de los agentes neurotóxicos (VA), de algunos plaguicidas (parationa, disistona y FDDV) y de los productos intermedios que podrían aparecer durante la hidrólisis. A fin de explicar la presencia de algunos de estos productos intermedios conviene señalar que en la hidrólisis ácida de los agentes neurotóxicos (ecuación 1) y los plaguicidas (ecuación 2), hasta I y II respectivamente, la hidrólisis del metilfosforato hidrogenado de alcohol (IV) y del fosfato hidrogenado de dialcohol (VI), formados como productos intermedios, es la fase determinante de la velocidad. Por consiguiente, se incluyen los datos hidrolíticos relativos a esos compuestos.

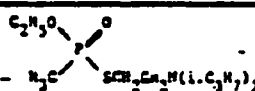
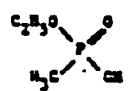
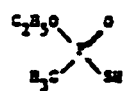

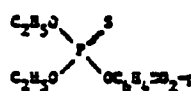
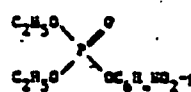
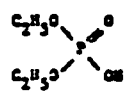
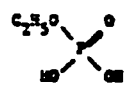
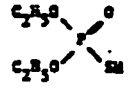
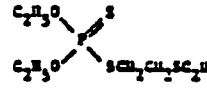
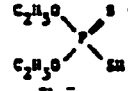
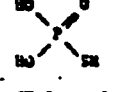
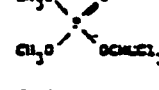
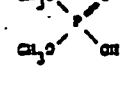
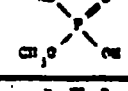
Se sabe que las velocidades de hidrólisis de los fosfatos y los fosfonatos dependen del pH. La hidrólisis de los fosfatos dihidrogenados de alcohol⁹, acusa generalmente una velocidad máxima a pH 4; las velocidades de hidrólisis de los fosfatos hidrogenados de alcohol¹⁰ y de los fosfanatos¹¹ aumentan progresivamente a medida que se reduce el valor de pH. Los tiofosfatos¹² alcanzan una velocidad máxima a pH 5. Como fórmula de transacción y por razones prácticas, se seleccionó pH 5 para todos los experimentos de hidrólisis. Las soluciones ácidas con pH inferior a 5 pueden afectar a los rendimientos (es decir, a la capacidad) de la columna de permutación aniónica en la segunda fase del procedimiento (sección 1.3).

Se optó por una temperatura de 150°C para obtener velocidades mensurables en un período de cuatro días.

El cuadro 7 permite llegar a la conclusión de que los agentes neurotóxicos, los plaguicidas y sus productos de descomposición se hidrolizan a I y II, respectivamente, en un período razonable de tiempo a pH 5 y 150°C. En el procedimiento definitivo se aumentó la temperatura a 160°C a fin de obtener una hidrólisis completa de los ésteres organofosforados en 24 horas.

Cuadro 2

Valores hidrolíticos de vida media a pH⁷ de algunos compuestos relacionados con los agentes neurotóxicos y plaguicidas que contienen fósforo

Compuesto	Nombre sistemático o corriente	Temperatura de hidrólisis (°C)	t _{1/2} (h)	Ref.
1 	VX	130-	0,24	-
2 	Metilfosfonato hidrogenado de etilo	130	10	-
3 	Metiltiofosfonato hidrogenado de etilo	130	9,8	-
4 	Acido metilfosfonoticoico	130	0,36	-
5 	Parationa	70	21	13
6 	Paraxon	70	23*	13
7 	Fosfato hidrogenado de dietilo	130	82	-
8 	Fosfato dihidrogenado de etilo	130	1,42	-
9 	Fosforoticoato hidrogenado de dietilo	130	61	-
10 	Disistona	70	62*	13
11 	Fosforoditicoato S-hidrogenado de dietilo	130	0,97	-
12 	Acido monotiofosfórico	52,8	1,2	14
13 	FDDV	70	3,4*	13
14 	Fosfato hidrogenado de dimetilo	100	110	15
15 	Fosfato dihidrogenado de metilo	100	0,25	9

* Valor relativo al primer grupo de salida.

2.3 Aislamiento y concentración

Después de la hidrólisis, las muestras de agua del Rin y del Mosa se pasan por filtros de fibra de vidrio para eliminar las partículas sólidas (limo) antes de usar la columna de permutación aniónica. De ese modo la resina puede utilizarse de nuevo por medio de un proceso de regeneración* y se excluye la posible perturbación del paso de la muestra por la columna. La absorción de I por las partículas sólidas de las muestras de los ríos es insignificante, como se determinó mediante I marcado con P^{32} . Después de la filtración a través de los papeles filtros se recuperaron cuantitativamente ng cantidades de I en el eluado.

Se utiliza una fuerte resina de permutación aniónica [tipo $\beta-N(CH_3)_3^+$] para absorber el anión de metilfosfonato de las muestras de agua hidrolizada. Se produce una absorción simultánea de otros aniones, por ejemplo, cloruro, sulfato y fosfato, que generalmente se dan en exceso en comparación con la cantidad del compuesto I. El ión de bicarbonato y otros aniones de ácidos débiles no son absorbidos. En la capacidad de absorción de la columna de permutación aniónica se utiliza un exceso de dos a tres, que se basa en el promedio (3.5 meq) de aniones en 0,5 litros de agua del Rin, además del ión de metilfosfonato y de la cantidad añadida (aproximadamente 3 meq.) de ácido clorhídrico, que se emplea para ajustar el pH a 3. Los primeros experimentos se realizaron con la resina de permutación aniónica existente en el comercio, Amberlite IRA-400 en forma de cloruro (Cl^-). En una columna llena de esa resina se pudo comprobar que, de un litro de muestra de agua, se absorbía incompletamente una cantidad de 0,1 meq. del anión de metilfosfonato. Entre el 50 y el 60% de la cantidad agregada de I no era retenido en la columna. Se obtenía una absorción cuantitativa de I cuando la resina se convertía en formiato ($HCOO^-$). Después se empleó una resina comercialmente asequible, del tipo BIC-RAD AG 1-X8 $HCOO^-$. Mediante un cromatograma de resolución utilizando medio litro de muestra que contenía 115 mg de cloruro o 1.200 mg de sulfato y 225 μ g de I marcado con P^{32} se vio que durante el aislamiento I se movía como una banda estrecha en la columna frente a los iones de cloruro y de sulfato. El compuesto I se eluía de la columna sólo cuando la cantidad de aniones en la muestra de agua superaba la capacidad de permutación aniónica de la columna.

Después del paso de la muestra de agua, la resina se lavaba con metanol para eliminar el agua intersticial así como algunos componentes neutros y básicos presentes en la muestra original de agua. Es importante que la solución de ácido metanol hidrocloreídrico, utilizada

* Según BIC-RAD: (fase 1) resina- Cl^- + NaOH resina- OH^- , (fase 2) resina- OH^- + ácido fórmico, resina-formiato $^-$.

para extraer el anión de metilfosfonato, este síca, porque la subsiguiente evaporación de esta solución en presencia del agua provoca una considerable pérdida del compuesto I.

Después de la evaporación se observó una recuperación de entre el 75 y el 100% del compuesto I en experimentos controlados mediante I marcado con P^{32} .

2.4 Derivación

El mismo compuesto I no puede ser cromatografiado en fase gaseosa sino que tiene que ser convertido en un derivado volátil para lograr una detección y separación cromatográfica sensitiva en fase gaseosa. El compuesto se transformó en metilfosfonato de dimetilo, utilizando diazometano en solución de éter de dietilo⁷. El resultado de la esterificación fue casi comparable (95%) al determinado por la cromatografía en fase gaseosa (capítulo 3). Otros ácidos como el ácido fosfórico y el ácido sulfúrico son metilados simultáneamente. Estos ácidos pueden estar presentes en la elución de la columna de permutación iónica procedente de la muestra original de agua y haber quedado retenidos en la resina junto con el compuesto I.

2.5 Limpieza

Esta parte del procedimiento completo de verificación se introdujo para obtener un análisis cromatográfico adecuado en fase gaseosa del metilfosfonato de dietilo, como se indica en la sección 2.6.

El éter y el metanol se eliminan de la muestra esterificada (sección 2.4) mediante la ebullición en reflujo en una columna de Vigreux hasta que quede un volumen residual de 3 a 4 ml. Este grado de concentración fue controlado mediante una serie de experimentos con mezclas que contenían 10 ml de benceno, 10 ml de éter, 1 ml de metanol y 3 μ g de metilfosfonato de dimetil. Se observó una recuperación de fosfonato de entre el 90% y el 100% determinada por el análisis cromatográfico en fase gaseosa.

Según la ref. 16, utilizando una pequeña columna de gela de sílice, con ese procedimiento se elimina la mayoría del fosfato trimetilico y del sulfato dimetilico de la solución metilada de la muestra. En la sección 4 se dan más detalles de las interferencias cromatográficas en fase gaseosa del sulfato dimetilico. La columna de gela de sílice se eluye sucesivamente con benceno, acetato etílico y metanol. Se observó que la fracción de benceno contenía principalmente sulfato dimetilico, la fracción de acetato etílico fosfato trimetilico y el primer mililitro de la fracción de metanol un 80% aproximadamente de las cantidades añadidas de metilfosfonato de dimetilo.

2.6 Análisis cromatográfico en fase gaseosa

Para la separación del metilfosfonato de dimetilo y del fosfato de trimetilo se estudió el comportamiento (por ejemplo, la separación y la simetría de los picos) de una serie de diversas fases estacionarias tales como SE-30, QF-1, FFAP, OV-225, DEGS y Triton X-305. Triton X-305 resultó el mejor.

Se observó que la temperatura óptima de la columna era de 140 a 150°C. A medida que aumentaba la sangría de la columna a temperaturas más altas, disminuía considerablemente su vida mientras que se producía un aumento en el ruido y en la contaminación de los detectores.

Además de la utilización de diazometano para la esterificación de ácido metilfosfónico y de ácido fosfórico, pueden utilizarse otros diazalcóhlicos. La separación de los fosfatos trialcohilos y de los metilfosfonatos dialcohilos resultantes se puede expresar con la siguiente fórmula:

$$R_s = 2 \frac{t_x (\text{fosfatos trialcohilos}) - t_x (\text{metilfosfonatos dialcohilos})}{y (\text{fosfatos trialcohilos}) + y (\text{metilfosfonatos dialcohilos})} \quad (3)$$

fórmula en la que R_s representa la separación, t_x representa el tiempo de retención e y significa la anchura del pico en la base. En el cuadro 3 figuran los resultados junto con el tiempo de retención relativo al metilfosfonato de dimetilo.

Cuadro 3

Tiempos de separación y de retención relativos al metilfosfonato de dimetilo* de una serie de metilfosfonatos y fosfatos

$(RO)_2P(O)CH_3$ R =	Retención relativa	$(RO)_3P(O)$ R =	Retención relativa	Separación
CH_3	1,00	CH_3	1,33	2,1
C_2H_5	1,29	C_2H_5	2,07	4,0
$n.C_3H_7$	2,57	$n.C_3H_7$	5,53	4,1
$i.C_3H_7$	1,09**	$i.C_3H_7$	1,58	2,8

* El tiempo de retención es de 200 segundos y la temperatura de la columna es de 140°C; para otras condiciones cromatográficas gaseosas véase el capítulo 3.

** Punto mínimo.

De los resultados que figuran en el cuadro 3 puede llegarse a la conclusión de que conviene preparar ésteres de etilo o de n-propilo en lugar de ésteres de metilo. Sin embargo, la utilización de ésteres de metilo es preferible por las siguientes razones:

- a) el metilfosfonato de dimetilo es detectado con una sensibilidad por lo menos doble que el metilfosfonato de dietilo y el metilfosfonato de dipropilo;
- b) cuando se utilizan los ésteres de etilo o de n-propilo, el tiempo del análisis aumentará en 2 o en 4 veces, respectivamente, en comparación con el tiempo necesario para los análisis hechos con ésteres de metilo;
- c) el metanol es utilizado como un componente principal del sistema de disolvente para desadsorber ácido metilfosfónico procedente de la columna de permutación aniónica. En ese caso se recomienda la utilización de diazometano¹⁷.

El detector obligado, por su especificidad para los compuestos organofosforados, es el detector termiónico. Se ha demostrado que la cantidad detectable significativa más baja de metilfosfonato de dimetilo es de $0,23 \mu\text{g}$ (en una gama de 0,15 a 0,30 μg). El volumen máximo de inyección es de $5 \mu\text{l}$. Un mayor volumen de disolvente provoca la extinción de la llama del detector.

Se puede identificar el metilfosfonato de dimetilo por su índice de retención según Kovats¹⁸. El índice es de 1427 cuando se determina a 170°C sobre Triton X-305 en una fase estacionaria. En estas condiciones, el fosfato de trimetilo, que también será detectado, tiene un índice de retención de 1483.

Para probar sin lugar a dudas que el punto máximo correspondiente al metilfosfonato de dimetilo no se debe a la presencia de un compuesto no fosforoso en una concentración relativamente alta, se utilizó el detector termiónico combinado con un detector de ionización por conductor. En el caso de un compuesto no fosforoso este detector dará una respuesta relativamente elevada.

3. Descripción del mecanismo de verificación

Teniendo en cuenta los resultados esbozados en el capítulo anterior se escogió el siguiente método para verificar la presencia de agentes neurotóxicos o de sus productos de descomposición en agua de condensación.

Hidrólisis: La hidrólisis se realiza en tubos Carius precintados de 750 ml, que contienen 500 ml de muestras de agua ajustadas a 3 pH utilizando 0,5 N de ácido hidrociorídrico. Los tubos se calientan en un baño de aceite a 160°C durante 24 horas.

Aislamiento y concentración: Después de pasar un filtro de fibra de vidrio (Whatman, GF/A) la muestra hidrolizada se pasa a través de una columna de permutación aniónica (20 cm de largo, 11 mm de diámetro interior) llena de AG-1 -XB (en forma de formiato, BIO-RAD), a una velocidad de flujo de 1 a 2 ml/por minuto. Después de pasar la muestra se lava la columna de permutación con 30 ml de metanol. El ácido metilfosfónico y otros ácidos adsorbidos en la resina son extraídos a una velocidad de flujo de 0,5 a 1 ml/por minuto con 20 ml de metanol acidificado (con ácido hidrocloreídrico gaseoso hasta 3 N). El eluado recogido en un frasco con forma de pera (fig. 1), está concentrado hasta un volumen de menos de 1 ml/por evaporización en un baño en agua mantenida a 50°C con una leve corriente de aire.

Derivación: Se agrega una solución de diazometano, generado con N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida e hidróxido de potasio⁷, en éter, al residuo del eluado hasta lograr un color amarillo persistente. Se deja reposar la mezcla de 15 a 20 minutos. El exceso se elimina de diazometano mediante unas gotitas de ácido acético.

Procedimiento de limpieza: Después de la adición de 10 ml de benceno la solución metilada se concentra por ebullición en reflujo utilizando una columna de Vigreux (19 cm de largo, 11 mm de diámetro interior) hasta lograr un volumen residual de 3 a 4 ml. Para impedir la ebullición violenta del líquido se utiliza un aparato que consiste en un vaso de vidrio coblado en forma de U⁷. Durante la ebullición, la parte del tubo de reacción en forma de pera (fig. 1) se sumerge en un baño de aceite, que se calienta lentamente desde la temperatura ambiente hasta 160°C durante 45 minutos.

Después de un tratamiento previo de calentamiento durante 48 horas a 135°C, la gela de sílice es parcialmente desactivada mediante la agitación con agua destilada a 3% (w/w). Después de 4 horas, la gela está lista para ser utilizada. A una columna (19 cm de largo, 8 mm de diámetro interior) rellena con lana de vidrio se agrega 1 g de gela de sílice, y después 2 g de sulfato sódico anhidro¹⁶. Previamente se lava la columna con 10 ml de hexano. La solución de la muestra se transfiere a la columna de gela de sílice que es sucesivamente enjuagada con 16 ml de benceno, 24 ml de acetato etílico y 8 ml de metanol a una velocidad de flujo de 0,2 a 0,4 ml/por minuto. Se recogen por separado los eluados de benceno, acetato etílico y la cantidad inicial de 1 ml de metanol. Este se deja aparte para su utilización interior.

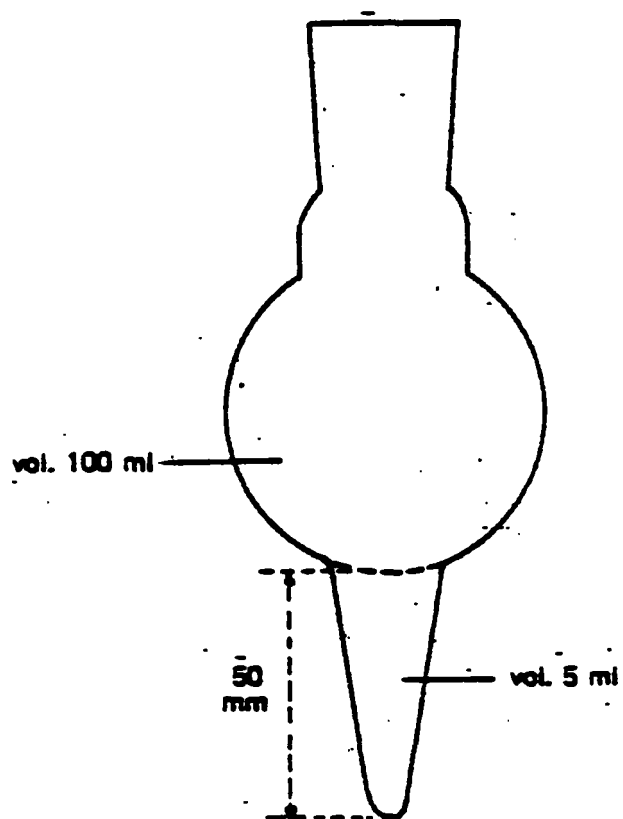


Figura 1. Frasco con forma de pera para concentrar el eluado de la columna.

Cromatografía en fase gaseosa: El análisis cromatográfico en fase gaseosa se realiza con un cromatógrafo Beckier, tipo 405, equipado con un detector termiónico (TID) tipo 712.L a columna de vidrio en espiral (2 m de largo, 1,5 mm de diámetro interior) está llena de Cromosorbos W-AW/DKCS 60-100 revestido de Triton X-305 (25% w/w) después de ser tamizadas en partículas de 149 a 177 μ m. La columna, el inyector y el detector se mantienen a 150, 200 y 200°C respectivamente. La velocidad de flujo del gas es de 40 ml/minuto para el nitrógeno, de 65 ml/minuto para el hidrógeno y de 250 ml/minuto para el aire. Debido al uso de una separadora al extremo de la columna [relación (3:1)] sólo 20 ml de nitrógeno por minuto llegan al detector TID. Las partes restantes son llevadas a un detector de ionización por conductor. Se puede inyectar un volumen máximo de muestra de 5 μ l. Para las mediciones cuantitativas se utilizan muestras de referencia de concentración comparable.

4. Aplicación y examen

Una vez desarrollado, el procedimiento completo de verificación fue comprobado agregando cantidades variables (0,1 μ g - 1 mg) de VX a un litro de agua desmineralizada y de agua del Rin.

Con el metilfosfonato de dimetilo se obtuvo una recuperación media de $73 \pm 11\%$ en el agua desmineralizada. La parte del procedimiento correspondiente a la limpieza se suprimió en este caso. Se hallaron considerables concentraciones de ácido fosfórico (aproximadamente 0,2 mg/litro) que fueron detectadas como fosfato de trimetilo mediante la cromatografía en fase gaseosa. El ácido fosfórico se desprende probablemente de la pared del recipiente de cristal durante la hidrólisis.

Se analizaron de manera análoga las muestras obtenidas después de agregar una cantidad relativamente grande (1 mg) de VX a un litro de agua del Rin. Fue innecesaria la limpieza de la muestra antes del análisis por cromatografía en fase gaseosa porque no se encontraron sustancias que interfirieran a ese nivel de concentración y las cantidades comparables de metilfosfonato de dimetilo y de fosfato de trimetilo pudieron ser separadas suficientemente por cromatografía en fase gaseosa. Con el metilfosfonato de dimetilo se logró una recuperación de $78 \pm 10\%$ (n = 6).

En el procedimiento analítico realizado con pequeñas cantidades de VX (0,1 - 1 μ g) agregadas a un litro de agua del Rin fue necesario recurrir al método de limpieza debido a las interferencias en el análisis por cromatografía en fase gaseosa. En primer lugar, la separación de pequeñas cantidades de metilfosfonato de dimetilo de una cantida

Algunas veces superior de fosfato de trimetilo resultó insuficiente por la superposición de los picos. Además, el sulfato de dimetilo interfirió considerablemente en la detección del metilfosfonato de dimetilo. Según la corriente de hidrógeno, el detector termiónico dio picos negativos o positivos para el sulfato de dimetilo que influyó sobre la respuesta del metilfosfonato de dimetilo a causa de la superposición de picos. Se identificó el sulfato de dimetilo por la combinación de cromatografía en fase gaseosa y espectrometría de masa (tipo JEOL JMS-01-SG). Es muy probable que se haya formado por la metilación del ácido sulfúrico presente en las muestras del Rin (nivel de concentración del sulfato ≈ 80 mg/litro). Las interferencias del excedente de fosfato de trimetilo y sulfato de trimetilo pudieron superarse mediante la limpieza de la muestra metilada antes del análisis por cromatografía en fase gaseosa. De esta manera fue posible analizar concentraciones de VX añadidas a muestras de agua del Rin hasta un límite inferior de $250 \mu\text{g/litro}$. Con el metilfosfonato de dimetilo se observó una recuperación de 80-90% en muestras del Rin tomadas el 25 de agosto de 1975.

Estas recuperaciones fueron corregidas para una cantidad de metilfosfonato de dimetilo ($0,7-0,8 \mu\text{g/litro}$) detectada en las mismas muestras del río Rin a las que no se agregó VX. La identidad de este compuesto fue comprobada mediante fragmentografía de masa en un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas cuadrípulo Finnigan, tipo 3100-003D. Se examinó el pico en tres valores característicos m/e: 79, 94 y 109, que corresponden a $(\text{CH}_3\text{O})\text{P}(\text{O})\text{H}^{\oplus}$, $(\text{CH}_3\text{O})\text{P}(\text{O})\text{H}(\text{CH}_3)^{\oplus}$ y $(\text{CH}_3)_2\text{P}(\text{O})^{\oplus}$. La proporción de máxima intensidad fue 6:4:1, que equivale al resultado obtenido con una muestra de referencia de metilfosfonato de dimetilo. Debido a la pequeña cantidad, la intensidad del pico molecular fue demasiado pequeña para el examen.

Posteriormente, se detectó el mismo compuesto en muestras del Rin de 3 de marzo de 1976 (concentración $760 \mu\text{g/litro}$), y del Mosa de 23 de febrero de 1976 ($180 \mu\text{g/litro}$). Evidentemente, una o más fuentes de emisión en ambos ríos o junto a ellos dio lugar a la presencia de un compuesto con un grupo de PCH_3 en la molécula. La bibliografía no indica que existan tales compuestos en la naturaleza. Es sabido que varios insecticidas que contienen un enlace P-C pueden obtenerse comercialmente, por ejemplo, difonato (etil-S-fenil etilfosfonoditioato). Con el procedimiento analítico descrito se obtendrá metilfosfonato de dimetilo. Dado su índice de retención (1468), este compuesto no interferirá en el análisis por cromatografía en fase gaseosa del metilfosfonato de dimetil

(índice de retención 1427, véase sección 2.6). Pero Mecarphon⁵, el único plaguicida, según nuestras informaciones, que se puede obtener comercialmente y que contiene un grupo PCH_3 , se producirá metilfosfonato de dimetilo al aplicar el procedimiento analítico, con lo que se obstaculizará el proceso de verificación.

Como se ha indicado en la sección 2.6, la cantidad media más baja de metilfosfonato de dimetilo detectable por cromatografía en fase gaseosa (sección 2.6) es de $0,23 \mu g$ de metilfosfonato de dimetil, o $250 \mu g$ de VX por litro de agua, que se corrige para una recuperación media del 80% de un volumen original de la muestra de agua de 0,5 litro, concentrada a un volumen de 1 ml. Esto significa que si una instalación descarga al menos 5 kg de VX o una cantidad equivalente de sus productos de descomposición o materias primas en 24 horas a un río con una corriente de $250 m^3$ /segundo, esa descarga se detectará. Un estudio de la tecnología avanzada del tratamiento de desechos ha revelado que los procesos de absorción del carbono podrían reducir una concentración de $1 \mu g$ /litro de insecticida que contenga fósforo en una corriente de desechos a menos de $1 \mu g$ /litro⁴. Esta concentración está muy por encima del límite de detección del procedimiento descrito.

En cuanto a la posible presencia de compuestos que contengan PCH_3 , podría deberse también al medio natural o industrial y habría que analizar una muestra tomada por encima de la instalación química, además de la muestra tomada aguas abajo.

5. Labor futura

Se necesita más investigación para familiarizarse con la presencia natural o industrial de compuestos que desprendan metilfosfonato de dimetilo después de aplicar el procedimiento descrito.

Se realizarán experimentos para investigar la aplicabilidad del procedimiento al caso de los sistemas de agentes neurotóxicos binarios en los que el agente neurotóxico se forma mezclando dos compuestos durante el lanzamiento del proyectil hacia el blanco.

Bibliografía

1. Possible Techniques for Inspection of Production of Organophosphorus Compounds, -SIPRI Symposium Report, ed. S.J. Lundin, Estocolmo, 1971.
2. Coms A.J.J. y Boter E.L., Pugwash Conference, -Bonn, abril de 1976.
3. Menn J.J., Pesticide Terminal Residues, IUPAC Symposium Tel-Aviv, ed. A.S. Tahori, Butterworths, Londres, 1971, pág. 57.
4. Meiners A.F. y Wiegand C.J.W., Factors affecting the verification of chemical warfare production and the impact of current technology on chemical warfare inspection indicators, Midwest (US) Research Institute, Vols. I y II, 1973.
5. Mecarphon, $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})\text{C}_2\text{H}_5\text{P}(\text{S})\text{S}\text{C}_2\text{H}_5\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{COOCH}_3$ reported in Pesticide Manual, eds. H. Martin y C.R. Worthing, 4ª ed. British Crop. Protection Council, 1974, pág. 329.
6. Documento de trabajo (CCD/301) presentado por el Japón a la Conferencia del Comité de Desarme el 6 de agosto de 1970.
7. Vogel A.I., Practical Organic Chemistry, Longmans Green and Co. Ltd., Londres, Toronto, Nueva York 1970, 3ª ed.
8. Reuland-Meereboer M.A.C., CL essay 75 R 89.
9. Kugel L. y Halmann M., J. Org. Chem., 32 (1967) 642.
10. Bunton C.A., Nuala M.M., Oldham K.G. y Vernon C.A., J. Chem. Soc., 1960, 3293.
11. Cherbuliez E., Hunkeler F. y Robinowitz J., Helv. Chim. Acta, 44 (1961) 1817.
12. Dittmer D.C., Ramsey O.B. y Spalding R.E., J. Org. Chem., 28, (1963) 1273.
13. Mühlmann R. y Schrader G., Z. Naturforschg., 126 (1957) 196.
14. Dittmer D.C. y Ramsey O.B., J. Org. Chem., 28 (1963) 1268.
15. Bunton C.A., Llewellyn D.R., Oldham K.G. y Vernon C.A., J. Chem. Soc., 1958, 3574.
16. Shafik M.T., Bradway D. y Enos E.F., J. Agr. Food Chem., 19 (1971) 885.
17. Shafik M.T., Bradway D. y Enos E.F., Bull. Env. Cont. and Tox., 6 (1971) 55.
18. Kováts E. sz., Advances in Chromatography, Marcel Dekker, Inc., Nueva York 1965, Vol. I, pág. 229.

DOCUMENT IDENTIQUE A L'ORIGINAL

DOCUMENT IDENTICAL TO THE ORIGINAL