

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE Ciencias Exactas y Naturales

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de residuos de diazinón por cromatografía de gases con detector
fotométrico de llama pulsada en tomate de árbol, *Cyphomandra betacea*

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas, mención
Química Analítica

GABRIELA SALOMÉ YÁNEZ JÁCOME

Quito, 2010

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, mención Química Analítica, de la candidata Gabriela Salomé Yánez Jácome, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Quito, 12 de noviembre de 2010

c. MS. Ramiro Merino M.

Director de la Disertación

DEDICATORIA

*A Agustín (†), tu
que siempre me acompañas*

GRACIAS

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por darme fuerza, paciencia y sobre todo salud, para culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres, por el apoyo que me han dado siempre. Por hacerme una persona de bien, confiar en mis capacidades y estar orgullosos de mis logros alcanzados.

Al c. MS. Ramiro Merino M., por saber guiarme a lo largo de este trabajo y poder terminarlo con éxito.

A la Dra. Olga Pazmiño, Ing. Mónica Torres y William Villacís, quienes me apoyaron en este trabajo.

A la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), por permitirme realizar este trabajo en los laboratorios de la institución.

A mis amigos, Ricardo y Eli, quienes siempre estuvieron ahí para apoyarme y ayudarme cuando más los necesité, y sobre todo a ti, Juan, tú me diste los mejores consejos y siempre sostuviste mi mano a lo largo de todo este camino. Lo logramos lindo.

TABLA DE CONTENIDOS

PRELIMINARES

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3

CAPÍTULO 1

1. Parte Teórica	5
1.1. Tomate de árbol (<i>Cyphomandra betacea</i>)	5
1.1.1. Variedades genéticas del tomate de árbol	6
1.1.2. Condiciones de suelo y clima	6
1.1.3. Preparación del suelo y plantación	7
1.1.4. Producción y cosecha	8
1.1.5. Consumo y beneficios del tomate de árbol	9
1.1.6. Mercado local	10
1.1.7. Mercado internacional	11
1.2. Principales plagas que atacan al tomate de árbol	13
1.2.1. Pulgones verdes (<i>Myzus persicae</i>)	13
1.2.2. Crisomélidos (Coleóptera <i>Chrysomelidae</i>)	14
1.2.3. Chinchas (<i>Leptoglossus zonatus</i>)	14
1.2.4. Mosca blanca (<i>Aleurothrixus floccosus</i>)	15

1.3. Plaguicidas	16
1.3.1. Introducción al uso de los plaguicidas.....	16
1.3.2. Definición.....	18
1.3.3. Clasificación.....	18
1.3.4. Efectos de plaguicidas sobre la salud humana.....	22
1.4. Plaguicidas organofosforados	23
1.4.1. Propiedades fisicoquímicas.....	23
1.4.2. Acción inhibidora de la colinesterasa.....	25
1.5. Diazinón	26
1.6. Contaminación de alimentos	28
1.6.1. Residuos de plaguicidas.....	28
1.6.2. Límites máximos de residuos (LMRs).....	29
1.6.3. Determinación de residuos de plaguicidas.....	30
1.7. Cromatografía	30
1.7.1. Cromatografía de gases.....	30
1.7.2. Descripción del cromatógrafo de gases.....	31
1.8. Detector fotométrico de llama pulsada (PFPD)	33
1.8.1. Funcionamiento del PFPD.....	33
1.8.2. Emisiones de Fondo.....	35
1.8.3. Diferencias del FPD y PFPD.....	36
1.8.4. Funciones del electroméetro del PFPD.....	37
1.8.5. Flujos de la mezcla gaseosa hidrógeno / aire.....	38
1.8.6. Ventajas del PFPD.....	38

CAPÍTULO 2

2. Materiales y métodos	39
2.1. Muestreo	39
2.2. Preparación de las muestras	42
2.2.1. Equipos.....	42
2.2.2. Materiales.....	43
2.2.3. Reactivos.....	43
2.2.4. Estándares.....	44
2.2.5. Soluciones.....	44
2.2.6. Procedimiento de extracción y purificación.....	44
2.3. Optimización del método cromatográfico	45
2.3.1. Equipos.....	45
2.3.2. Materiales.....	46
2.3.3. Reactivos.....	46
2.3.4. Soluciones.....	46
2.3.5. Determinación de las condiciones cromatográficas óptimas.....	46
2.4. Determinación de residuos de diazinón en tomate de árbol	48
2.4.1. Preparación de la curva de calibración con método de adición de estándar.....	48
2.4.2. Límite de detección.....	51
2.4.3. Límite de cuantificación.....	52

CAPÍTULO 3

3. Resultados y discusión	53
3.1. Determinación de la eficiencia del método	53
3.1.1. Fortificaciones de diazinón a 110 µg/kg (ppb).....	53
3.1.2 Fortificaciones de diazinón a 220 µg/kg (ppb).....	54
3.1.3 Fortificaciones de diazinón a 440 µg/kg (ppb).....	55
3.2. Discusión de resultados	56

CAPÍTULO 4

4. Conclusiones y recomendaciones	62
4.1. Conclusiones	62
4.2. Recomendaciones	66
Bibliografía	67
Anexos	73

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1. Rendimiento de tomate de árbol en toneladas métricas por hectárea.....	10
Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según el organismo que se controla.....	18
Tabla 1.3. Clasificación de los plaguicidas según el grupo químico.....	19
Tabla 1.4. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad.....	20
Tabla 1.5. Clasificación de los plaguicidas según su persistencia.....	21
Tabla 1.6. Propiedades fisicoquímicas del diazinón.....	27

CAPÍTULO 2

Tabla 2.1. Diferencias entre los huertos muestreados.....	40
Tabla 2.2. Codificación de las muestras.....	41
Tabla 2.3. Características de la columna Varian CPSil 8 CB.....	46
Tabla 2.4. Condiciones optimizadas del ensayo No. 24.....	47
Tabla 2.5. Alícuotas tomadas de la solución madre para la preparación de la curva de calibración con método de adición de estándar.....	49
Tabla 2.6. Áreas de la curva de calibración con método de adición de estándar.....	50
Tabla 2.7. Determinación del límite de detección.....	51
Tabla 2.8. Determinación del límite de cuantificación.....	52

CAPÍTULO 3

Tabla 3.1. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 110 µg/kg (ppb).....	53
Tabla 3.2. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 220 µg/kg (ppb).....	54
Tabla 3.3. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 440 µg/kg (ppb).....	55
Tabla 3.4. Concentración y áreas del diazinón para la curva de calibración con método de adición de estándar.....	57
Tabla 3.5. Concentración de diazinón para las muestras del huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas.....	59
Tabla 3.6. Concentración de diazinón para las muestras del huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas.....	60

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1. Estructura química de un plaguicida organofosforados.....	23
Figura 1.2. Estructura química de los tiones y oxones.....	24
Figura 1.3. Estructura química del diazinón.....	26
Figura 1.4. Componentes del cromatógrafo de gases.....	32
Figura 1.5. Estados de pulsación de la llama.....	35

CAPÍTULO 2

Figura 2.1. División Cantonal de la Provincia de Tungurahua.....	39
Figura 2.2. Diagrama de la forma de muestreo.....	41
Figura 2.3. Cromatograma del blanco matriz.....	49
Figura 2.4. Cromatograma de la curva de calibración con método de adición de estándar.....	50
Figura 2.5. Curva de calibración con método de adición de estándar.....	51

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 110 µg/kg (ppb).....	54
Figura 3.2. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 220 µg/kg (ppb).....	55
Figura 3.3. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 440 µg/kg (ppb).....	56
Figura 3.4. Curva de calibración con método de adición de estándar.....	57

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: “Fotos de los huertos en estudio y del equipo utilizado”.....	74
Anexo 2: “Diagrama de flujo del método de extracción y purificación de residuos de diazinón en muestras de tomate de árbol, <i>Cyphomandra betacea</i> ”.....	79
Anexo 3: “Tablas de resultados y cálculos”.....	81
Anexo 4: “Cromatogramas de las muestras del Huerto No. 1 y No. 2”.....	87
Anexo 5: “Certificados de análisis”.....	102

RESUMEN

El principal objetivo de este estudio es determinar los residuos del plaguicida diazinón presentes en dos cultivos de **tomate de árbol**, del Barrio “Penileo”, Parroquia “Presidente Urbina”, cantón Pillaro, Provincia de Tungurahua; los cuales son manejados bajo prácticas agrícolas apropiadas y no apropiadas, respectivamente. Para la determinación de los residuos, se utilizó la técnica analítica de cromatografía de gases con detector fotométrico de llama pulsada (GC-PFPD), y se optimizaron las condiciones de operación, con el fin de mejorar la detección del diazinón. Los resultados obtenidos a partir de la optimización de las condiciones cromatográficas, demuestran que los límites de detección se mejoraron a un nivel de 0,64 µg/kg (ppb), en comparación con los límites de los análisis multi-residuales de plaguicidas organofosforados realizados por la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro.

Se realizaron fortificaciones en blancos de **tomate de árbol**, de los tres puntos medios de la curva de calibración: 110, 220 y 440 µg/kg (ppb), y se obtuvieron recuperaciones entre el 94 y 96%. Por otra parte, se analizaron 20 muestras por cada cultivo, y se encontró que en los huertos en estudio, se sobrepasa el límite máximo de residuos de diazinón propuesto por la Comisión del Codex Alimentarius, la misma que establece que en frutas, la concentración de diazinón no debe ser superior a 100 µg/kg (ppb). En el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas, se obtuvo un rango de residuos de diazinón entre 128 a 332 µg/kg (ppb); mientras que en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, los residuos van desde 363 a 662 µg/kg (ppb).

Palabras claves: **tomate de árbol**, residuos de diazinón, cromatografía de gases, PFPD, Comisión del Codex Alimentarius.

ABSTRACT

The main object of this study is to determine the presence of diazinon residues in two plantations of **tree tomatoes**, managed under good and bad agricultural practices, by gas chromatography with pulsed flame photometric detector (GC-PFPD). For the determination of the residues of this pesticide, the chromatographic conditions have been optimized with the purpose of increasing the limits of detection of diazinon residues.

The results obtained from de optimization of the chromatographic conditions, show that the limits of detection increased up to 0,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$, in comparison with the limits of the analysis of residues of phosphorous pesticides which are made by AGROCALIDAD.

Spikes in tree tomatoes blanks were made, at three middle points of the calibration curve: 110, 220 y 440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb). The recoveries obtained were between 94 and 96%. Twenty samples of **tree tomatoes** were analyzed from each orchard, and it was found that both plantations do not comply with the maxim limits of residues of diazinon proposed by the Commission of the Codex Alimentarius, which establishes that in fruits, diazinon should not exceed a maximum of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb). In the plantation with good agricultural practices, diazinon residues are between 128 and 332 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb); and in the plantation with bad agricultural practices, diazinon residues are between 363 and 662 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).

Key words: **tree tomatoes**, diazinon residues, gas chromatography, PFPD, Codex Alimentarius.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el Ecuador ha aumentado la producción y exportación de frutas tropicales como: naranjilla, mora, piña, babaco, **tomate de árbol**, pitahaya, granadilla, mango, chirimoya, taxo y uvilla; las mismas que son muy cotizadas en países como Estados Unidos, Canadá, Japón, España, Holanda, Alemania, entre otros.

La variedad de frutas tropicales que se encuentran, llaman la atención por sus colores, peculiar aroma y sobre todo, singular sabor. Estas frutas son ricas en vitaminas A, B, C, calcio, hierro y magnesio; por lo que son aconsejables para el sistema inmunológico y nervioso.

La gran demanda nacional e internacional y los buenos réditos económicos, han hecho que el agricultor tenga la necesidad de intensificar sus cultivos, mejorando la calidad y producción, mediante el empleo de agroquímicos, siendo éstos los fertilizantes y plaguicidas. Pese a que el empleo de agroquímicos aumenta los rendimientos de los cultivos, contribuyendo a la economía, éstos son perjudiciales para la salud ya que tienden, en ciertos casos, a acumularse en el organismo, y pueden producir intoxicaciones o problemas de mutagénesis y teratogénesis.

La contaminación de alimentos, frutas, verduras, hortalizas, etc., con residuos de plaguicidas es una preocupación a nivel mundial, pues para su exportación, éstos tienen que cumplir con normas regulatorias internacionales, establecidas por la Comisión del Codex Alimentarius, la Unión Europea, la USDA (United States Department of Agriculture), entre otras.

El rechazo de los productos de exportación debido a los altos niveles de contaminación con residuos de plaguicidas, causa pérdidas económicas considerables, y puede ocurrir que los productos que se declaran no aptos para la exportación, sean consumidos dentro del mercado nacional, contribuyendo a problemas de salud.

El diazinón es un plaguicida utilizado para el control de insectos chupadores, minadores y masticadores, en cultivos de: arroz, sorgo, papa, fréjol, cebolla, legumbres, hortalizas y frutas en general. Es tóxico para aves, abejas y peces, es considerado moderadamente tóxico para los seres humanos, con una dosis letal media (LD_{50}) de 0,02 mg/kg. En los seres humanos actúa como inhibidor de la enzima acetilcolinesterasa, afectando al sistema nervioso.

Para la determinación de residuos de diazinón, se emplea la técnica analítica de cromatografía de gases con detector fotométrico de llama pulsada, en modo fósforo, haciendo que éste sea un detector altamente selectivo. En el detector, el analito eluido de la columna, pasa por una llama hidrógeno/aire, donde éste se fragmenta y da lugar a la formación de moléculas más simples o átomos. Los átomos del analito sufren una reacción en la que forman especies excitadas y emiten radiación.

El fósforo se convierte en una especie excitada, HPO^* , la cual emite radiación a una longitud de onda alrededor de 510 y 526 nm. Las emisiones de radiación de las especies excitadas son filtradas y detectadas por el fototubo-multiplicador, el mismo que amplifica la señal, y luego se registra en forma de un cromatograma.

CAPÍTULO 1

1. PARTE TEÓRICA

1.1. TOMATE DE ÁRBOL (*Cyphomandra betacea*)

A nivel mundial, la demanda de *frutos no tradicionales o exóticos*, originarios de países como: Colombia, Ecuador, Perú y Brasil; ha aumentado considerablemente. Entre los productos de mayor demanda, se encuentran la naranjilla, **tomate de árbol**, mora, babaco, taxo, pitahaya, mango, chirimoya, granadilla y uvilla.

El tomate de árbol o tamarillo es una fruta exótica originaria de América del Sur, se la encuentra en las zonas andinas de Ecuador, Colombia y Perú. Actualmente se lo cultiva en Nueva Zelanda, Australia, Estados Unidos, y en algunos países europeos, utilizando semilla originaria de Colombia. [1]

Su nombre científico es *Cyphomandra betacea*, y es un arbusto semileñoso perteneciente a la familia de las *Solanaceas*, alcanzando de 2 a 3 metros de altura. Su fruto es una baya aromática de forma ovoidal, punteada en su extremo inferior, cubierto por una cáscara gruesa, lisa y brillante, de sabor amargo, en tonos que van desde el amarillo hasta el morado, según la variedad genética. La pulpa es ligeramente firme y jugosa, con un sabor agridulce, y se encuentran de 200 a 500 pequeñas semillas comestibles, de forma circular y plana.

1.1.1. VARIEDADES GENÉTICAS DEL TOMATE DE ÁRBOL

Las variedades del tomate de árbol se clasifican según el tamaño y color de sus frutos:

- a) Tomate *común* o “*criollo*”: es pequeño, de forma alargada ovalada, corteza de color amarillo y pulpa amarilla.
- b) Tomate *redondo* o “*gigante*”: es un fruto grande, de color anaranjado rojizo y pulpa anaranjada.
- c) Tomate de árbol - mora o “*tomate injerto*”: es un fruto grande, de forma oblonga y color morado; la pulpa es anaranjada y el arilo que rodea la semilla es de un color púrpura intenso igual al de la corteza, que hace que el jugo tenga un color morado.

El sabor de la fruta también difiere en una mezcla de sabor dulce y agrio según la variedad genética. [2]

1.1.2. CONDICIONES DE SUELO Y CLIMA

Las condiciones climáticas favorables que ofrece el Ecuador, permiten que las zonas productoras sean óptimas para el desarrollo del tomate de árbol, obteniendo buenos rendimientos y sobre todo calidad. Esta fruta se desarrolla en altitudes entre los 1000 y 3000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), sin embargo, fructifica más entre los 1500 y 2800 m.s.n.m. En altitudes inferiores a los 1000 m.s.n.m., no fructifica bien, ya que requiere de climas fríos. [3]

La temperatura óptima para el cultivo de tomate de árbol está comprendida entre 14 a 20 °C; a temperaturas menores de 4 °C, se destruye completamente el follaje, ya que es muy susceptible a bajas temperaturas.

El cultivo de tomate de árbol se adapta muy bien a todo tipo de suelo, pero su mejor desarrollo lo alcanza en suelos de textura media, es decir, en suelos franco-arenosos ¹, con pH ligeramente ácido entre 6 – 6,5, con buen drenaje, alto contenido de materia orgánica y elementos nutritivos. Además este cultivo requiere de precipitaciones entre los 1500 a 2000 mm/año. [4]

1.1.3. PREPARACIÓN DEL SUELO Y PLANTACIÓN

Se debe preparar el terreno del cultivo con dos meses de anticipación, con labores de arado y rastra. Además, es preciso cuidar que el suelo drene adecuadamente, para que los arbustos se desarrollen con vigor y tengan buen rendimiento.

Las distancias entre las plantas pueden variar considerablemente. Hacer una plantación muy densa dificulta la cosecha, el riego y las labores culturales, incluyendo las operaciones de control sanitario; ya que si se dejan las plantas al libre crecimiento, las ramas se entrelazan y se produce demasiada sombra, lo cual favorece el desarrollo de plagas.

¹ **Suelos franco-arenosos:** Son aquellos que tienen una textura media (45% de arena, 40% de limo y 15% de arcilla). Estos suelos presentan las mejores condiciones tanto físicas como químicas, siendo los más aptos para el cultivo.

Plantar a una distancia de 1,50 metros entre planta y planta, dejando calles de 4,50 metros de separación, permite que cuando los arbustos lleguen a su total desarrollo, las ramas se entrecrucen y se sostengan mutuamente, dejando amplio campo para el desarrollo de ramas hacia las calles, donde también queda campo para las labores culturales y la cosecha. [5]

1.1.4. PRODUCCIÓN Y COSECHA

La producción de tomate de árbol empieza al año y medio o dos años después de la siembra, siendo intensa y permanente por 4 o 5 años, con una permanencia del cultivo de 10 a 12 años.

Una vez que los frutos alcanzan el grado de madurez óptimo para su recolección, a los cuatro meses después de la floración, la cosecha se la realiza cada 15 días, dejando siempre el péndulo adherido. El estado de madurez óptimo del fruto, se determina cuando éste está bien conformado y su consistencia es firme al tacto.

Las zonas más aptas para este cultivo se ubican en el callejón interandino de la Sierra Ecuatoriana, siendo las provincias donde más se cultiva esta fruta: Imbabura, Tungurahua, Chimborazo, Azuay y Pichincha. [6] En el Ecuador, el rendimiento de la producción del tomate de árbol varía entre 5 y 20 toneladas / hectárea / año, (T / Ha / año), en un periodo de 1 a 2 años.

1.1.5. CONSUMO Y BENEFICIOS DEL TOMATE DE ÁRBOL

En el Ecuador, desde hace más de 10 - 15 años, se han implantado cultivos comerciales de tomate de árbol, aprovechando la variabilidad genética de este fruto. Por otra parte, el libre comercio dentro del Pacto Andino, ha abierto puertas en el mercado internacional debido a su alta producción en pequeñas áreas, su facilidad de cultivo, sus características de sabor, aroma, contenido nutricional y propiedades medicinales.

El tomate de árbol tiene gran acogida en el mercado nacional e internacional debido a que presenta alto contenido de proteínas, vitaminas A, C y E, las mismas que tiene gran acción antioxidante; además contiene calcio y su componente mayoritario es el agua, lo que lo hace ideal para dietas de adelgazamiento. Por otra parte, entre sus propiedades medicinales, el consumo de la fruta fortalece el cerebro y la memoria, controla la rinitis y el jugo es recomendable para bajar el nivel del colesterol en la sangre. Gracias a su alto contenido de vitamina E, la fruta es utilizada para el tratamiento de cicatrices, ya que permite la recuperación de la pigmentación normal de la piel. [7]

Es una fruta muy versátil ya que puede ser preparada en jugos, helados, mermeladas, jaleas, dulces, ensaladas y conservas en almíbar. Últimamente está teniendo verdadera rentabilidad en el mercado externo de los jugos y concentrados de fruta congelada, siendo éste, uno de los sectores con gran potencial de crecimiento. Los principales destinos de los jugos y concentrados de frutas son: Holanda, Estados Unidos, Canadá, España, entre otros.

1.1.6. MERCADO LOCAL

El tomate de árbol es considerado como una fruta de consumo primordial dentro del mercado ecuatoriano, esto se debe principalmente a su buen sabor, bajos costos, además de los beneficios nutricionales y medicinales que brinda. Dentro del país, la mayor producción de tomate de árbol se encuentra distribuida en las provincias de: Bolívar, Carchi, Tungurahua, Chimborazo, Pichincha y Napo, como lo muestra la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Rendimiento de tomate de árbol en toneladas métricas por hectárea

Provincia	TM/Ha
Bolivar	10,47
Carchi	6,88
Tungurahua	6,67
Chimborazo	6,28
Pichincha	5,40
Napo	5,24

Fuente: III Censo Nacional Agropecuario (Ecuador)

Hasta el 2004, en el Ecuador, el área cultivada de tomate de árbol fue de 3.353 hectáreas (Ha); mientras que la producción fue de 23.342 toneladas métricas (TM). Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador (INEC), el cultivo ha crecido en la última década, especialmente en la provincia de Tungurahua, en la cual actualmente se considera una extensión de 1.926 Ha, representando aproximadamente el 50-60% de la producción nacional; seguida por Pichincha con aproximadamente 15%. De acuerdo a la misma fuente, la producción total nacional es de 18.354 TM con un rendimiento promedio de 6,10 TM / Ha / año, según el INEC en 2006. [8]

La calidad del tomate de árbol está dada por el tamaño, peso y presentación del mismo, es decir, que su piel esté con un color brillante e intenso, libre de picaduras, sin golpes ni manchas. Se comercializan normalmente los tomates de árbol con aproximadamente 8 centímetros de largo y 5 centímetros de diámetro, con un peso entre 100 y 125 gramos por fruta.

1.1.7. MERCADO INTERNACIONAL

La exportación del tomate de árbol se dirige actualmente hacia Estados Unidos, Japón y la Unión Europea, conformada por: España, Holanda, Bélgica, Alemania, Suecia, Dinamarca, Suiza, Reino Unido y Finlandia; debido a que la demanda de la fruta se ha hecho reconocida por sus características de alto valor nutricional y medicinal.

La necesidad del agricultor de aumentar las áreas cultivadas, originó la formación de un medio óptimo para la proliferación de plagas, las mismas que ocasionan graves pérdidas económicas, al reducir el rendimiento de los cultivos. Estudios realizados indican que los agricultores aplican una amplia gama de plaguicidas, con dosis predeterminadas, según el estado de los cultivos, las enfermedades y plagas que potencialmente los afectan. Usan frecuentemente mezclas de productos conocidas como “cócteles”, para reducir los costos por aplicación.

Considerando lo anterior, se debe tomar en cuenta que al ingresar el producto a un mercado globalizado, las regulaciones internacionales sobre la residualidad de plaguicidas, son muy estrictas. Por ello, se debe enfocar el cultivo de acuerdo a la demanda del mercado externo,

el mismo que exige altos niveles de calidad, es decir, que cumpla con normas tanto en límites de residuos de plaguicidas, así como en la calidad del producto. [9]

Por otro lado, se debe tomar en cuenta que el tomate de árbol, al ser un cultivo que se da fácilmente en el país, debido a las condiciones climáticas favorables, cultivado bajo malas prácticas agrícolas, presenta muchos problemas relacionados con el manejo, ataque de enfermedades, plagas, inadecuada nutrición y deficiente manejo poscosecha.

Para que el Ecuador pueda exportar el tomate de árbol, cumpliendo con las normas establecidas internacionalmente, se deben optimizar las técnicas de manejo de cultivos, implementado: nuevos sistemas de control de plagas y enfermedades, y correctas distancias de siembra que faciliten el control fitosanitario; es decir, se deben aplicar buenas prácticas agrícolas, con un correcto empleo de agroquímicos.

Actualmente, la exportación de jugos y concentrados de frutas está ganando nuevos mercados internacionales, ya que al ser productos no procesados, se pueden evadir ciertas barreras fitosanitarias que se imponen a los productos en estado fresco. En el Ecuador, en 2007, se generaron exportaciones cercanas a los \$63,14 millones. Hasta octubre, las ventas externas alcanzaron los \$39,08 millones aproximadamente, según las cifras del Banco Central del Ecuador (BCE). Mientras que el mismo período (enero-octubre) del año pasado, el total era de \$52,29 millones. [10]

1.2. PRINCIPALES PLAGAS QUE ATACAN AL TOMATE DE ÁRBOL

Es un cultivo altamente productivo y da sustento a pequeños agricultores, pero es muy susceptible al ataque de plagas, lo que representa graves pérdidas económicas.

Las principales plagas que atacan a los cultivos de tomate de árbol son: pulgones (*Myzus persicae*), crisomélidos (Coleóptera *Chrysomelidae*), chinches (*Leptoglossus zonatus*) y la mosca blanca de la fruta (*Aleurothrixus floccosus*).

1.2.1. PULGONES VERDES (*Myzus persicae*)

Los pulgones son pequeños insectos de color verde claro y cuerpo blando, que suelen ubicarse formando colonias en el envés de las hojas jóvenes y las zonas terminales de los brotes tiernos.

Se alimentan principalmente del follaje de la planta y de los frutos, y con frecuencia son vectores de enfermedades, ya que al picar en una planta infectada y picar en otra sana, transmiten el virus. Las hojas tienden a abarquillarse y replegarse produciéndose defoliaciones y haciendo que éstas tomen un color amarillo.

No se puede contar con un control natural satisfactoriamente, por ello es necesario recurrir al empleo de insecticidas: formotión, tiometón, pirmicarb, metiloxidemetón, etiofencarb, etc., teniendo buenos resultados los espolvoreos con dimetoato. [11]

1.2.2. CRISOMÉLIDOS (*Coleóptera Chrysomelidae*)

Los crisomélidos son escarabajos de tamaño mediano, con pequeñas manchas de varios colores, entre amarillo, café y negro, lo que hace que se los confunda con las mariquitas.

Tanto los adultos como las larvas, se alimentan de todo tipo de tejidos vegetales entre malas hierbas y cultivos como: maíz, papa, tomate de árbol, tomate riñón, etc.

El insecto se convierte en una plaga cuando el tomate de árbol es joven y éste se alimenta del cultivo, produciendo huecos en toda la superficie de la hoja, haciendo que la planta pierda superficie fotosintética y su crecimiento se retarde. [12]

El control químico que requiere esta plaga consta de insecticidas organoclorados como el lindano, insecticidas organofosforados como: clorpirifos, bromofos, etil-azinfos, malatión o triclorfon. También se puede hacer el control mediante el uso de piretroides: permetrina y lambda-cihalotrina.

1.2.3. CHINCHES (*Leptoglossus zonatus*)

Son insectos de tamaño relativamente grande y de color café oscuro. Esta plaga tiene gran impacto en la pérdida económica del cultivo de tomate de árbol, ya que las ninfas y los adultos atacan las hojas y los frutos.

Los chinches inyectan una toxina que ocasiona el endurecimiento del fruto, o la aparición de manchas oscuras rodeadas por un anillo rojizo y produciendo la caída prematura del

mismo. Los frutos afectados se reconocen por la deformación causada por las punciones del insecto. [13]

Las hojas atacadas, se acartonan, necrosan y secan, cayendo prematuramente con grave perjuicio para la vegetación y fructificación. Se suele atacar esta plaga con Lebacyd (fentión), Metasistox (metil-oxidemetón), Rogor (dimetoato), permetrina, Basudin (diazinón), cipermetrina, lambda-cihalotrina y carbaryl, acompañados de un adherente y proyectando el líquido en la cara inferior de las hojas; con la precaución de rotar entre ellos. [14]

1.2.4. MOSCA BLANCA (*Aleurothrixus floccosus*)

El nombre de esta plaga hace mención al aspecto que tienen los insectos adultos, los mismos que son pequeñas moscas con alas blancas, que comúnmente atacan a frutos comestibles como el tomate de árbol, tomate riñón, melón y cítricos en general.

Esta plaga tiende a recubrir por entero el envés de las hojas, picándolas y absorbiendo la savia de las mismas, lo que produce decoloración o hace que éstas adquirieran un aspecto amarillento. Si el ataque es intenso, las hojas se abarquillan e incluso, pueden caer de forma prematura.

Sólo en el caso de ataques intensos de la plaga, se debe recurrir al empleo de insecticidas como: butocarboxin, endosulfán, diazinón, fenitrotión, fentión, dimetoato o metilpirimifos. Hay que aplicar el pesticida elegido cada diez a doce días hasta la completa eliminación de las moscas blancas. [15]

1.3. PLAGUICIDAS

1.3.1. INTRODUCCIÓN AL USO DE LOS PLAGUICIDAS

Hace miles de años los seres humanos se volvieron agricultores y permanecieron en un solo lugar, con el fin de abastecerse de alimentos; desde entonces el hombre tuvo que enfrentarse al problema de las plagas y enfermedades que disminuían sus cosechas o las arruinaban totalmente. [16]

La población en el mundo es cada vez mayor, por lo que la demanda de alimentos crece, pero su producción no avanza al ritmo de las necesidades. Además, los consumidores de los países desarrollados dependen en buena parte de la producción de los trabajadores agrícolas de los países subdesarrollados, lo que ha desencadenado el creciente empleo de plaguicidas y fertilizantes. Los fertilizantes y los plaguicidas han permitido un notable aumento de la producción, pero a su vez, han tenido impactos en la salud del ecosistema y han expuesto a agricultores a nuevas sustancias tóxicas. [17]

La destrucción causada por las plagas: insectos, malezas, hongos, enfermedades, etc., necesita ser controlada. Gracias a los plaguicidas se tienen mejores cosechas, mayor duración de la vida de anaquel de productos alimenticios y menor defoliación de los árboles a causa de los insectos y las enfermedades; sin embargo, su uso indiscriminado y poco cauteloso, ha traído un nuevo riesgo tanto para la naturaleza como para la salud del hombre.

A largo plazo, y a veces inmediatamente, el uso indiscriminado e inadecuado de los plaguicidas puede ser antieconómico, ineficaz e incluso contraproducente, ya que los enemigos naturales de la plaga tienden a reducirse o extinguirse, lo que causa un desequilibrio ecológico; mientras que las plagas desarrollan la capacidad de resistir a la acción de los productos químicos. [18]

La resistencia desarrollada por las plagas obliga a los productores a usar químicos más potentes, es decir, los aplican en dosis altas o mezclan varios productos. Este es el caso de los agricultores que trabajan bajo prácticas agrícolas no apropiadas, pues no realizan un estudio adecuado de las plagas que están atacando su cultivo y fumigan con cualquier mezcla de productos que ellos creen necesaria.

El uso masivo e indiscriminado de los plaguicidas, acarrea graves consecuencias económicas ya que con químicos más potentes, o mezclas de plaguicidas, hay que gastar más dinero en su compra, y por ende los alimentos encarecen, haciendo que la canasta básica también suba.

Por otra parte, los agricultores se envenenan al estar expuestos a los agroquímicos, puesto que no existe una legislación eficaz que controle, supervise y asesore, la importación, formulación y venta de plaguicidas; y son muy pocos los agricultores que tienen la capacitación y el equipo de seguridad necesario para la realizar las fumigaciones. [19]

1.3.2. DEFINICIÓN

Los plaguicidas son sustancias químicas de origen natural o sintético, producidas para combatir, destruir, controlar o mitigar, organismos vivos considerados como plagas que atacan a cultivos de cosechas y crías de animales domésticos y silvestres.

Entre las principales plagas se tienen: bacterias, hongos, malezas, nemátodos, ácaros, moluscos, insectos, roedores, entre otros. [20]

1.3.3. CLASIFICACIÓN

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus principales características:

a) TIPO DE ORGANISMO AL CUAL SE DESEA CONTROLAR

En la tabla 1.2. se indican los principales plaguicidas de acuerdo al agente dañino sobre el cual deben actuar.

Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según el organismo que se controla

Clase de plaguicida	Función
Insecticida	Controla o mata insectos
Herbicida	Controla o mata malezas
Fungicida	Elimina hongos
Nematicida	Elimina nemátodos

Fuente: *Contaminación, causas y efectos*, Wagner, Travis, (1996)

b) GRUPO QUÍMICO DEL PRINCIPIO ACTIVO

Los plaguicidas se clasifican de acuerdo a su estructura química, obteniendo así diversas familias en base al principio activo de la molécula, como se puede observar en la tabla 1.3. El principio activo o ingrediente activo del plaguicida es el componente que controla o elimina la plaga en cuestión.

Tabla 1.3. Clasificación de los plaguicidas según el grupo químico

Familia Química	Ejemplos
Organoclorados	DDT, Aldrin, endosulfán, endrín
Organofosforados	Bromofos, diclorvos, malatión, diazinón
Carbamatos	Carbaryl, methomyl, propoxur
Tiocarbamatos	Ditiocarbamatos: mancozeb, maneb
Piretroides	Cypermctrina, permetrina, lambda-cihalotrina
Derivados de triazinas	Atrazina, ametrina, desmetrina, simazina
Compuestos orgánicos del estaño	Cyhexatin, dowco, plictrán
Compuestos inorgánicos	Arsénico, fosfito de magnesio, cloruro de mercurio, arsenato de plomo, antimonio, selenio, talio
Compuestos de origen botánico	Rotenona, nicotina, aceite de canola

Fuente: *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición,*

(Instituto Nacional de Salud Pública, Dirección de Ciencias Ambientales, 2001)

c) TOXICIDAD AGUDA

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) estableció que los plaguicidas deben clasificarse según su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, el cual se define como la capacidad del plaguicida de producir daño agudo a la salud, a través de múltiples exposiciones: vía oral (por la boca), dermal (por la piel), o por inhalación, en un período de tiempo relativamente corto. Ver tabla 1.4.

Tabla 1.4. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad

Clasificación de OMS	Categoría	LD ₅₀ aguda en ratas (mg/kg)				Color Etiqueta
		Oral		Dermal		
		Sólido	Líquido	Sólido	Líquido	
Clase IA	1 extremadamente	< 5	>20	>10	>40	ROJA
Clase IB	2 Altamente	< 5	>20	>10	>40	AMARILLA
II	3 Moderadamente	>50	>200	>100	>400	AZUL
III	4 Ligeramente	>500	>2000	>1000	>4000	VERDE

Fuente: Anexo B: Clasificación Toxicológica de los Plaguicidas,

(Organización Panamericana de la Salud, OPS, 2006)

La toxicidad se mide a través de la dosis letal media (LD₅₀), que significa la dosis que lleva a la muerte al 50% de animales de ensayo, normalmente en ratas, y se mide en miligramos por kilogramo de peso del animal. [21]

La dosis letal media puede variar según la presentación del producto (sólido, polvo, líquido, gas, etc.), así como también según la vía de entrada (oral, dérmica, por inhalación), temperatura, dieta, edad y sexo del organismo de ensayo. [22] Mientras menor sea el valor LD₅₀, mayor es la toxicidad del producto químico.

d) PERSISTENCIA EN EL MEDIO AMBIENTE

La persistencia de un plaguicida está dada por capacidad de una sustancia o un compuesto, de permanecer en un sustrato del ambiente en particular, después de que ha cumplido el objetivo por el cual se aplicó. Ver tabla 1.5.

Tabla 1.5. Clasificación de los plaguicidas según su persistencia

Persistencia	Vida Media	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 semanas	Malatión, diazinón
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión, lannate
Persistente	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, endrín
Permanentes	Indefinidamente	Productos elaborados a partir de mercurio, plomo o arsénico

Fuente: *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición*, (Instituto Nacional de Salud Pública, Dirección de Ciencias Ambientales, 2001)

e) MODO DE ACCIÓN

Los plaguicidas se pueden dividir en dos grupos: de contacto o no sistémicos, y los plaguicidas sistémicos. Los plaguicidas de contacto o de superficie no penetran notablemente en los tejidos del sistema vascular de la planta; mientras que los plaguicidas sistémicos pueden penetrar efectivamente en la cutícula vegetal así como trasladarse a través del sistema vascular de la planta. [23]

1.3.4. EFECTOS DE PLAGUICIDAS SOBRE LA SALUD HUMANA

Las personas quedan expuestas a los plaguicidas durante la fabricación, embalaje, transporte, mezcla y aplicación de estas sustancias, ya sea por derrames, por envenenamiento accidental o por trabajar en zonas recientemente fumigadas. [24]

Los plaguicidas pueden ingresar en el organismo a través de tres vías: dérmica (por contacto), por inhalación y por ingestión. Los efectos producidos por cualquiera de estas tres vías dependen de la toxicidad del plaguicida, así como de la edad, sexo, estado nutricional y salud de los individuos expuestos.

La exposición a plaguicidas no significa una intoxicación y una muerte inmediata, ya que el organismo humano es capaz de tolerar pequeñas dosis de los plaguicidas gracias a la existencia de mecanismos de compensación biológica, que incluyen la detoxificación metabólica, de tal manera que no se observan efectos adversos aparentes. Sin embargo, se pueden ocasionar síntomas crónicos durante un prolongado tiempo como: cambios de carácter (depresión e irritabilidad), dificultad en la concentración, pérdida de memoria,

infertilidad, alteraciones hormonales y del sistema inmunológico, cáncer, efectos mutagénicos, entre otros. Al sobrepasar altas dosis, los mecanismos de compensación se saturan y dan lugar a la producción de alteraciones en diferentes órganos o sistemas. [25]

1.4. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

1.4.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Los plaguicidas organofosforados son ésteres del ácido fosfórico, en los que todos los átomos de hidrógeno han sido reemplazados por radicales orgánicos o por átomos. [26] Su estructura se la observa en la figura 1.1.

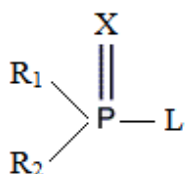


Figura 1.1. Estructura química de un plaguicida organofosforado

- Donde **L** es el grupo más reactivo y más susceptible a ser sustituido
- **R₁** y **R₂** son menos reactivos y pueden ser radicales alquil, aril, alquil-tio o alquil-amino
- **X** puede ser oxígeno o azufre

Cuando este átomo es oxígeno, el compuesto se denomina **oxon** y es un potente inhibidor de la colinesterasa. Sin embargo con el oxígeno en esta posición, se favorecen las reacciones de hidrólisis del compuesto bajo condiciones alcalinas. Para hacerlos más resistentes a la hidrólisis, se ha sustituido al oxígeno por un átomo de azufre, tomando el nombre de **tiones**, los mismos que son pobres

inhibidores de la colinesterasa; pero tienen la característica de atravesar la membrana celular más rápido que los oxones. En el ambiente, los tiones son convertidos en oxones por acción de la luz solar y el oxígeno. [27] Ver figura 1.2.

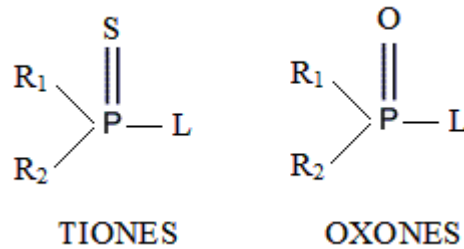


Figura 1.2. Estructura química de los oxones y tiones

En general, los plaguicidas organofosforados son compuestos polares y apolares, lo que indica que hay grandes diferencias de un compuesto a otro. Algunos son liposolubles, es decir, se disuelven en las grasas, por tal motivo, la piel puede constituirse una importante vía de entrada, almacenándose en el tejido graso, lo que puede provocar toxicidad retardada. Presentan presión de vapor media, lo que hace que sean volátiles, facilitando la absorción inhalatoria al momento de las fumigaciones en el campo.

Los insecticidas organofosforados son estables químicamente, cuando se los mantiene en la oscuridad, y en lugares secos y fríos. Cuando se los expone al calor, a la luz ultravioleta, o al agua, sufren reacciones de hidrólisis y oxidación. A pH altos o fuertemente alcalinos, se descomponen, ya que ocurren reacciones de hidrólisis, siendo no persistentes en el ambiente.

Este grupo de plaguicidas son efectivos contra los insectos y arácnidos por contacto, ingestión, o acción fumigante. Estos productos son de alta efectividad sistémica, es decir, se absorben por las raíces y el follaje, y se trasladan en las plantas para destruir los insectos penetrantes y succionadores, en puntos distantes al sitio de aplicación. [28]

1.4.2. ACCIÓN INHIBIDORA DE LA COLINESTERASA

Algunos plaguicidas organofosforados y carbamatos presentan toxicidad aguda alta, lo que da lugar a intoxicaciones y a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Los signos y síntomas de intoxicación aguda que aparecen entre la primera y segunda hora de exposición son: vómitos, diarreas, dolor de cabeza, calambres abdominales, aumento de la sudoración y salivación, hipertensión, parálisis respiratoria, agitación, confusión, delirio y convulsiones.

La inhibición de la acetilcolinesterasa se debe a que los organofosforados se comportan como sustancias anticolinesterásicas, haciendo que a la llegada de un impulso nervioso a una célula, se forme acetilcolina en exceso, por lo que ésta se acumula y tiene como resultado la sobre estimulación de músculos, glándulas y nervios, y se producen ahogos, convulsiones y parálisis que pueden causar la muerte. [29]

Entre los principales plaguicidas organofosforados que presenta toxicidad aguda alta, están: acefato, bromofos, clorpirifos, clorfenvinfos, diazinón, diclorvos, dimetoato, etión, etil-azinfos, fentión, fenitrotión, malatión, metil-azinfos, paratión, profenofos, triclorfón, entre otros.

1.5. DIAZINÓN

El diazinón es un plaguicida organofosforado sistémico, utilizado para controlar insectos chupadores, minadores y masticadores, en una gama muy amplia de cultivos: árboles frutales como el **tomate de árbol**, cítricos, olivos, plátanos, piñas, hortalizas, papas, caña de azúcar, café, cacao, té, tabaco, maíz, lino, algodón, plantas ornamentales y cultivos de invernadero. También es utilizado contra plagas caseras como: moscas, piojos, pulgas, hormigas, cucarachas y otros insectos en las casas de animales.

Es un líquido aceitoso, con un ligero color amarillento, sin olor. En la agricultura se utilizan preparaciones que contienen de 85 a 90% de diazinón, y tienen apariencia de líquido de color pálido a pardo oscuro; mientras que las preparaciones para uso en casa y jardines contienen de 1 a 5% de diazinón en forma líquida o en forma de gránulos sólidos. [30]

Su nombre según la IUPAC es: *O,O*-dietil *O*-2-isopropil-4-metil-6-pirimidil fosforotioato, y su estructura molecular se presenta en la figura 1.3.:

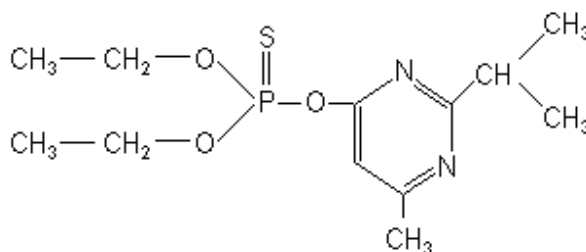


Figura 1.3. Estructura química del diazinón

En la tabla 1.6. se indican las principales propiedades fisicoquímicas del diazinón.

Tabla 1.6. Propiedades fisicoquímicas del diazinón

Peso molecular	304,3 g/mol
Punto de ebullición	83 - 84 °C
Densidad	1,11 g/mL (20°C)
Solubilidad en agua	40 mg/L (20°C)
Solubilidad en solventes orgánicos	Completamente miscible
Presión de vapor	$1,2 \times 10^{-1}$ mPa (25°C)
Coefficiente de partición octanol-agua	$\log K_{ow} = 3,30$

Fuente: *The Pesticide Manual*, (The British Crop Protection Council, 2000)

Debido a su poca solubilidad en agua, presenta baja movilidad en el suelo, la cual depende del contenido de materia orgánica del mismo. El diazinón se une fuertemente a las partículas del suelo, por lo que la contaminación de agua subterránea, acuíferos, ríos y lagos, no es considerable.

Los mecanismos de eliminación de este compuesto en suelo incluyen la oxidación, hidrólisis y biodegradación. Su vida media en los sistemas terrestres varía usualmente de 2 a 4 semanas, dependiendo del tipo de suelo, humedad, pH, temperatura, microorganismos, cantidad de plaguicida aplicado y grado de evaporación. Es estable en medio neutro con una vida media de 185 días, pero se hidroliza lentamente en medios alcalinos (DT_{50} 6,0 días) y más rápidamente en medios ácidos (11,77 horas).

La volatilización desde el suelo es un destino ambiental muy poco probable para este plaguicida. Las plantas pueden absorberlo a través de sus raíces y translocarlo hacia las partes aéreas. Su vida media en cultivos de hoja, forrajes y pastos es breve (2-14 días). [31]

1.6. CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS

La contaminación química alimentaria se debe a la presencia de sustancias químicas provenientes de la adición deliberada de productos a los alimentos, o de sustancias tóxicas de origen natural, que hacen que un alimento sea peligroso para la salud. Este tipo de contaminación puede ser causada por la presencia de plaguicidas, metales pesados, sustancias tóxicas naturales, etc.

La contaminación de alimentos por efecto de los plaguicidas, se debe al uso masivo e indiscriminado de éstos, con el afán de proteger los cultivos y aumentar su rendimiento, sin considerar el impacto ambiental que provocan, al ser persistentes y bioacumulativos, causando consecuencias nocivas para el hombre y la naturaleza.

1.6.1. RESIDUOS DE PLAGUICIDAS

Los residuos de plaguicidas en alimentos se entienden como aquellas sustancias presentes en un producto alimenticio destinado al hombre o a los animales como consecuencia de la utilización de un plaguicida. [32] Los residuos incluyen tanto a los restos de la molécula original del plaguicida, y sólo en algunos plaguicidas, los metabolitos o productos de degradación.

Como se conoce, los plaguicidas son biocidas, es decir, son sustancias químicas que actúan contra los seres vivos, por lo tanto su empleo supone un riesgo. Este riesgo presenta un triple aspecto: para el aplicador, el medio ambiente y para el consumidor, a causa de los residuos. [33]

Muchos de los alimentos que se consumen a nivel mundial contienen residuos de plaguicidas en concentraciones moderadas, por lo que es responsabilidad de las autoridades de cada país u organizaciones, controlar el uso de agroquímicos con el fin de obtener alimentos inocuos.

1.6.2. LÍMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS (LMRs)

Debido a que algunos plaguicidas tienen su uso prohibido y otros más o menos restringidos por su elevada toxicidad, persistencia en el ambiente o efectos acumulativos en los organismos de seres humanos y animales, se han fijado límites máximos de residuos o tolerancias en los alimentos.

El objetivo de la política de seguridad alimentaria del Codex Alimentarius conjuntamente con la OMS y la FAO (Food and Agriculture Organization), es proteger la salud y los intereses de los consumidores, al tiempo que garantiza el buen funcionamiento del mercado interior. Para lograr este objetivo, los límites máximos de residuos de cada plaguicida se han establecido en base a su toxicidad, es decir, que la ingestión diaria admisible (IDA) del plaguicida no provoque efectos adversos en la salud de los consumidores durante toda su vida.

Por otro lado, los límites de residuos también se han fijado en base a la eficiencia en la protección fitosanitaria del cultivo, al mismo tiempo que se desea minimizar los riesgos toxicológicos y ambientales.

1.6.3. DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS

Para la determinación de residuos de plaguicidas se tienen varias técnicas analíticas e instrumentales, con diferente sensibilidad, ya que se las utiliza dependiendo de la concentración y de las propiedades fisicoquímicas que presente el principio activo de cada plaguicida.

Entre las principales técnicas se tiene: cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta eficiencia, espectrofotometría UV-VIS, volumetría, entre otras.

1.7. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un método analítico empleado ampliamente en la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas.

1.7.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica analítica de separación, en la que los componentes de una mezcla son separados a través de una fase estacionaria por el flujo de una fase móvil, que es el gas portador. A diferencia de otras técnicas cromatográficas, la

fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, ya que éste es un gas inerte, y su única función es el transportar el analito a través de la columna.

Esta técnica analítica tiene dos importantes aplicaciones: la capacidad de separar mezclas orgánicas complejas, y la facilidad de cualificar y cuantificar los componentes de dicha muestra, con mayor exactitud. Sin embargo, una de las principales limitaciones que presenta la técnica, es que la muestra debe ser volátil y térmicamente estable.

Por otra parte, las ventajas de la cromatografía de gases son:

- Reducción del tiempo de análisis: se pueden separar varios compuestos en tiempos relativamente cortos, proporcionando información para la cualificación y cuantificación.
- Mayor eficiencia: utilizando las condiciones analíticas adecuadas, se pueden separar mezclas sumamente complejas.
- Alta resolución: permite la separación de dos componentes consecutivos de una mezcla.
- Sensibilidad: empleando los detectores específicos adecuados, la sensibilidad puede aumentar de 10^{-9} a 10^{-12} .

1.7.2. DESCRIPCIÓN DEL CROMATOGRAFO DE GASES

En cromatografía de gases, la mezcla que se desea separar es inyectada a altas temperaturas en la cámara de inyección, para ser volatilizada. La muestra vaporizada es transportada hacia la columna y por el flujo del gas portador, ésta se separa de acuerdo a la

afinidad de cada componente por la fase estacionaria. Cada compuesto separado es retenido a diferentes tiempos y recorren la columna hasta llegar al detector. Este tiempo que tarda cada compuesto separado en salir de la columna, se denomina tiempo de retención, y depende de la constante de distribución entre la fase estacionaria y la fase móvil. Los componentes del cromatógrafo de gases se observan en la figura 1.4.

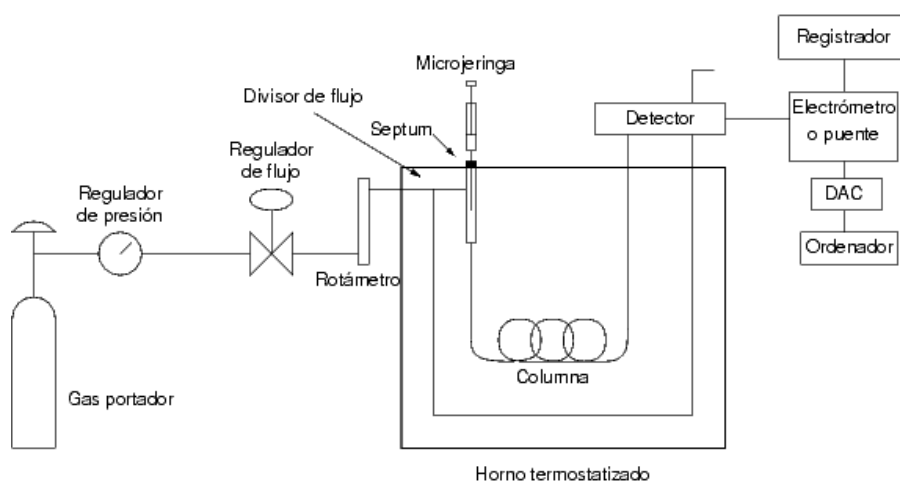


Figura 1.4. Componentes del cromatógrafo de gases

Existen tres tipos de columnas: empacadas, megabore y capilares; éstas últimas han permitido obtener una mejor separación y resolución de los componentes de una mezcla. Las columnas capilares están hechas de sílice fundida, las mismas que son bastante flexibles y pueden alcanzar varios metros de longitud con muy poco diámetro interno, entre 320 y 260 μm . Por otra parte, estas columnas están constituidas por el soporte sólido inerte, sobre el cual está depositada una delgada capa de fase estacionaria, la misma que es de diferente naturaleza, de acuerdo a la polaridad de los analitos que se desean separar. Esta fase líquida inmovilizada en una columna debe cumplir con ciertas características: baja volatilidad, el punto de ebullición del líquido debe ser al menos 100 °C mayor que la

temperatura de trabajo máxima de la columna, estabilidad térmica, químicamente inerte.
[34]

El detector es el componente que detecta el compuesto separado, es decir, mide y emite la señal detectada, la cual es proporcional a la concentración del analito. La señal es ampliada si es necesario y suministrada a un registrador adecuado, el cual provee el cromatograma.

[35] Existen varios tipos de detectores, los mismos que se diferencian en función de la señal que detectan.

1.8. DETECTOR FOTOMÉTRICO DE LLAMA PULSADA (PFPD)

El detector fotométrico de llama pulsada fue desarrollado a principios de 1990 por el Doctor Aviv Amirav. A diferencia del detector fotométrico de llama convencional, en el que la llama es continua, el PFPD se fundamenta en una llama pulsada.

1.8.1. FUNCIONAMIENTO DEL PFPD

El funcionamiento del PFPD se basa en una llama pulsada, por efecto de la ignición pulsada de una mezcla rica de hidrógeno y aire. Los estados de la pulsación de llama [36] se explican a continuación, y se pueden observar en la figura 1.5.

a) Llenado

La mezcla de hidrógeno/aire llena la cámara de combustión conjuntamente con el gas portador. Esta cámara se encuentra a la salida de la columna, por lo que el compuesto separado y eluido entra a esta cámara.

b) Ignición:

A medida que se va llenando la cámara de combustión, la mezcla de gases junto con el analito, pasan a la cámara de ignición. Cuando la mezcla de gases combustibles alcanza la resistencia, ésta entra en ignición.

c) Propagación:

La llama se propaga en toda la cámara de ignición, pero al alcanzar el tope de la cámara de combustión, la llama se extingue. Durante este proceso de propagación, las moléculas del analito eluido se fragmentan por efecto de la llama, y dan lugar a la formación de moléculas más simples o átomos.

a) Emisión:

La emisión de la llama se completa en menos de 3 a 4 milisegundos después de la propagación. Durante y después de la propagación de la llama, los átomos del analito sufren una reacción en la que forman especies excitadas y emiten radiación durante un tiempo mucho más largo, alrededor 20 milisegundos.

Esta diferencia en los tiempos de emisión, entre las especies excitadas de azufre y fósforo, mejoran la detectividad y selectividad del PFPD. Las emisiones de radiación de las especies excitadas son filtradas y detectadas por el fototubo-multiplicador, el mismo que amplifica la señal.

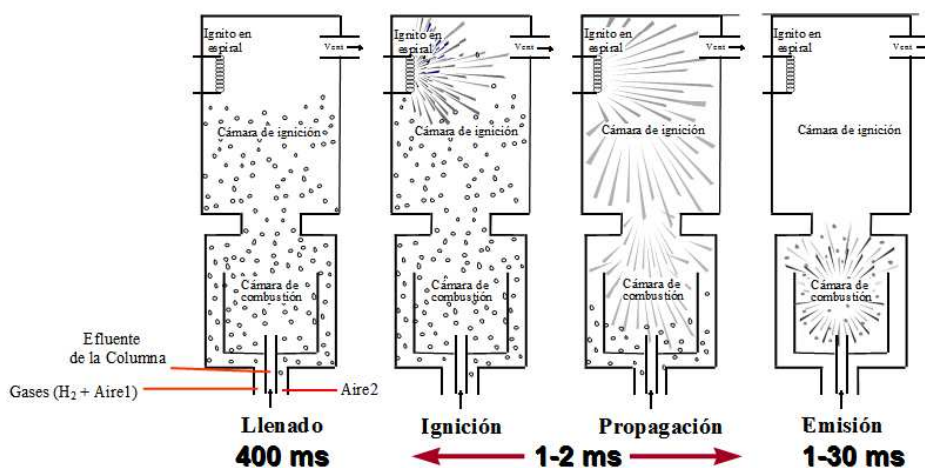


Figura 1.5. Estados de la pulsación de llama

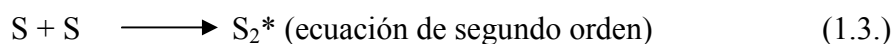
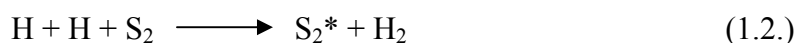
Las especies excitadas de fósforo, emiten bandas de radiación centradas alrededor de 510 y 526 nm; mientras que el azufre emite una banda centrada en 394 nm.

A continuación se muestran las ecuaciones de formación de las especies excitadas:

Emisiones de fósforo



Emisiones de azufre



1.8.2. EMISIONES DE FONDO

Las llamas ricas en hidrógeno favorecen reacciones químicas que generan productos moleculares que emiten luz. Cuando los hidrocarburos que conforman la molécula del

analito se combustionan, forman productos de combustión excitados como: CH*, C₂* y OH*, éstos emiten radiación en la región azul a 436 nm. [37]



La luz emitida por estos productos de combustión se llama *emisión de fondo*, y éstas suceden al mismo tiempo que la propagación de la llama, por lo que esta emisión de fondo se anula electrónicamente.

1.8.3. DIFERENCIAS DEL FPD Y PFPD

En un detector convencional fotométrico de llama (FPD), el compuesto de interés se combustiona en una llama rica de hidrógeno/aire para dar lugar a especies excitadas que emiten radiación, la misma que es filtrada y amplificada. Sin embargo, en este tipo de detector, la detectividad es limitada por las emisiones de fondo continuas (combustión de CH*, C₂* y OH*); estas emisiones de fondo no son totalmente eliminadas y se tienen muchas interferencias de hidrocarburos.

La solución al problema de las interferencias, fue el reducir el flujo del gas combustible (hidrógeno), tan bajo que la llama continua no pueda ser alimentada. Al dar lugar a la ignición y propagación de la llama, esta se apaga, volviéndose a llenar la cámara de combustión con la mezcla combustible para dar inicio nuevamente al ciclo.

1.8.4. FUNCIONES DEL ELECTROMÉTRO DEL PFPD

Las principales funciones del electrómetro del PFPD son:

- Tiempo de puerta: es el tiempo, en milisegundos, después del disparo, antes de que se inicie la integración de la señal del detector.
- Ancho de puerta: es el tiempo, en milisegundos, después del tiempo de puerta, durante el cual se integra la señal del detector.

El tiempo y ancho de puerta del electrómetro se utilizan para seleccionar el periodo de tiempo del espectro de emisión a integrar, es decir, se utilizan para vigilar una región específica del perfil de emisión total, de forma que se pueda detectar bajas concentraciones de fósforo en presencia de altas concentraciones de azufre. [38]

Ajustando los tiempos de puerta de forma que se equilibren, se tiene una buena cromatografía, es decir, mejor separación de los compuestos y mayor selectividad.

La puerta debe estar ajustada para abrirse o disparar, lo más cerca del pico principal, en vez de antes o después. Ajustando correctamente la puerta, se evita que las respuestas de hidrocarburos y fósforo se solapen.

El fósforo se emite más pronto que el azufre, por lo que un menor tiempo de puerta, mejorará la selectividad.

1.8.5. FLUJOS DE LA MEZCLA GASEOSA HIDRÓGENO / AIRE

La mejora en detectividad y selectividad se logra también al incrementar las emisiones relativas de los elementos a analizar, gracias a una adecuada elección de la composición gaseosa.

La detectividad se refiere a la mínima cantidad detectable de fósforo o azufre, expresada en femtogramos de fósforo o azufre por segundo (P o S/ seg).

La detectividad es el mejor método para expresar la sensibilidad de un método de detección, porque toma en cuenta la relación señal / ruido. [39]

Las llamas ricas en aire favorecen la emisión de fósforo con respecto al azufre, ya que se suprime la formación de S_2^* , con lo cual la reducción de la relación hidrógeno/aire, incrementará la selectividad de la relación fósforo/azufre. De igual manera, el contenido de hidrógeno tiene menor efecto sobre la emisión del fósforo, por lo que las llamas ricas en hidrógeno son más frías e incrementa la formación de S_2^* .

1.8.6. VENTAJAS DEL PFPD

El PFPD tiene alta selectividad y sensibilidad frente a compuestos que contienen fósforo y azufre, pues se eliminan las emisiones de fondo, disminuyendo la presencia de interferencias. Además, consume 10 veces menos volumen/minuto de hidrógeno y aire al formar una llama pulsada, y no continua. [40]

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MUESTREO

El muestreo se realizó en la Provincia de Tungurahua, Cantón Píllaro, Parroquia “Presidente Urbina”, Barrio “Penileo”, en dos cultivos de tomate de árbol “redondo”, los cuales son manejados bajo apropiadas y no apropiadas prácticas agrícolas, respectivamente. Ver figura 2.1.



Figura 2.1. División Cantonal de la Provincia de Tungurahua

Las diferencias entre ambos huertos muestreados se observan en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Diferencias entre los huertos muestreados

Características Generales	Condiciones Agrícolas	
	Apropiadas	No Apropiadas
Superficie del terreno	1200 m ²	1000 m ²
Tiempo que cultiva el tomate de árbol	20 años	10 años
Tiempo desde la última siembra	1 año	4 años
No. Arbustos	120	100
Distancia de siembra entre plantas	1,80 m	1,50 m
Distancia de siembra entre hileras	3 m	2 m
No. de recolección de frutos por planta	4 a 6	3 a 4
Dosis de aplicación de diazinón	60mL/100L	80mL/100L

Como se puede ver, en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas, la mayor distancia entre los arbustos, permite que las hojas entre plantas no se entrelacen y el fruto reciba más luz, lo que hace que exista una menor cantidad de problemas fitosanitarios, y el propietario aplique una menor cantidad de agroquímicos.

Por otra parte, en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, las menores distancias de siembra, el tiempo que lleva el cultivo y la falta de un control adecuado, han hecho que en este cultivo se desarrollen una gran cantidad de plagas y enfermedades. El propietario de este cultivo, aplica productos químicos de acuerdo a las instrucciones dadas por el almacén agropecuario, y los tomates enfermos se encuentran dispersos a lo largo del cultivo, lo que representa una fuente de más contaminación para los frutos sanos. Ver Anexo 1.

De cada huerto en estudio se eligieron 20 arbustos, como lo muestra la figura 2.2. Las muestras se tomaron dejando los bordes del cultivo, y entre cada fila se saltó una planta, mientras que entre hileras, se realizó a manera de *zig-zag*.

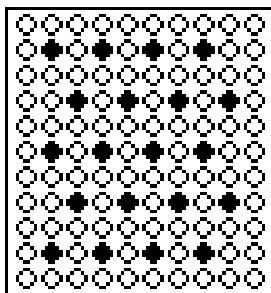


Figura 2.2. Diagrama de la forma de muestreo

De cada arbusto se tomaron entre 3 a 4 frutos de la parte media, obteniendo un total de 20 muestras compuestas por cada cultivo. Las muestras fueron recolectadas en fundas plásticas transparentes, y se las almacenó en un lugar seco y oscuro. Al día siguiente de la recolección de las muestras, éstas fueron refrigeradas en el laboratorio.

Las muestras fueron codificadas en orden secuencial, empezando con el cultivo en el que se manejan apropiadas prácticas agrícolas, que desde ahora será llamado Huerto No. 1, y siguiendo con el cultivo bajo prácticas agrícolas no apropiadas, Huerto No. 2, como lo muestra la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Codificación de las muestras

Huerto No. 1 manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas	Huerto No. 2 manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas
M1, M2, M3, M4, ... M20	M21, M22, M23, M24, ... M40

Los dos huertos en estudio fueron muestreados el día que cada propietario realizó la cosecha, 6 días después de la fumigación.

2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para la determinación de residuos del plaguicida diazinón, cada muestra compuesta fue sometida a trituración y extracción, sin lavar, dejando la cáscara y eliminando el pedúnculo de los frutos. Los extractos obtenidos fueron purificados mediante extracción en fase sólida (SPE), empleando cartuchos *Waters* de sílica gel, para su posterior análisis mediante cromatografía de gases con detector fotométrico de llama pulsada.

2.2.1. EQUIPOS:

- Balanza Analítica, *Adventurer OHAUS*, Max 310g
- Balanza Analítica, *KERN*, Max 220g/82g d = 0,1mg/0,01mg
- Cromatógrafo de Gases, *VARIAN CP – 3800* con detector PFPD
- Columna Varian CPSil 8 CB
- Auto-inyector, *VARIAN CombiPAL*
- Ultraturrax, *KIKA - WERK*
- Manifold para SPE, *AGILENT TECHNOLOGIES*
- Bomba de vacío, *GENERAL ELECTRIC*
- Ultrasonido, *BRANSON 8510*
- Rotavapor, *BÜCHI 011*

2.2.2. MATERIALES:

- Balones aforados de 10 y 100 mL, calibrados Clase A
- Balones de base redonda de 100 mL
- Vasos de precipitación de 100 y 1000 mL
- Probetas graduadas de 10 y 100 mL
- Embudos de vidrio
- Papel filtro cuantitativo de 8 cm de diámetro
- Pipetas Pasteur de 14,6 cm
- Espátula metálica
- Viales de vidrio con tapa de 20 mL
- Viales de inyección color ámbar (ver Anexo 5)
- Cartuchos Waters de extracción en fase sólida de sílica gel de 500 mg (ver Anexo 5)
- Micro-pipetas de 10 a 100 μ L

2.2.3. REACTIVOS:

- Diclorometano, J.T. Baker, Ultra Resi - Analyzed
- Acetona, J.T. Baker, Ultra Resi - Analyzed
- Isooctano, J.T. Baker, Ultra Resi - Analyzed
- Sulfato de sodio, Merck, Grado Analítico
- Cloruro de sodio, Fluka Chemie, Grado Analítico

2.2.4. ESTÁNDARES:

- Estándar de Diazinón, Dr. Ehrenstorfer, Pureza 97,5% (ver Anexo 5)

2.2.5. SOLUCIONES:

Se prepararon las siguientes soluciones:

- Solución madre de diazinón: Se pesaron 11 mg de diazinón y se aforó con isooctano a 100 mL, obteniendo una concentración de 110 mg/L (ppm).
- Soluciones para la curva de calibración con el método de adición de estándar: Cada blanco matriz fue fortificado con una alícuota de la solución madre, fue sometido a extracción, purificación y aforado con isooctano a 10 mL, obteniendo cinco soluciones con las siguientes concentraciones: 55, 110, 220, 440 y 660 µg/kg (ppb).

2.2.6. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN:

El método de extracción y purificación que se utilizó para la determinación de residuos de diazinón en tomate de árbol, fue el siguiente:

- A cada muestra recolectada de los arbustos de tomate de árbol, se la corta en pequeños trozos para proceder a la trituration empleando el ultraturrax.
- Pesar 5,000 g de muestra en un vial de 20 mL. Agregar 1,5 g de cloruro de sodio a cada muestra y extraer con el siguiente procedimiento:

- Adicionar 10 mL de acetona, agitar y dejar reposar por 5 minutos.
- Adicionar nuevamente a la muestra, 5 mL de diclorometano agitar.
- Someter el extracto al ultrasonido durante 20 minutos.
- Transcurridos los 20 minutos en el ultraturrax, a cada extracto se añade 1 g de sulfato de sodio anhidro.
- Activar los cartuchos de sílica gel (SPE) con 10 mL de diclorometano, sin dejar secar.
- El extracto obtenido, se lo hace pasar a través de los cartuchos de sílica gel (SPE).
- Luego se eluye el extracto retenido en los cartuchos, con 10 mL de la mezcla de diclorometano: acetona (70:30), y se lo recoge en un balón de base redonda.
- Concentrar el extracto hasta obtener 0,5mL.
- Adicionar 2 mL de isooctano y concentrar nuevamente sin llegar a sequedad.
- El extracto se transfiere a un balón aforado, filtrándolo a través de sulfato de sodio anhidro, y se afora con isooctano a 10 mL.
- Se toma una alícuota de la muestra en los viales de inyección, debidamente rotulados, para ser inyectados en el cromatógrafo de gases con PFPD.

2.3. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO

2.3.1. EQUIPOS:

- Cromatógrafo de Gases, *VARIAN CP – 3800* con detector PFPD
- Columna Varian CPSil 8 CB
- Auto - inyector, *VARIAN CombiPAL*

2.3.2. MATERIALES:

- Balón aforado de 10 mL
- Micro-pipeta de 10 a 100 μ L
- Vial de inyección color ámbar

2.3.3. REACTIVOS:

- Isooctano, J.T. Baker, Ultra Resi - Analyzed

2.3.4. SOLUCIONES:

- Solución de 1 mg/L (ppm) de diazinón: Se toman 91 μ L de la solución madre y se afora con isooctano a 10 mL.

2.3.5. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS ÓPTIMAS

Para la determinación de las condiciones cromatográficas óptimas, se utilizó una columna Varian CPSil 8 CB (ver tabla 2.3.), y el detector fotométrico de llama pulsada (PFPD), en modo fósforo.

Tabla 2.3. Características de la columna Varian CPSil 8 CB

Composición	5% fenil, 95% dimetilpolisiloxano
Longitud	30 m
Diámetro interno	0,32 mm
Espesor	0,25 μ m

Se efectuaron una serie de ensayos variando la temperatura del inyector, la rampa de temperatura de la columna, las condiciones de tiempo y ancho de puerta, y flujo de aire 2 del detector, con el fin de obtener la máxima respuesta posible para el diazinón. Estos ensayos fueron realizados inyectando 1µL de una solución de diazinón, cuya concentración es de 1 mg/L (ppm), en modo *splitless*, es decir, sin división de flujo. La comparación entre los ensayos, se efectuó en base al área del pico de diazinón.

El ensayo número 24 es el que se optimizó para la determinación de residuos de diazinón, pues es el que presenta mayor área, 273314, con un tiempo de puerta de 2,5 ms, ancho de puerta de 4,0 ms y flujo de aire 2 de 12,0 mL/min. El tiempo de retención del diazinón es de 7,94 minutos, y sus condiciones cromatográficas se muestran en la tabla 2.4.

Tabla 2.4. Condiciones optimizadas del ensayo No. 24

<i>Parámetro</i>	<i>Condición</i>			
Temperatura inyector	280 °C			
Modo de inyección	Splitless			
Gas portador (Nitrógeno)	1 mL/min			
Detector	PFPD en modo fósforo			
	Tiempo de puerta (ms)		Ancho de puerta (ms)	
	2,5		4,0	
Temperatura detector	300 °C			
Flujo (Hidrógeno)	14,0 mL/min			
Flujo (Aire 1)	17,0 mL/min			
Flujo (Aire 2)	12,0 mL/min			
Temperatura del horno	Temp (°C)	Rate (°C/min)	Hold (min)	Total (min)
	50		1,00	
	150	40,0	0,00	
	280	20,0	11,00	21,00

2.4. DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE DIAZINÓN EN TOMATE DE ÁRBOL

El análisis de residuos de diazinón se trabajó bajo las condiciones del ensayo optimizado No. 24 (tabla 2.4.), inyectando cuatro veces cada muestra.

Al analizar las muestras de tomate de árbol para cada huerto, se realizó un duplicado en las muestras No. 20 y 40; mientras que se realizaron cuatro blancos de solventes de la siguiente manera:

Blanco de solvente – M1.....M10..... M20 – Blanco de solvente

Blanco de solvente – M21.....M30..... M40 – Blanco de solvente

Para la cuantificación se preparó una curva de calibración con el método de adición de estándar, en un rango entre 55 a 660 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).

2.4.1. PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN CON MÉTODO DE ADICIÓN DE ESTÁNDAR

Para evitar el efecto matriz se construye la curva de calibración con el método de adición de estándar, tomando 5 g de una muestra libre del analito (blanco matriz) y se le añade o fortifica con cantidades conocidas y crecientes de la solución madre, para obtener las siguientes concentraciones: 55, 110, 220, 440 y 660 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).

Para cada punto de la curva de calibración se tomaron distintas alícuotas de la solución madre, como lo indica la tabla 2.5.:

Tabla 2.5. Alícuotas tomadas de la solución madre para la preparación de la curva de calibración con método de adición de estándar

Concentración ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Alícuota (μL)
55	5
110	10
220	20
440	40
660	60

El efecto matriz puede ser causa de la disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes. Para la misma concentración de analito, el análisis de la muestra real o de una solución estándar del analito puro, no proporciona la misma respuesta instrumental. El efecto matriz provoca un error sistemático proporcional, es decir, depende de la concentración de analito en la muestra. [41] Tanto el blanco matriz como las fortificaciones para la curva de calibración, fueron sometidas a proceso de extracción y purificación.

El cromatograma del blanco matriz se muestra en la figura 2.3.

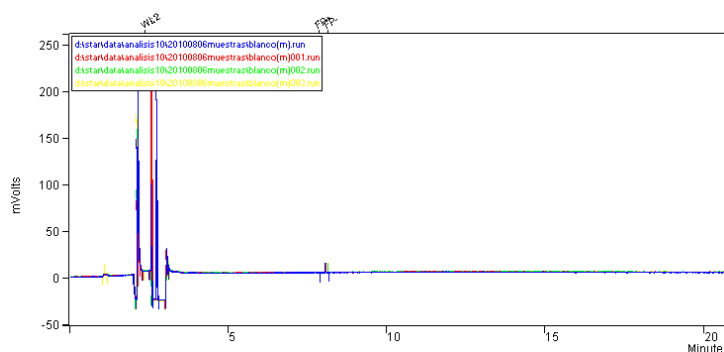


Figura 2.3. Cromatograma del blanco matriz

De cada punto de la curva de calibración, se realizaron cuatro inyecciones, de las cuales se obtuvo el promedio de las áreas, y se resume en la tabla 2.6. El respectivo cromatograma se observa en la figura 2.4.

Tabla 2.6. Áreas de la curva de calibración con método de adición de estándar

Concentración (µg/kg)	Promedio de las áreas	Desv. Estándar
55	11176	145,618
110	21000	442,738
220	54127	614,581
440	115122	402,844
660	174374	3627,137

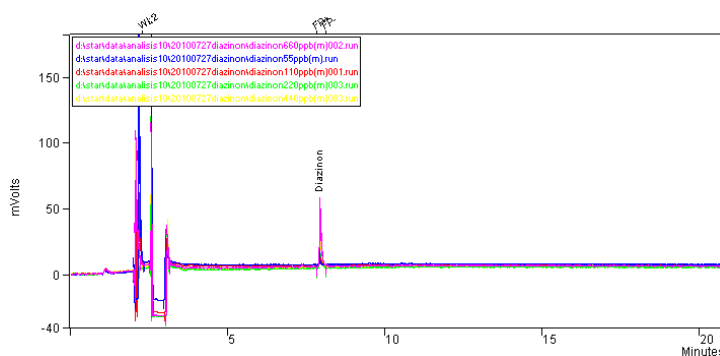


Figura 2.4. Cromatograma de la curva de calibración con método de adición de estándar

El equipo realiza la curva de calibración con el tamaño del pico (área) vs. concentración (µg/kg), obteniendo una regresión lineal de: 0,999, como lo muestra la figura 2.5.

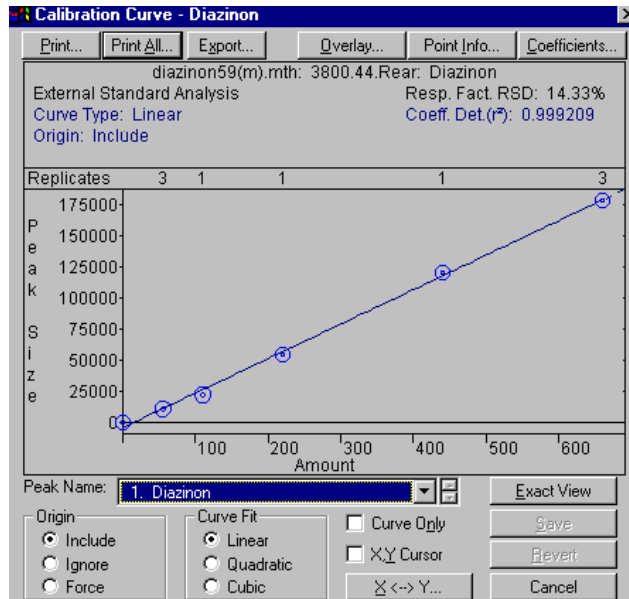


Figura 2.5. Curva de calibración con método de adición de estándar

2.4.2. LÍMITE DE DETECCIÓN

Se determinó el límite de detección, realizando 10 lecturas de la señal del blanco matriz. De estas lecturas se obtuvo la desviación estándar y se multiplicó por 3. Ver tabla 2.7.

Tabla 2.7. Determinación del límite de detección

No. Lectura	Señal Medida
1	1,2
2	1,1
3	1,6
4	1,4
5	1,5
6	1,0
7	1,3
8	1,5
9	1,2
10	1,6
S	0,21
LD (µg/kg)	0,64

2.4.3. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Se determinó el límite de cuantificación, realizando 10 lecturas de la señal del blanco matriz. De estas lecturas se obtuvo la desviación estándar y se multiplicó por 10. Ver tabla 2.8.

Tabla 2.8. Determinación del límite de cuantificación

No. Lectura	Señal Medida
1	1,2
2	1,1
3	1,6
4	1,4
5	1,5
6	1,0
7	1,3
8	1,5
9	1,2
10	1,6
S	0,21
LC (µg/kg)	2,12

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MÉTODO

Se realizaron diez fortificaciones a tres diferentes niveles de concentración: 110, 220 y 440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) de un blanco matriz, con el fin de determinar el porcentaje de recuperación de la extracción.

En cuanto a la eficiencia del método, los resultados de recuperación se muestran en la tabla 3.1., 3.2. y 3.3., para cada uno de los niveles de concentración, respectivamente.

3.1.1. FORTIFICACIONES DE DIAZINÓN A 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)

Tabla 3.1. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)

	Área Teórica	Áreas						
No. Fort.	Media	1	2	3	4	Media	Desv. Est.	R (%)
1	21000	19759	18983	19802	20802	19837	746	94,46
2	21000	20132	20018	19883	19986	20005	103	95,26
3	21000	19190	18837	18899	19038	18991	157	90,43
4	21000	19984	20035	20156	19696	19968	195	95,08
5	21000	20378	20583	20489	19947	20349	281	96,90
6	21000	18865	19502	19222	19705	19324	364	92,02
7	21000	20208	20159	20499	19988	20214	212	96,25
8	21000	19718	20006	19993	20168	19971	187	95,10
9	21000	19455	19310	18942	18841	19137	293	91,13
10	21000	20160	19984	19896	19835	19969	141	95,09
						Promedio		94,17

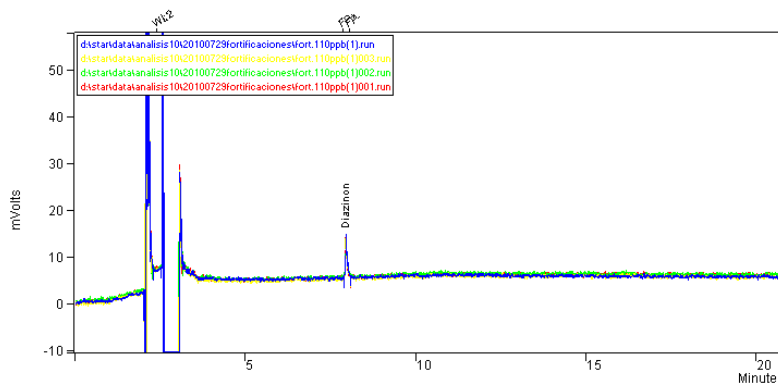


Figura 3.1. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)

3.1.2 FORTIFICACIONES DE DIAZINÓN A 220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)

Tabla 3.2. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)

No. Fort.	Área Teórica	Áreas Experimentales				Media	Desv. Est.	R (%)
	Media	1	2	3	4			
1	54127	52643	52507	52292	51962	52351	297	96,72
2	54127	51280	51070	51115	51131	51149	91	94,50
3	54127	50907	51106	50974	51083	51018	93	94,26
4	54127	52021	51768	51859	52120	51942	158	95,96
5	54127	51658	52133	51704	52056	51888	242	95,86
6	54127	51294	50880	51475	51202	51213	249	94,62
7	54127	51082	51147	51195	51169	51148	48	94,50
8	54127	50905	50761	50987	50794	50862	104	93,97
9	54127	51281	51185	51449	50913	51207	224	94,61
10	54127	51060	51198	51457	51068	51196	185	94,58
						Promedio		94,96

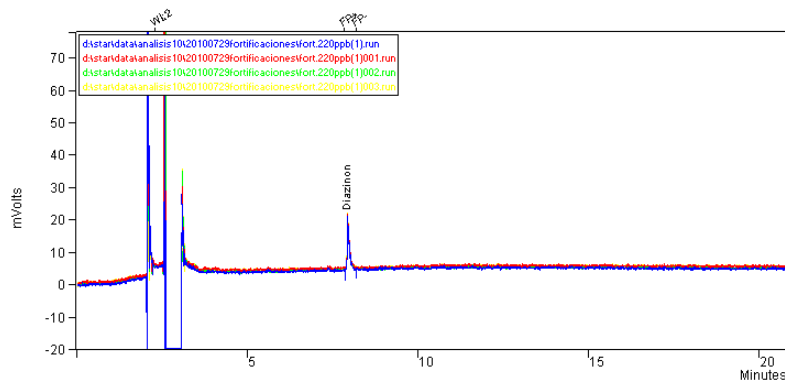


Figura 3.2. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 220 µg/kg (ppb)

3.1.3 FORTIFICACIONES DE DIAZINÓN A 440 µg/kg (ppb)

Tabla 3.3. Porcentaje de recuperación para las fortificaciones a 440 µg/kg (ppb)

No. Fort.	Área Teórica	Área Experimentales				Media	Desv. Est.	R (%)
	Media	1	2	3	4			
1	115122	112172	112418	111975	112519	112271	245	97,52
2	115122	112785	112636	112123	112725	112567	302	97,78
3	115122	111387	111017	111318	111695	111354	278	96,73
4	115122	111015	110785	110623	110840	110816	162	96,26
5	115122	110164	109923	109835	109891	109953	145	95,51
6	115122	112387	112485	112348	112427	112412	59	97,65
7	115122	109685	109571	110024	110153	109858	275	95,43
8	115122	111021	110850	111456	111450	111194	307	96,59
9	115122	113043	112702	112835	112668	112812	170	97,99
10	115122	110368	110057	110290	110005	110180	176	95,71
						Promedio		96,72

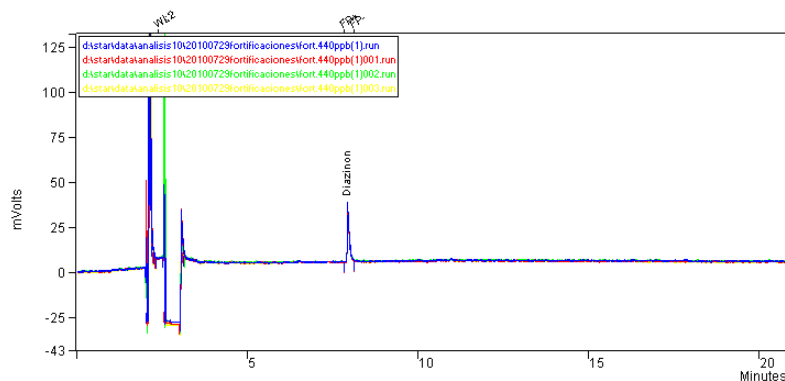


Figura 3.3. Cromatograma de las fortificaciones de diazinón a 440 µg/kg (ppb)

3.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los porcentajes de recuperación del método de extracción para los residuos de diazinón, están en un intervalo entre el 94 al 96%, lo que indica que el proceso es eficiente, si se toma en cuenta que se trata de una matriz compleja, en la que existe una gran cantidad de interferencias o coextractantes, tales como: pigmentos, grasas, proteínas; dificultando la extracción y el análisis del analito de interés.

El parámetro considerado como base para cualificar si los tomates de árbol analizados, son aptos o no, tanto para la exportación, así como para consumo interno, es el límite máximo de residuos de plaguicidas, establecido por la Comisión del Codex Alimentarius, el mismo que recomienda como aceptable **100 µg/kg** de diazinón en frutas.

Tanto el Codex Alimentarius como la Unión Europea, no han establecido límites máximos de residuos de diazinón para el tomate de árbol o tamarillo. Sin embargo, los LMRs de diazinón en tomate de árbol, aceptados por países como Japón, Indonesia y Suiza, son: 50, 100 y 500 µg/kg, respectivamente.

La Legislación Española sugiere que para frutos con o sin cáscara, los límites máximos de diazinón, sean de 50 µg/kg; mientras que para Australia, Nueva Zelanda y Singapur, los límites de residuos máximos para frutas son de 500 µg/kg.

A partir de los datos de la tabla 3.4., se grafica la curva de calibración con el método de adición de estándar (ver figura 3.4.), con su respectiva ecuación de la recta.

Tabla 3.4. Concentración y áreas del diazinón para la curva de calibración con método de adición de estándar

Concentración (µg/kg)	Área
55	11176
110	21000
220	54127
440	115122
660	174374

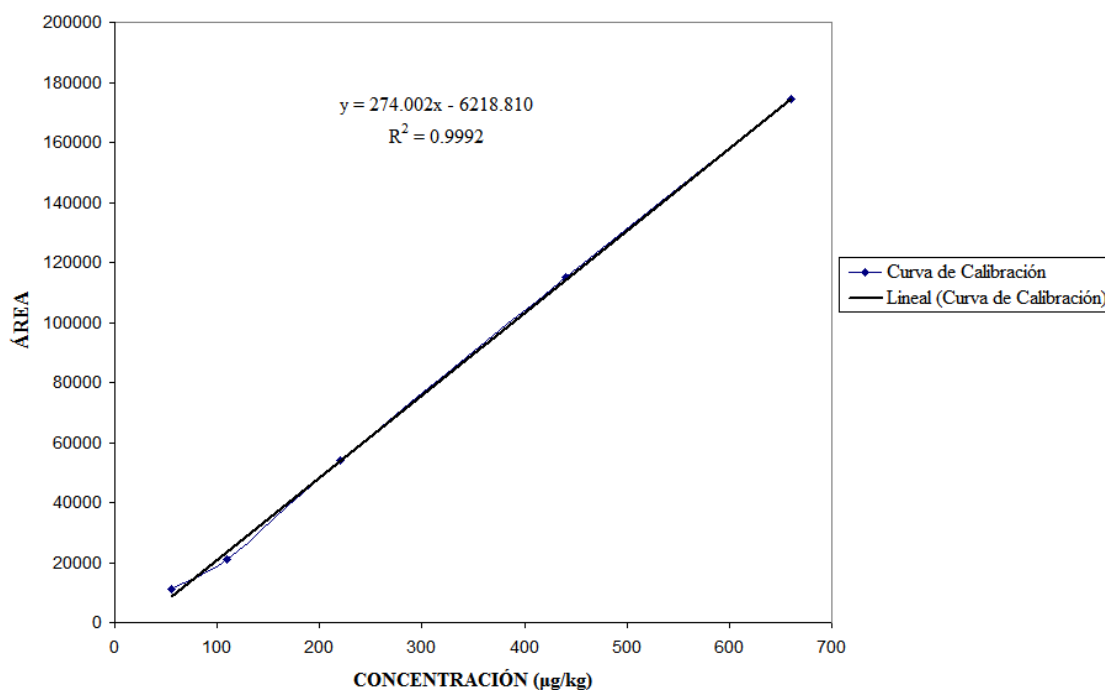


Figura 3.4. Curva de calibración con método de adición de estándar

Con las condiciones optimizadas en el ensayo No. 24, se inyectó cada muestra cuatro veces en el cromatógrafo de gases con detector fotométrico de llama pulsada (PFPD).

En la tabla 3.5. y 3.6., se muestran los promedios de la concentración de residuos de diazinón para cada muestra de tomate de árbol analizada; mientras que en el Anexo 3 se indican los resultados individuales, correspondientes a cada huerto muestreado.

A partir de la ecuación de la recta, utilizando el área de los picos, se procedió a cuantificar los residuos de diazinón (ver Anexo 3). La ecuación de la recta, fue la siguiente:

$$y = 274,002 x - 6218,810 \quad (3.1.)$$

Tabla 3.5. Concentración de diazinón para las muestras del huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas

No. Muestra	Promedio Concentración (µg/kg)	Desv. Est.	C.V. (%)
M1	240	1.577	0.657
M2	292	0.819	0.281
M3	159	1.057	0.665
M4	237	0.918	0.388
M5	181	0.684	0.377
M6	227	1.407	0.621
M7	308	0.916	0.297
M8	206	1.489	0.722
M9	272	1.394	0.512
M10	150	0.635	0.422
M11	176	0.940	0.535
M12	202	0.575	0.285
M13	286	0.512	0.179
M14	157	0.826	0.525
M15	128	0.511	0.399
M16	293	0.906	0.309
M17	204	0.716	0.351
M18	161	1.476	0.919
M19	332	0.604	0.182
M20	243	0.682	0.280
M20 Duplicado	243	0.670	0.276

Tabla 3.6. Concentración de diazinón para las muestras del huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas

No. Muestra	Promedio Concentración (µg/kg)	Desv. Est.	C.V. (%)
M21	589	0.779	0.132
M22	428	0.991	0.231
M23	363	1.364	0.376
M24	540	0.940	0.174
M25	552	0.454	0.082
M26	662	0.458	0.069
M27	435	1.021	0.235
M28	543	0.930	0.171
M29	511	0.746	0.146
M30	504	1.179	0.234
M31	583	1.200	0.206
M32	574	1.082	0.189
M33	518	0.636	0.123
M34	412	1.415	0.343
M35	451	0.688	0.152
M36	386	0.684	0.177
M37	508	0.385	0.076
M38	404	0.473	0.117
M39	487	0.884	0.182
M40	497	0.590	0.119
M40 Duplicado	497	0.604	0.122

En el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas, se mejoraron las distancias de siembra (1,80 x 3m), permitiendo que las hojas entre plantas no se entrelacen, el fruto reciba más luz, y exista una menor cantidad de enfermedades fitosanitarias, por lo que hay un menor empleo diazinón en el cultivo, alrededor de 60mL/100L; mientras que en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, la mayor incidencia de plagas, inducen a una mayor aplicación de diazinón, alrededor de 80mL/100L.

El producto comercial aplicado fue el Basudín 600EC, el cual es comercializado por Ecuaquímica C.A.

Considerando lo anterior, los huertos en estudio sobrepasan los límites máximos de residuos de diazinón. Para el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas, se tiene un rango de residuos de 128 a 332 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb); mientras que en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, los residuos van desde 363 a 662 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).

Se debe tomar en cuenta, que los huertos fueron muestreados una semana después de la fumigación, y que el análisis fue realizado en la semana inmediata a la toma de las muestras, por lo que la eliminación o degradación del plaguicida por lluvia o radiación solar, no fue significativa.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- El detector fotométrico de llama pulsada (PFPD) es un detector selectivo, sensible y sumamente robusto. Bajo las condiciones cromatográficas optimizadas para el análisis de diazinón, se pudo alcanzar un límite de detección de 0,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb), y un límite de cuantificación de 2,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).
- La optimización del ancho y tiempo de puerta del detector se realizó variando dichos parámetros hasta obtener la mayor respuesta para el pico de diazinón. El ensayo optimizado indica que el tiempo de puerta debe ser de 2.5 ms y el ancho de puerta de 4 ms.
- Se realizó también la variación de flujo del aire 2, ya que según las revisiones bibliográficas, una llama ligeramente más rica en aire, favorece la emisión de fósforo, permitiendo una mejor detección del diazinón. El flujo optimizado fue de 12,0 mL/min.
- En el PFPD la detectividad es mejor ya que toda la emisión se produce durante e inmediatamente después de la propagación de la llama, incrementándose la luminosidad de la señal analítica.

- El análisis de diazinón se optimizó realizando varios ensayos en los que se varió la temperatura del inyector y la rampa de temperatura, obteniendo buenos resultados con una temperatura de inyector a 280 °C y una rampa que va desde 50 a 280 °C. Además se logró reducir el tiempo de análisis a 21 minutos.
- Al realizar la curva de calibración con el método de adición de estándar, se elimina el efecto matriz, mejorando la detección del diazinón, es decir, se mejora la selectividad y la respuesta del mismo frente a la presencia de interferencias o coextractantes presentes en la muestra.
- El proceso de extracción primeramente requiere la reducción del tamaño de partícula de la muestra, con el fin de incrementar la interacción de ésta con el solvente de extracción, y obtener una buena recuperación del analito que está siendo extraído, por lo que el empleo del ultraturrax da buenos resultados.
- El empleo de diclorometano y acetona como solventes de extracción se debe a que ambos presentan diferente polaridad y penetran en la matriz de la muestra, permitiendo la separación y solubilización del plaguicida.
- Al trabajar con bajos volúmenes de solventes orgánicos, se reducen los costos de los análisis, así como también se disminuye la generación de desechos de solventes, y la exposición del analista a sustancias tóxicas.
- La purificación del extracto o *clean – up* con cartuchos de SPE de sílica gel, permite la eliminación de las interferencias presentes en la matriz como agua,

grasas, proteínas y pigmentos, lo cual dificulta el análisis total del analito de interés; sin embargo, el empleo de cartuchos ocasiona pequeñas pérdidas del plaguicida en estudio debido a la retención del mismo.

- Una ventaja de la extracción en fase sólida (SPE), es la reducción de los volúmenes de los solventes orgánicos, necesarios para la elución del analito retenido.
- Se comprobó la eficiencia del proceso de extracción mediante las fortificaciones realizadas a los tres puntos medios de la curva de calibración: 110, 220 y 440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb), en donde se obtuvieron recuperaciones promedio de: 94,17, 94,96 y 96,72%, respectivamente.
- En el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas, la cantidad de coctel aplicado (mezcla de plaguicidas), contiene alrededor de 60mL/100L de Basudín 600EC; mientras que en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, se aplican 80mL/100L del mismo producto comercial a la mezcla.
- En el huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas se obtuvo un intervalo de residuos de diazinón que va desde 128 a 332 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb); mientras que en el huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, los residuos van desde 363 a 662 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb).
- En base a la bibliografía revisada, los límites máximos de residuos de diazinón establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius, para frutas, es de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb), por lo que todas las muestras analizadas no cumplen con lo establecido.

Debe tomarse en cuenta que los cultivos fueron muestreados 6 días después de la fumigación, por lo que los residuos del plaguicida pueden persistir hasta que el alimento llegue al consumidor.

En cuanto a las condiciones climáticas, no se presentaron precipitaciones constantes, por lo que la eliminación del plaguicida por lluvia, no fue significativa.

- La determinación de residuos de diazinón en tomate de árbol se hizo para determinar si las concentraciones de este plaguicida, bajo las dos condiciones de cultivo estudiadas, cumplen con las normas establecidas, y así precautelar la salud del consumidor.
- De acuerdo a la cantidad aplicada de diazinón, y al periodo transcurrido entre la última aplicación y la cosecha, la concentración de residuos encontrados en ambos cultivos, excedió el límite máximo de residuos. Por otra parte, se debe implementar el manejo integrado de plagas o buenas prácticas agrícolas que permitan el uso de plaguicidas autorizados para un control eficaz y fiable de las plagas.
- Para que el Ecuador pueda exportar tomate de árbol, cumpliendo con las normas establecidas internacionalmente, se deben mejorar las técnicas de manejo de cultivos, implementado: nuevos sistemas de control de plagas y enfermedades, y correctas distancias de siembra que faciliten el control fitosanitario; es decir, se deben aplicar prácticas agrícolas apropiadas, con un empleo mesurado de agroquímicos.

4.2. RECOMENDACIONES

- Desde el punto de vista analítico, se recomienda realizar la curva de calibración con el método de adición de estándar, con el fin de eliminar el efecto matriz que puede influir en la cuantificación de los resultados, debido a la presencia de interferencias presentes en la matriz.
- Se recomienda aplicar el método de extracción y purificación, para la determinación de otros plaguicidas organofosforados, con el fin de comprobar la eficiencia del método frente a otros compuestos.
- Igualmente, es recomendable ampliar las especies de alimentos analizados, e incluir variedades altamente sensibles a las plagas, para comprobar la aplicación inadecuada e intensiva de agroquímicos.
- La aplicación de diazinón a los cultivos de tomate de árbol se recomienda que se la haga entre 10 a 12 días antes de la cosecha, con el fin de que las concentraciones de los residuos disminuyan, y así evitar que el agroquímico llegue al consumidor.
- Finalmente, se recomienda realizar más estudios sobre la determinación de residuos de diazinón en tomate de árbol, para determinar los efectos de las condiciones climáticas, lluvia, radiación solar, etc., que afectarían la disipación del plaguicida.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Ministerio de Agricultura y Ganadería, (1996), Cultivo de tomate de árbol, http://intranet.petroecuador.com.ec/foncapid/pdf/tomate_de_arbol.pdf, 10 de febrero de 2010.

[2] Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, y Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, (1994), El cultivo del tomate de árbol, *Memorias del curso regional de actualización en frutas tropicales*, pp. 223 – 230.

[3] Calvo Villegas, Iván, (2009), Cultivo de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), *Proyecto Microcuenca Platón – Pacayas*, Boletín técnico No. 8, pp. 2 – 7.

[4] Bejarano, Ana Delia, (2002), Guía para la producción de frutales de clima frío moderado, http://www.misionrural.net/publicaciones/frutas_frio/cartilla_frutas.pdf, 17 de febrero de 2010.

[5] Centro de estudios rurales andinos “Bartolomé de las Casas”, (1997), *Tomate Andino*, Cusco, Perú.

[6] Lascano, Viviana, (2001), Competitividad del tomate de árbol, <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/tomate%20arbol/Estudio%20de%20Competitividad%20Tomate%20de%20Arbol.pdf>, 10 de febrero de 2010.

[7] Gerencia Regional de Recursos Naturales y Gestión del Medio Ambiente, (2006), *Tomate de árbol (Cyphomandra betacea Send.)*, Trujillo, Perú.

[8] Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Centro Internacional de Agricultura Tropical, (2006), *Estudio de mercado para Tomate de árbol (Cyphomandra betacea), Uchuva (Physalis peruviana), y Granadilla (Passiflora ligularis), en Colombia, la Región Andina y Norteamérica, como frutas frescas y procesadas*, Bogotá, Colombia.

[9] Zambrano, Alexandra, (2007), El tomate de árbol y el peligro de las plagas, *EL AGRO*, Edición 130, pp. 36 – 38.

[10] Diario El Hoy, (2008), Bebidas de frutas se toman el mercado, <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/frutas-con-sabor-a-ecuador-324144.html>, 24 de junio de 2010.

[11] Carrero, José María, (1995), *Plagas del Campo*, 12.^a edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

[12] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, (2001), Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia, Bogotá, Colombia.

- [13] Betancourt, Carlos, y Scatoni, Iris, (1999), Guía de insectos y ácaros de importancia agrícola y forestal en el Uruguay, <http://www.laguiasata.com/nezara.html>, 18 de agosto de 2010.
- [14] Lamonarca, F., (1992), *Los árboles frutales*, Editorial De Vecchi, S.A., Barcelona, España.
- [15] Calderón, Esteban, (1993), *El esfuerzo del hombre, Fruticultura General*, 3.^a edición, Editorial Limusa, México D.F., México.
- [16] Dierksmeier, Gonzalo, (2001), *Plaguicidas, Residuos, efectos y presencia en el medio*, Editorial Científico- Técnica, La Habana, Cuba.
- [17] Yanggen, David, Crissman, Charles, Espinosa, Patricio, (2003), Los plaguicidas, Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador, CIP e INIAP. En: *Introducción*, Crissman, Ch., Sherwood S., y Yanggen, D., Ediciones Abya-Yala, Quito, Ecuador.
- [18] Bull, David, (1989), *Futuro incierto, Los plaguicidas y los pobres del Tercer Mundo*, Ediciones Abya-Yala, FEPP y Fundación Natura, Cayambe, Ecuador.
- [19] Comisión Nacional del Medio Ambiente, CONAMA, (1998), *Guía para el control y prevención de la contaminación industrial: Almacenamiento, transporte y aplicación de plaguicidas, insecticidas, pesticidas y fungicidas*, Santiago, Chile.

[20] Matthews, G.A., (2000), *Pesticide Application Methods*, Third edition, Blackwell Science, London, United Kingdom.

[21] Organización Panamericana de la Salud, OPS, (2006), Anexo B: Clasificación Toxicológica de los Plaguicidas, <http://www.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/proyectoPlaguicidas/pdfs/anexoB.pdf>, 25 de junio de 2010.

[22] Instituto Nacional de Salud Pública, Dirección de Ciencias Ambientales, (2001), *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición*, Cuernavaca, México.

[23] Cremlyn, R., (1982), *Plaguicidas modernos y su acción bioquímica*, 1.^a edición, Editorial Limusa, México D.F., México.

[24] Wagner, Travis, (1996), *Contaminación, causas y efectos*, 1.^a edición, Ediciones Gernika, S.A., México D.F., México.

[25] Mohammad, H. Badii, Varela, S., (2008), Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente, *Culcyt, Toxicología de insecticidas*, No. 28, pp. 5 – 17.

[26] Krieger, Robert I., (2001), *Handbook of Pesticide Toxicology*, Second edition, Academic Press, United States of America.

[27] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, (2007), Generalidades de los Plaguicidas, http://sisbib.unmsm.edu.pe/Bibvirtual/Tesis/Salud/Milla_C_O/generalidades.htm, 25 de junio de 2010.

[28] Paker, James, (1993), *Manejo y control de plagas de insectos, Volumen III*, 3.^a edición, Editorial Limusa, S.A., México D.F., México.

[29] Holum, John, (1971), *Fisicoquímica, Química Orgánica y Bioquímica*, Editorial Limusa – Wiley, S.A., México D.F., México.

[30] Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, ATSDR, (1997), *Diazinón*, Atlanta, Estados Unidos de Norteamérica.

[31] Extension Toxicology Network, EXTTOXNET, (1996), *Pesticide Information Profiles, Diazinon*, Oregon, United States of America.

[32] Comisión del Codex Alimentarius, Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, (2006), Límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas, <http://www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.htm#E10E4>, 8 de julio de 2010.

[33] Coscolla, Ramón, (1993), *Residuos de Plaguicidas en Alimentos Vegetales*, 1.^a edición, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

- [34] Skoog, Douglas A., Holler, James y Timothy, Niema, (2001), *Principios de Análisis Instrumental*, 5.^a edición, McGraw- Hill, México.
- [35] Knox, John, (1965), *Cromatografía de gases*, 1.^a edición, Editorial Hispano Americana, México D.F., México.
- [36] Varian Chromatography Systems, Operator's Manual, (2000), *Pulsed Flame Photometric Detector (PFPD) for CP-3800*, United States of America.
- [37] Varian Chromatography Systems, (2000), *Pulsed Flame Photometric Detector for Gas Chromatography*, United States of America.
- [38] Varian Chromatography Systems, (2000), *Pulsed Flame Photometric Detector*, United States of America.
- [39] Varian Chromatography Systems, (2000), *Varian Pulsed-Flame Photometric Detector (PFPD) achieves Lower Detection Levels for Phosphorus and Sulfur Compounds*, United States of America.
- [40] Varian Chromatography Systems, (2000), *Pulsed Flame Photometric Detector, PFPD*, United States of America.
- [41] Miller, N.M., Miller, J.C., (2000), *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4.^a edición, Prentice Hall, Madrid, España.

ANEXOS

ANEXO 1: “Fotos de los huertos en estudio y del equipo utilizado”

FOTOS DE LOS HUERTOS EN ESTUDIO

Foto No. 1: Huerto manejado bajo prácticas agrícolas apropiadas (Huerto No. 1)



Foto No. 2: Tanque para la mezcla de plaguicidas en el Huerto No. 1



Foto No. 3: Huerto manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas (Huerto No. 2)



Foto No. 4: Envases de plaguicidas vacíos en el Huerto No. 2



Foto No. 5: Tanque para mezcla de plaguicidas en el Huerto No. 2



Foto No. 6: Huerto No. 2 manejado bajo prácticas agrícolas no apropiadas, cuyos frutos presentan severos problemas fitosanitarios



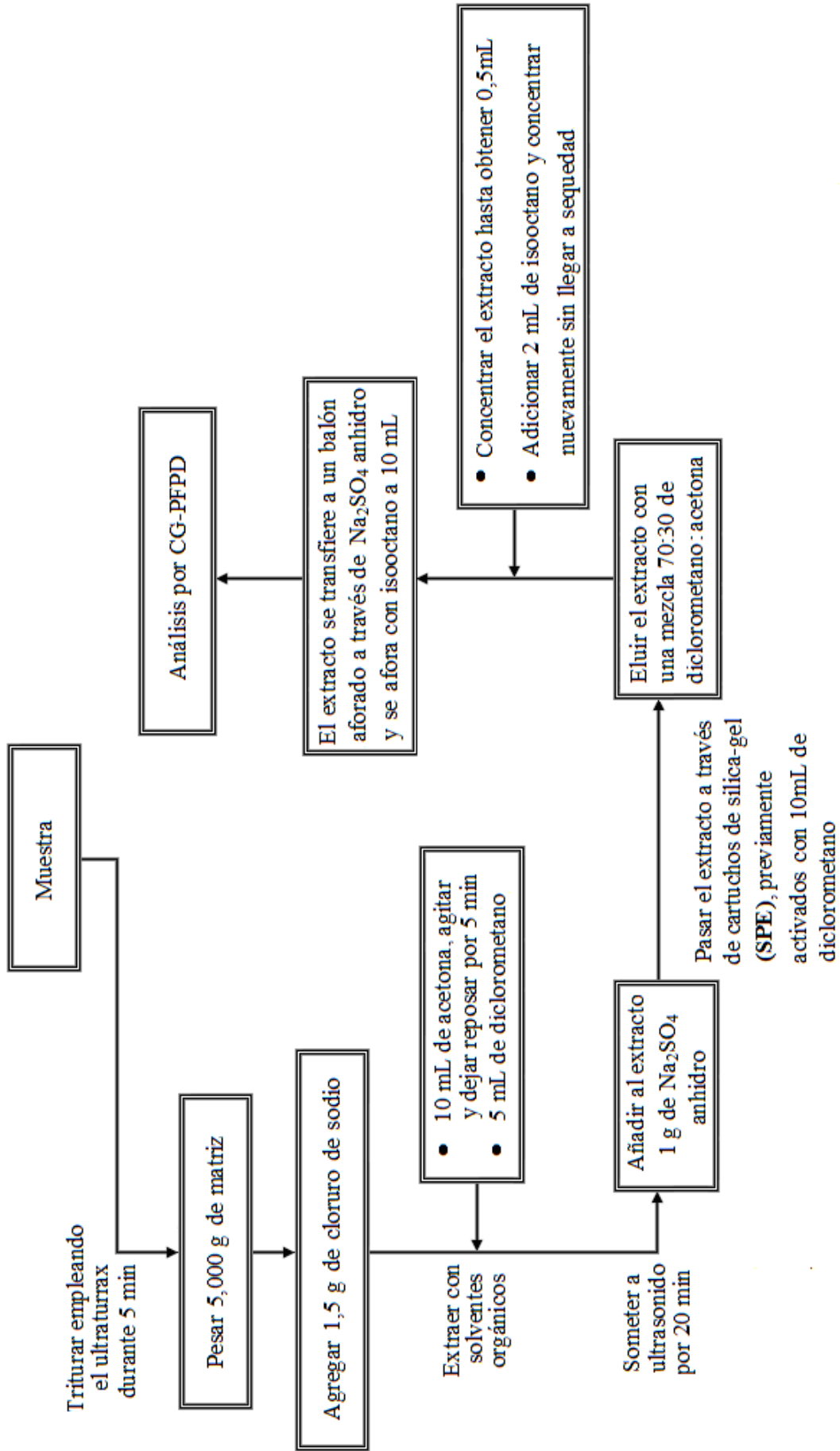
Foto No. 7: Cromatógrafo de gases con PFPD



Foto No. 8: Detector fotométrico de llama pulsada (PFPD)



ANEXO 2: “Diagrama de flujo del método de extracción y purificación de residuos de diazinón en muestras de tomate de árbol, *Cyphomandra betacea*”



ANEXO 3: “Tablas de resultados y cálculos”

**TABLA DE LAS ÁREAS DE LOS PICOS DE DIAZINÓN PARA LAS MUESTRAS
DEL HUERTO MANEJADO BAJO PRÁCTICAS AGRÍCOLAS APROPIADAS**

No. Muestra / No. Inyección	Áreas				Media	Desv. Est.	C.V. (%)
	1	2	3	4			
M1	59561	59100	60132	59413	59551	432.228	0.726
M2	73846	73817	73778	73368	73702	224.416	0.304
M3	37170	37649	37579	37070	37367	289.641	0.775
M4	58296	58884	58648	58749	58644	251.403	0.429
M5	43707	43379	43446	43265	43449	187.389	0.431
M6	55477	56219	56181	55601	55869	385.638	0.690
M7	78082	77971	78150	78547	78188	250.969	0.321
M8	50233	49725	50453	50678	50272	407.884	0.811
M9	68715	68058	68119	68779	68418	382.045	0.558
M10	35065	34794	35211	34977	35012	174.029	0.497
M11	41737	41576	42058	42114	41871	257.433	0.615
M12	49072	49008	49239	48859	49045	157.528	0.321
M13	72368	72050	72310	72288	72254	140.312	0.194
M14	36558	37009	37062	36895	36881	226.271	0.614
M15	28690	28968	28999	28919	28894	139.955	0.484
M16	74287	73743	74222	74190	74110	248.358	0.335
M17	49848	49819	49420	49730	49704	196.209	0.395
M18	37519	38125	37359	38135	37784	404.309	1.070
M19	84848	84674	84513	84492	84632	165.436	0.195
M20	60720	60340	60440	60310	60453	186.821	0.309
M20 Duplicado	60589	60431	60288	60163	60368	183.698	0.304

TABLA DE LAS ÁREAS DE LOS PICOS DE DIAZINÓN PARA LAS MUESTRAS DEL HUERTO MANEJADO BAJO PRÁCTICAS AGRÍCOLAS NO APROPIADAS

No. Muestra No. Inyección	Áreas				Media	Desv. Est.	C.V. (%)
	1	2	3	4			
M21	155096	155101	155540	155341	155269	213.530	0.138
M22	111032	110857	111498	111078	111116	271.607	0.244
M23	93138	93318	93500	92632	93147	373.604	0.401
M24	141401	141791	141423	141910	141631	257.672	0.182
M25	145142	144933	145107	144892	145019	124.410	0.086
M26	175275	175189	175226	174989	175170	125.570	0.072
M27	113134	113119	113383	112707	113086	279.774	0.247
M28	142727	142529	142677	142163	142524	254.839	0.179
M29	134016	133596	134039	133913	133891	204.403	0.153
M30	131634	132113	131905	131371	131756	323.012	0.245
M31	153775	153103	153782	153718	153594	328.748	0.214
M32	150913	151078	150612	151318	150980	296.428	0.196
M33	135988	135607	135632	135734	135740	174.245	0.128
M34	106338	107044	107171	106598	106788	387.790	0.363
M35	117578	117149	117398	117511	117409	188.397	0.160
M36	99411	99850	99672	99745	99669	187.325	0.188
M37	132946	133078	132828	132897	132937	105.412	0.079
M38	104305	104438	104596	104343	104420	129.713	0.124
M39	127433	126872	127218	127028	127138	242.125	0.190
M40	129995	130050	129690	129973	129927	161.553	0.124
M40 Duplicado	130057	129695	129897	130031	129920	165.604	0.127

TABLA DE LA CONCENTRACIÓN DE DIAZINÓN PARA LAS MUESTRAS DEL HUERTO MANEJADO BAJO PRÁCTICAS AGRÍCOLAS APROPIADAS

No. Muestra No. Inyección	Concentración (µg/kg)				Media	Desv. Est.	C.V. (%)
	1	2	3	4			
M1	240	238	242	240	240	1.577	0.657
M2	292	292	292	290	292	0.819	0.281
M3	158	160	160	158	159	1.057	0.665
M4	235	238	237	237	237	0.918	0.388
M5	182	181	181	181	181	0.684	0.377
M6	225	228	228	226	227	1.407	0.621
M7	308	307	308	309	308	0.916	0.297
M8	206	204	207	208	206	1.489	0.722
M9	273	271	271	274	272	1.394	0.512
M10	151	150	151	150	150	0.635	0.422
M11	175	174	176	176	176	0.940	0.535
M12	202	202	202	201	202	0.575	0.285
M13	287	286	287	287	286	0.512	0.179
M14	156	158	158	157	157	0.826	0.525
M15	127	128	129	128	128	0.511	0.399
M16	294	292	294	293	293	0.906	0.309
M17	205	205	203	204	204	0.716	0.351
M18	160	162	159	162	161	1.476	0.919
M19	332	332	331	331	332	0.604	0.182
M20	244	243	243	243	243	0.682	0.280
M20 Duplicado	244	243	243	242	243	0.670	0.276

TABLA DE LA CONCENTRACIÓN DE DIAZINÓN PARA LAS MUESTRAS DEL HUERTO MANEJADO BAJO PRÁCTICAS AGRÍCOLAS NO APROPIADAS

No. Muestra No. Inyección	Concentración (µg/kg)				Media	Desv. Est.	C.V. (%)
	1	2	3	4			
M21	589	589	590	590	589	0.779	0.132
M22	428	427	430	428	428	0.991	0.231
M23	363	363	364	361	363	1.364	0.376
M24	539	540	539	541	540	0.940	0.174
M25	552	552	552	551	552	0.454	0.082
M26	662	662	662	661	662	0.458	0.069
M27	436	436	436	434	435	1.021	0.235
M28	544	543	543	542	543	0.930	0.171
M29	512	510	512	511	511	0.746	0.146
M30	503	505	504	502	504	1.179	0.234
M31	584	581	584	584	583	1.200	0.206
M32	573	574	572	575	574	1.082	0.189
M33	519	518	518	518	518	0.636	0.123
M34	411	413	414	412	412	1.415	0.343
M35	452	450	451	452	451	0.688	0.152
M36	386	387	386	387	386	0.684	0.177
M37	508	508	507	508	508	0.385	0.076
M38	403	404	404	404	404	0.473	0.117
M39	488	486	487	486	487	0.884	0.182
M40	497	497	496	497	497	0.590	0.119
M40 Duplicado	497	496	497	497	497	0.604	0.122

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE RESIDUOS DE DIAZINÓN EMPLEANDO LA ECUACIÓN DE LA RECTA

La ecuación de la recta de la curva de calibración con el método de adición de estándar es la siguiente:

$$y = 274.002x - 6218.810$$

Donde:

x = Concentración buscada

y = Área del pico obtenida

$$y + 6218.810 = 274.002x$$

$$x = \frac{y + 6218.810}{274.002}$$

Si en la primera inyección de la muestra No. 1 se tiene que el área del pico de diazinón es de 59561, entonces:

$$y = 59561$$

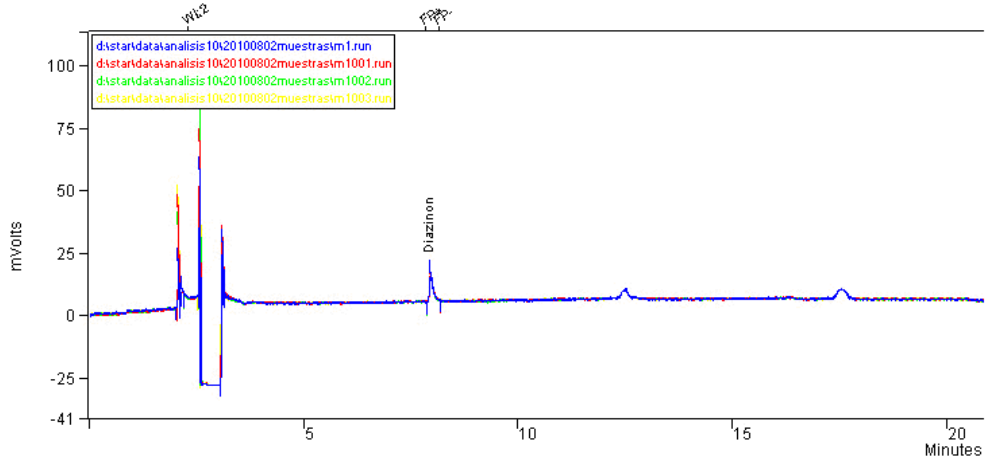
$$x = \frac{59561 + 6218.810}{274.002}$$

$$x = 240 \mu\text{g/kg (ppb)}$$

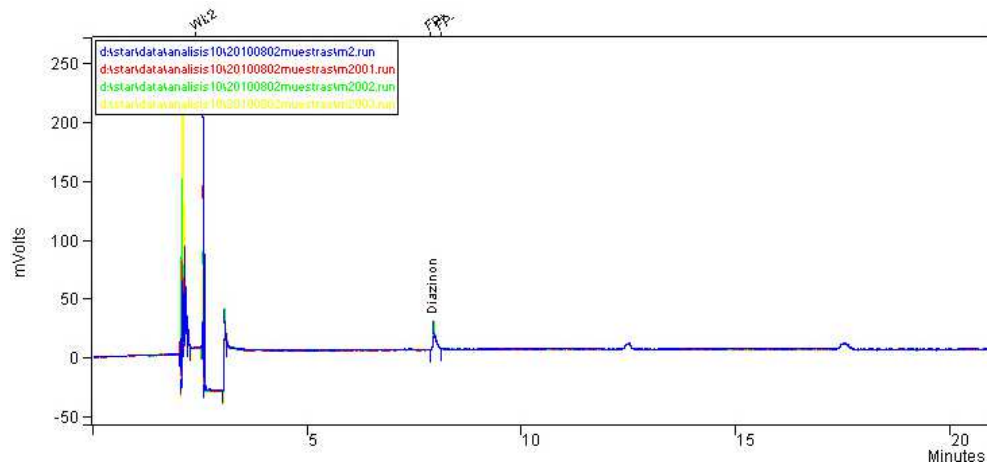
ANEXO 4: “Cromatogramas de las muestras del Huerto No. 1 y No. 2”

CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS DEL HUERTO NO. 1

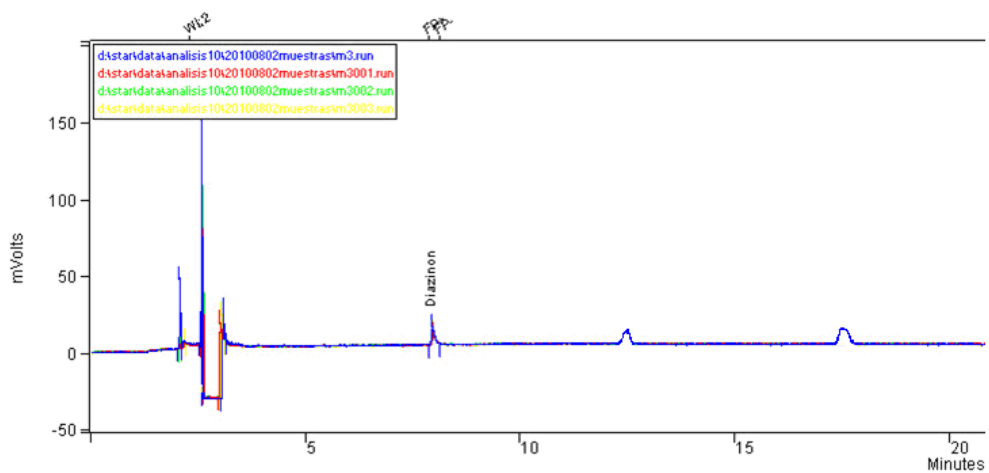
Cromatograma de la muestra No. 1:



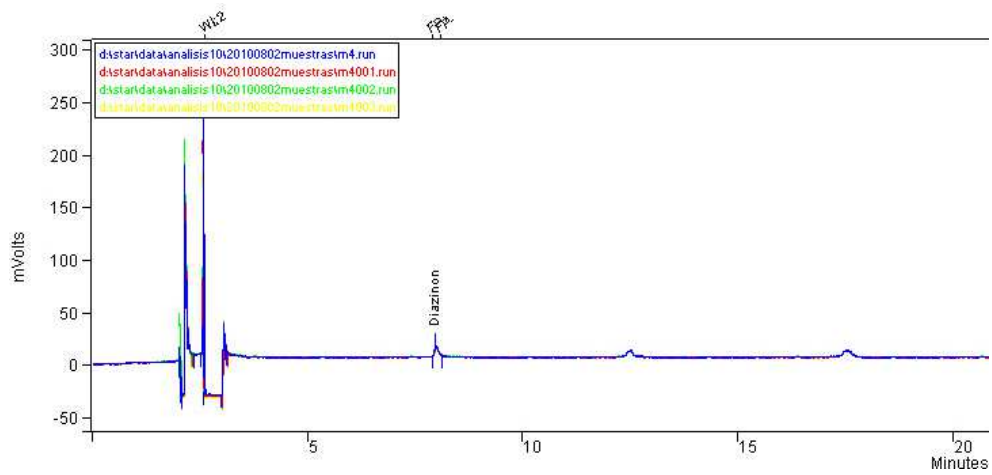
Cromatograma de la muestra No. 2:



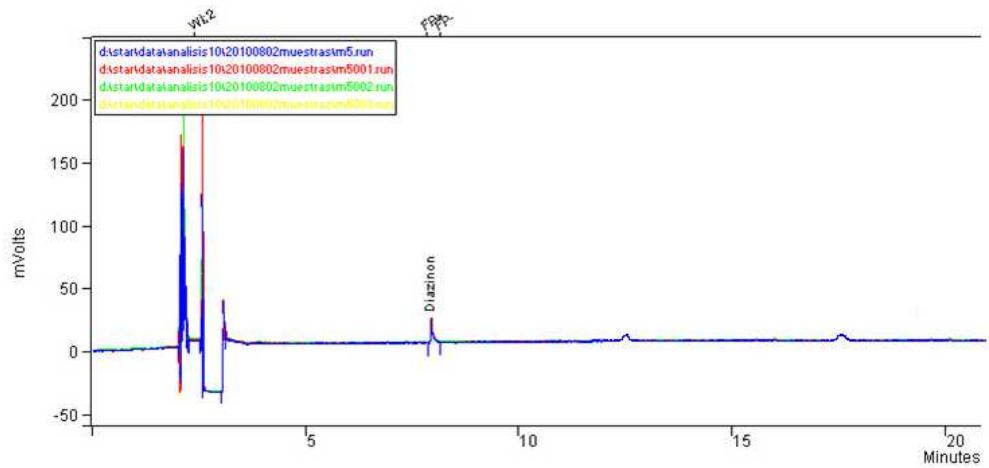
Cromatograma de la muestra No. 3:



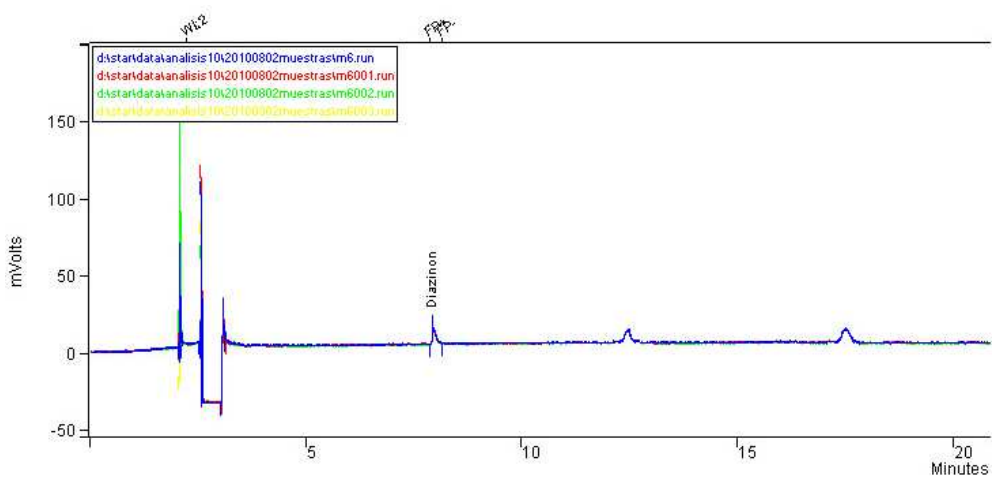
Cromatograma de la muestra No. 4:



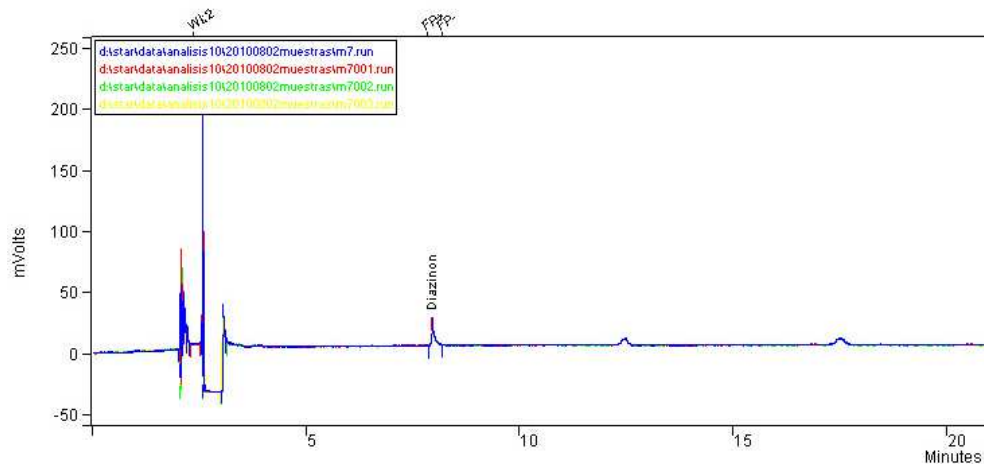
Cromatograma de la muestra No. 5:



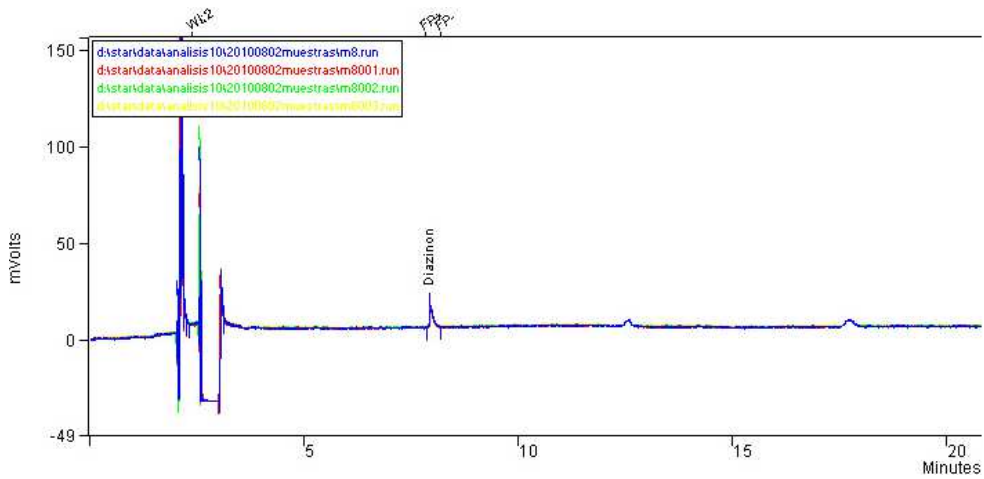
Cromatograma de la muestra No. 6:



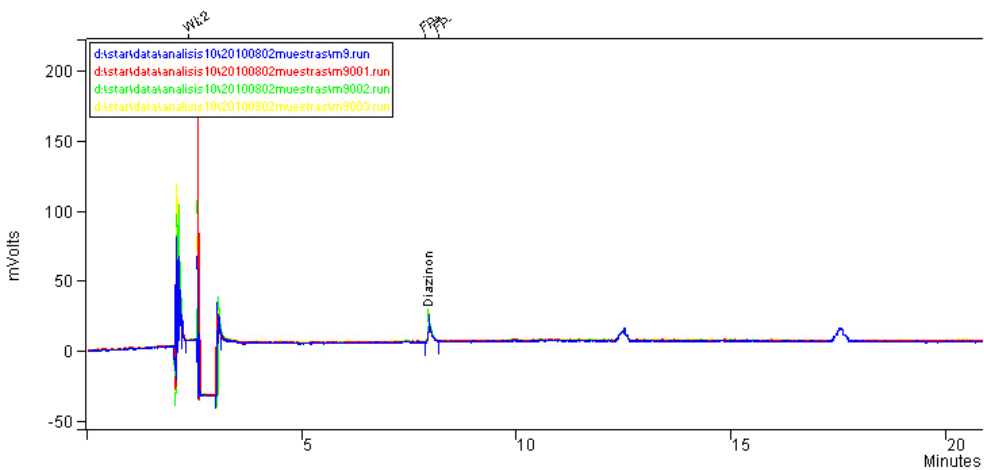
Cromatograma de la muestra No. 7:



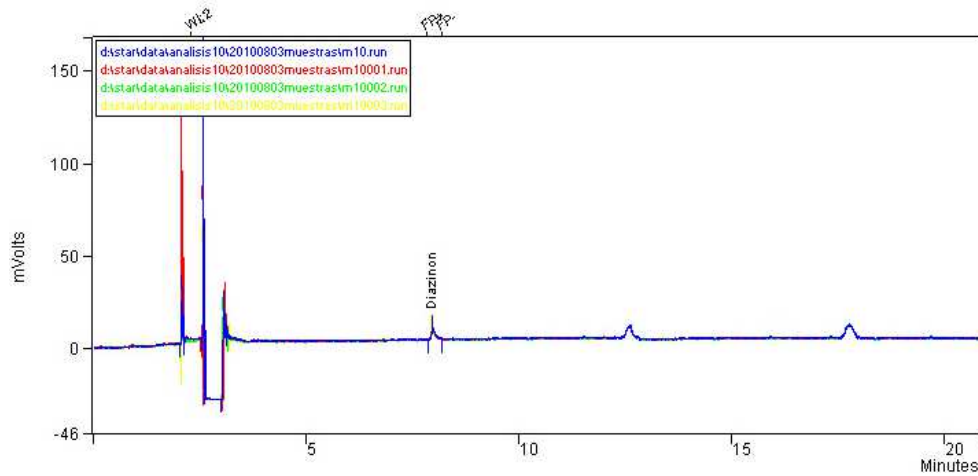
Cromatograma de la muestra No. 8:



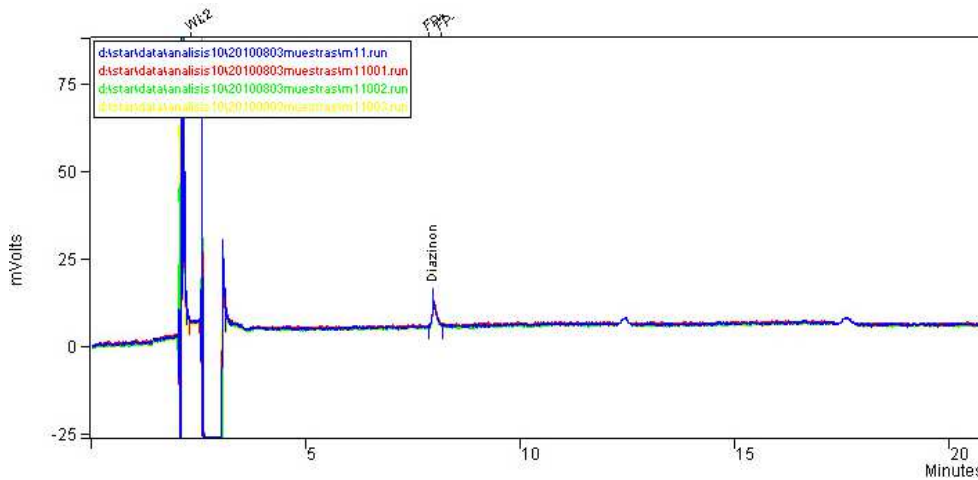
Cromatograma de la muestra No. 9:



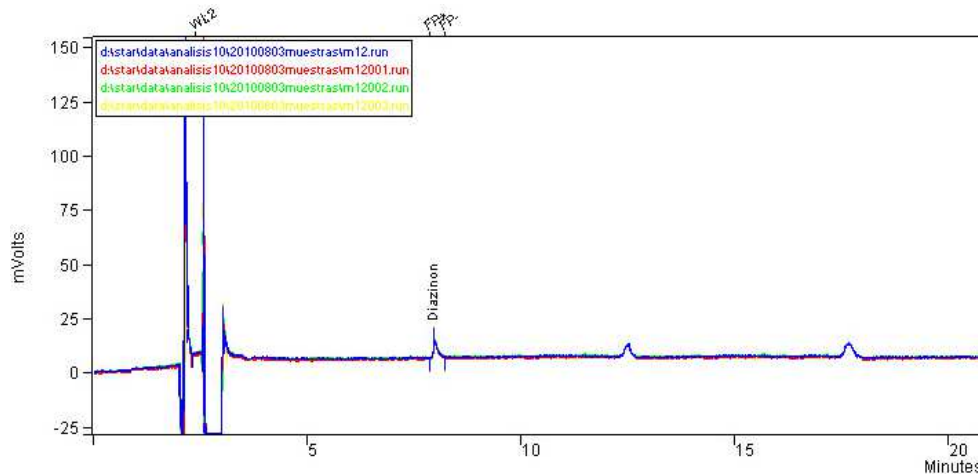
Cromatograma de la muestra No. 10:



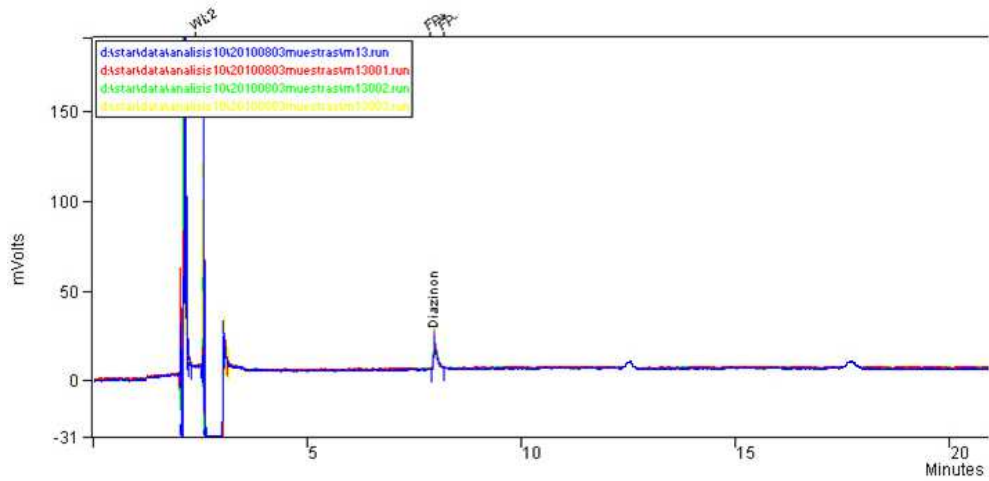
Cromatograma de la muestra No. 11:



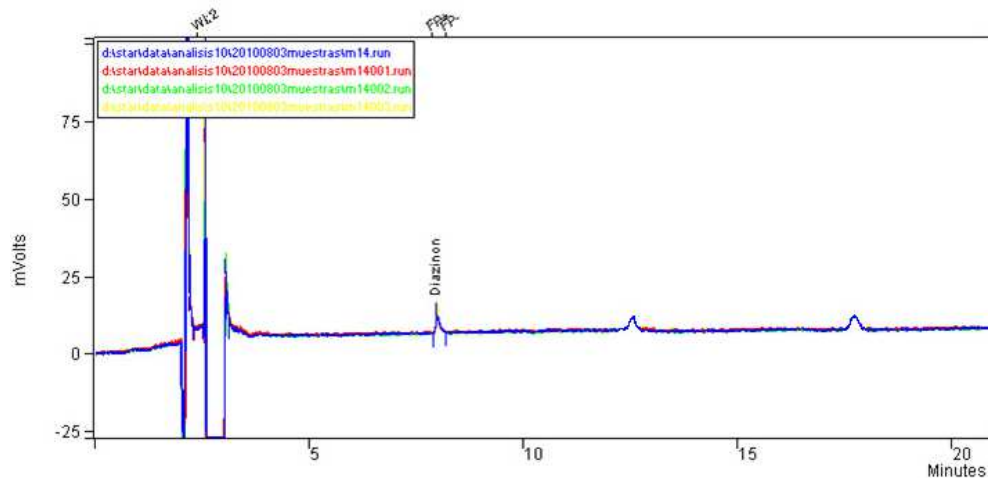
Cromatograma de la muestra No. 12:



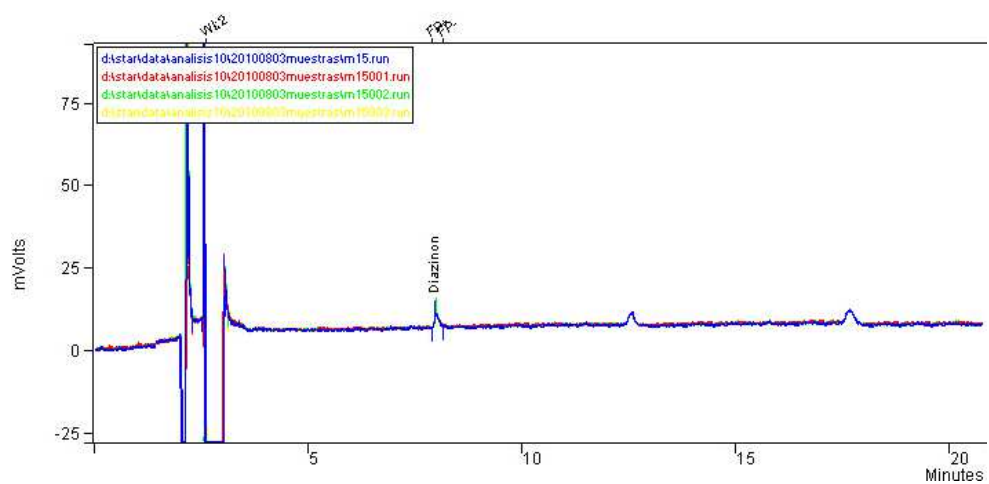
Cromatograma de la muestra a No. 13:



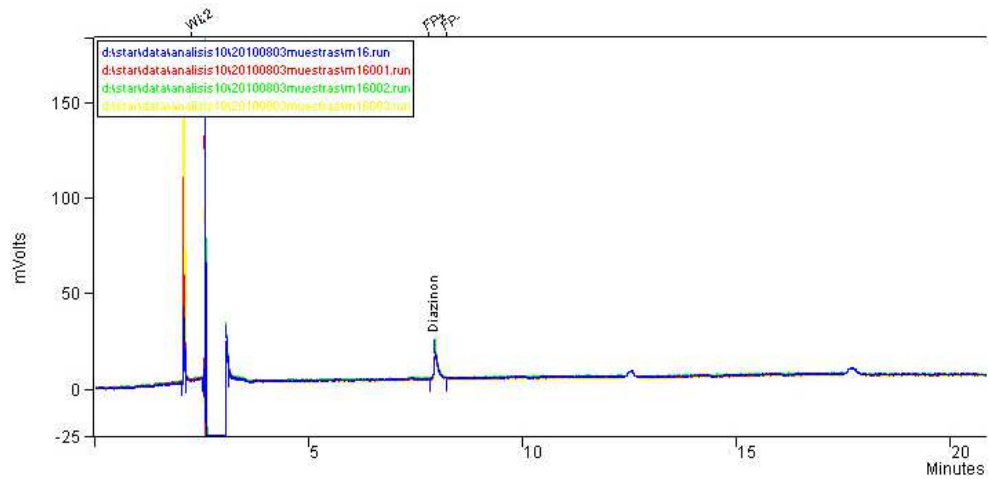
Cromatograma de la muestra No. 14:



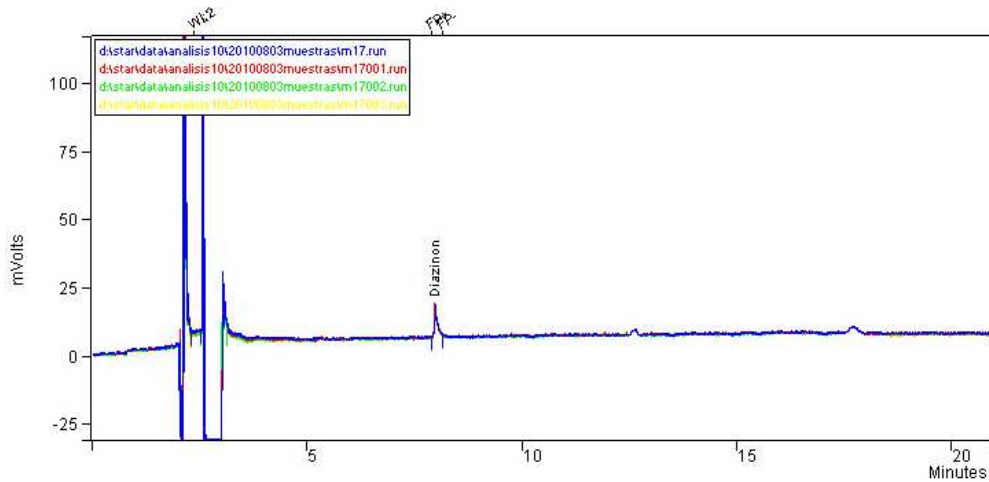
Cromatograma de la muestra No. 15:



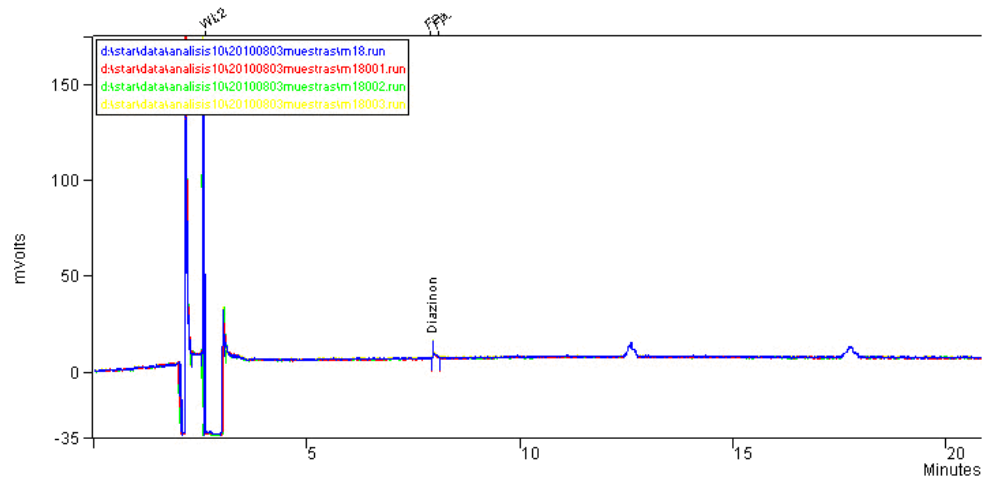
Cromatograma de la muestra No. 16:



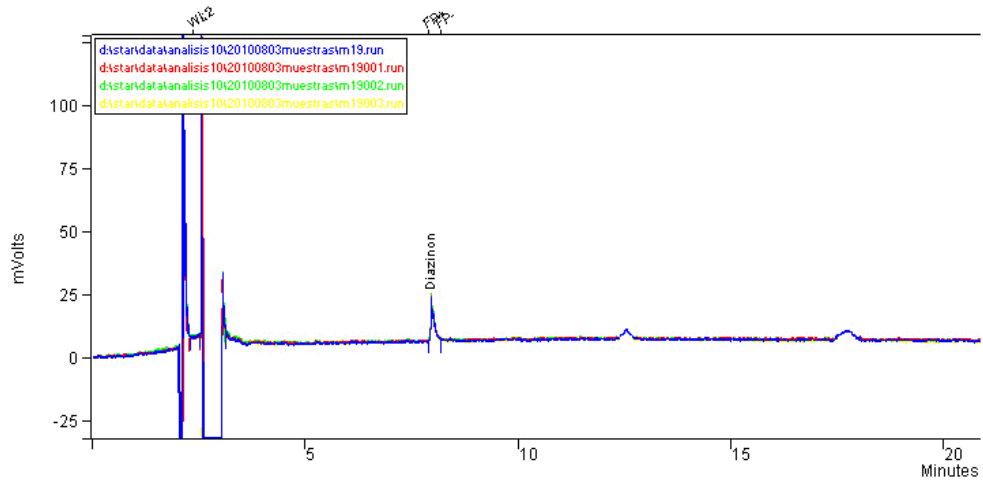
Cromatograma de la muestra No. 17:



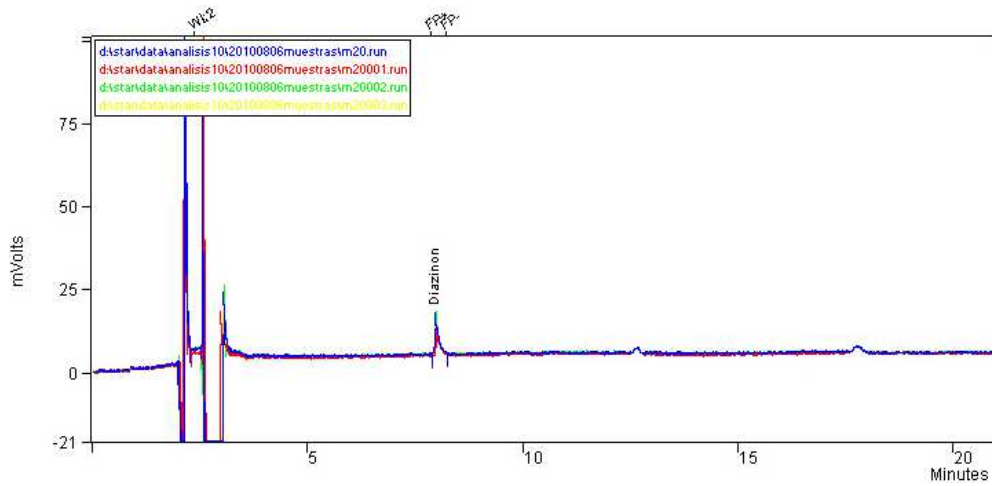
Cromatograma de la muestra No.18:



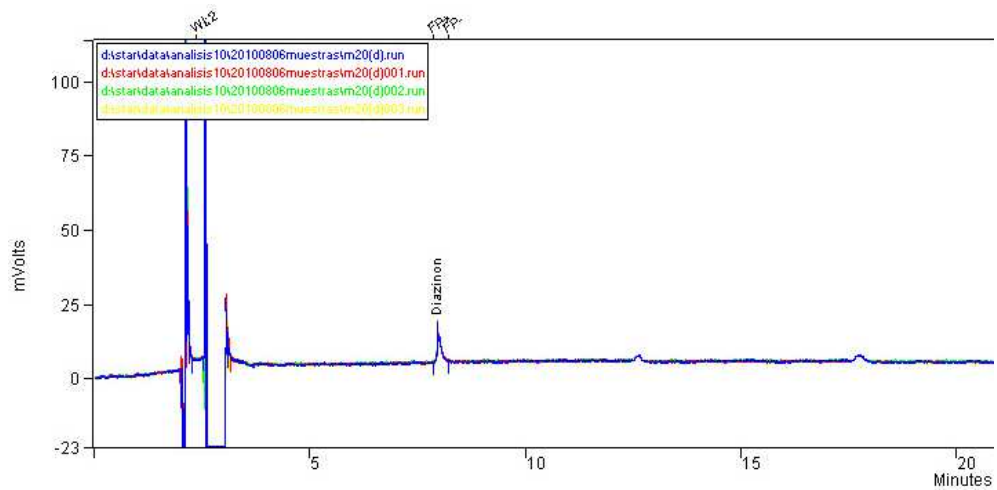
Cromatograma de la muestra No. 19:



Cromatograma de la muestra No. 20:

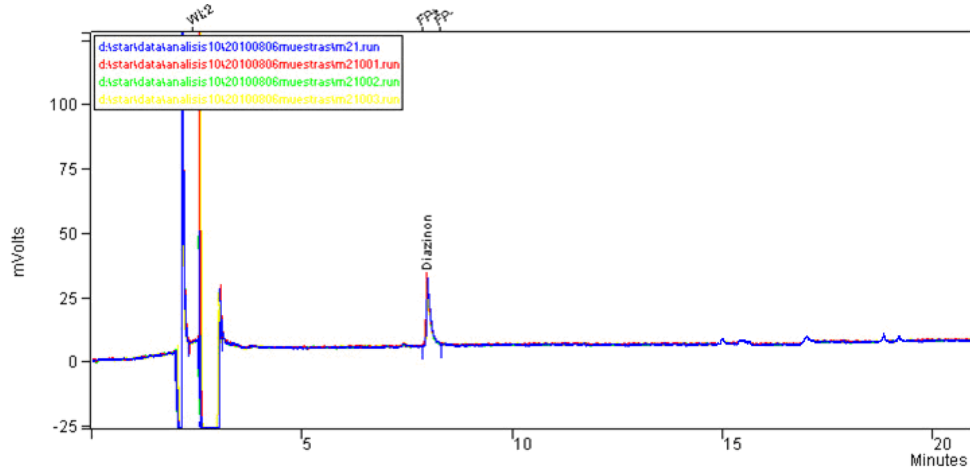


Cromatograma de la muestra No. 20 (Duplicado):

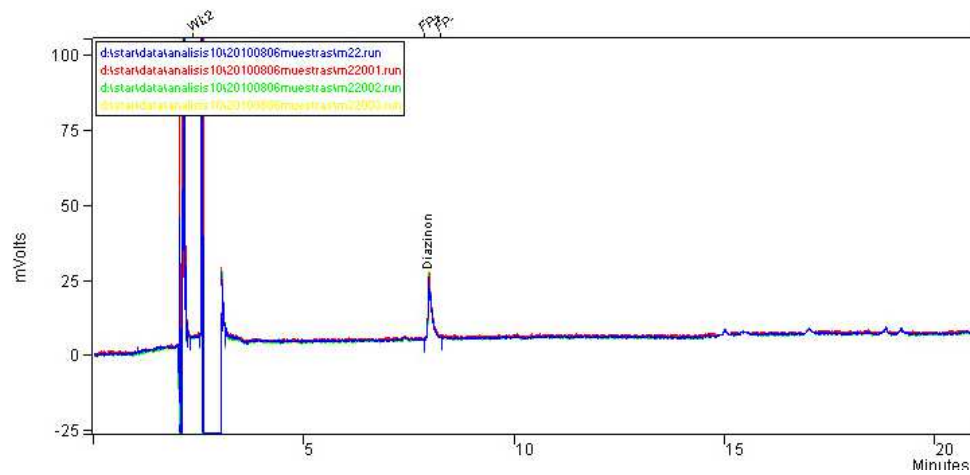


CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS DEL HUERTO NO. 2

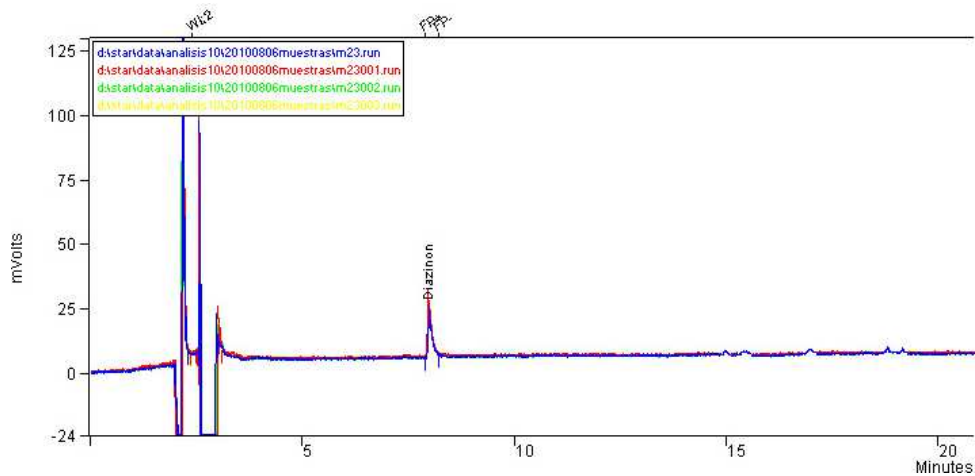
Cromatograma de la muestra No.21:



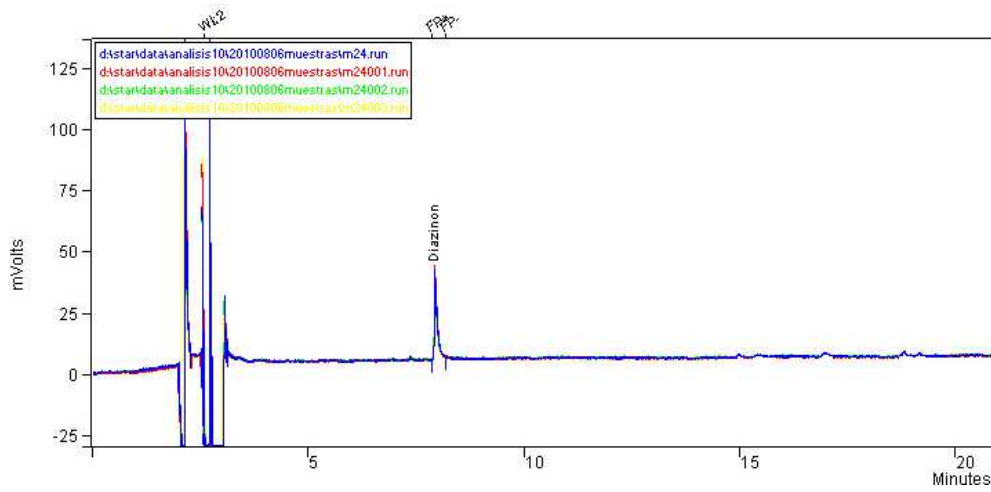
Cromatograma de la muestra No. 22:



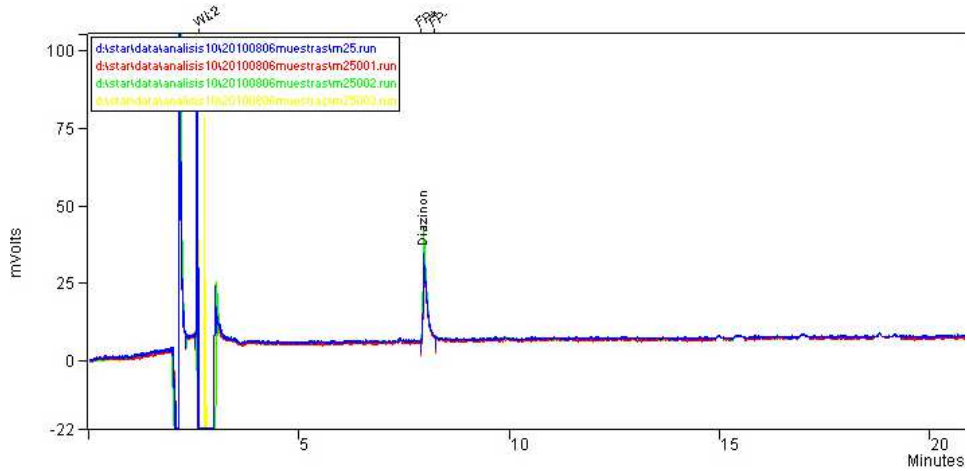
Cromatograma de la muestra No. 23:



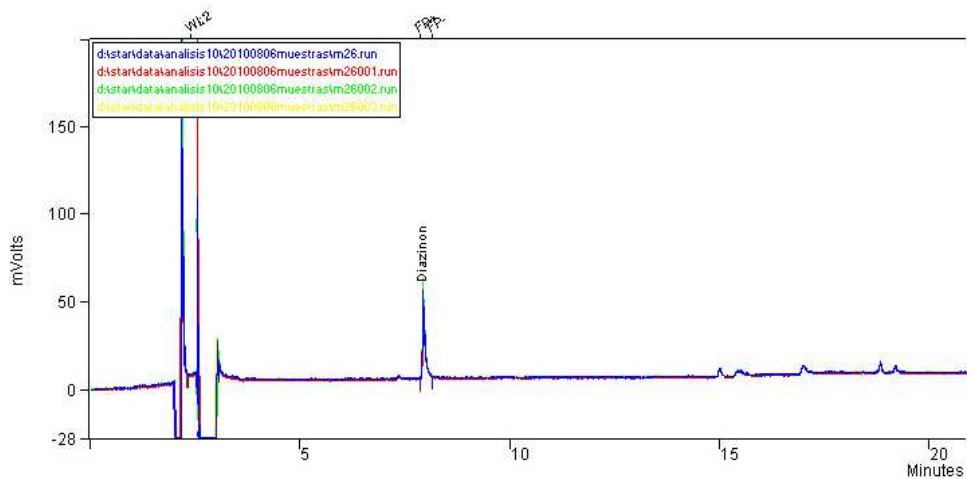
Cromatograma de la muestra No. 24:



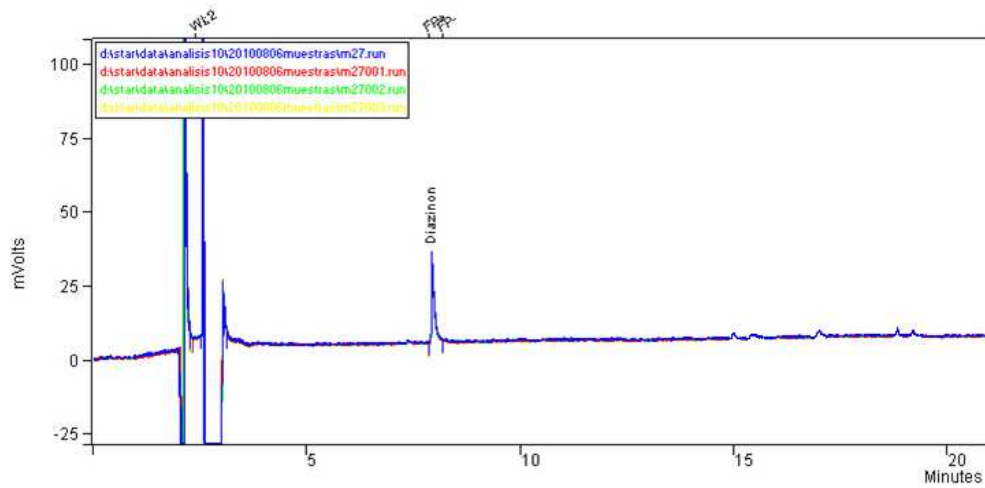
Cromatograma de la muestra No. 25:



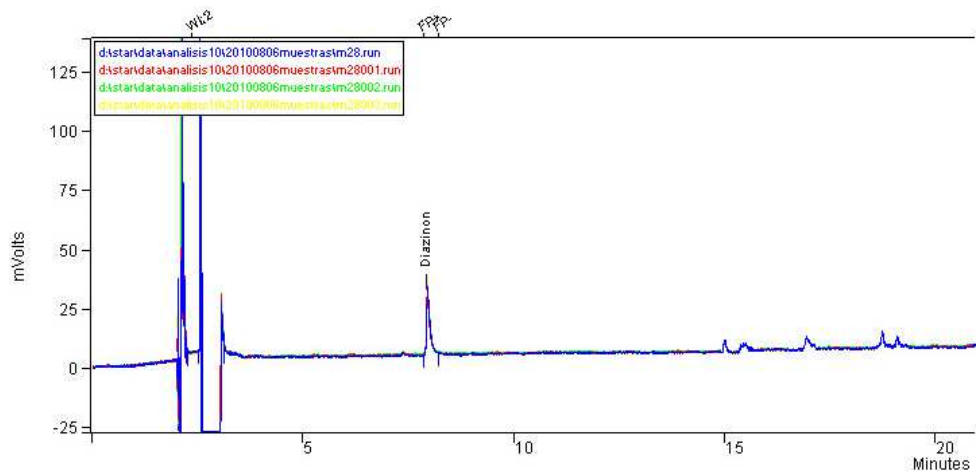
Cromatograma de la muestra No. 26:



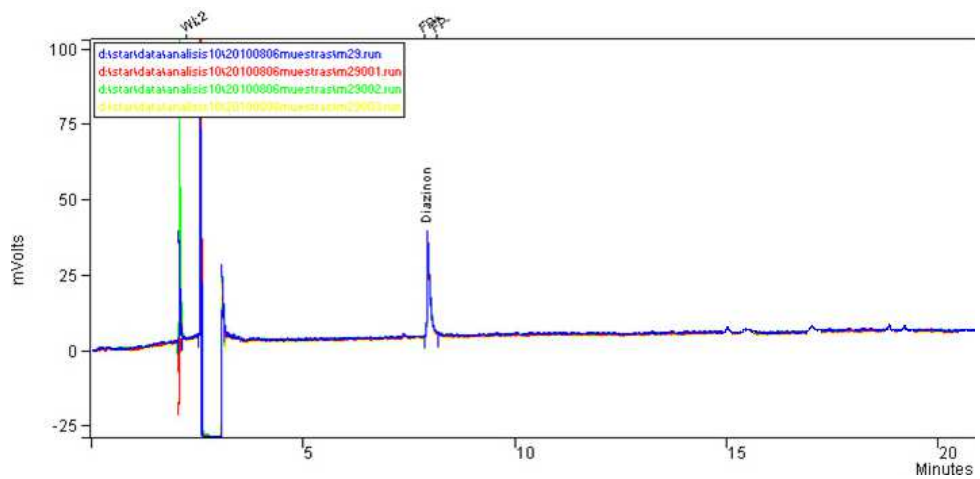
Cromatograma de la muestra No. 27:



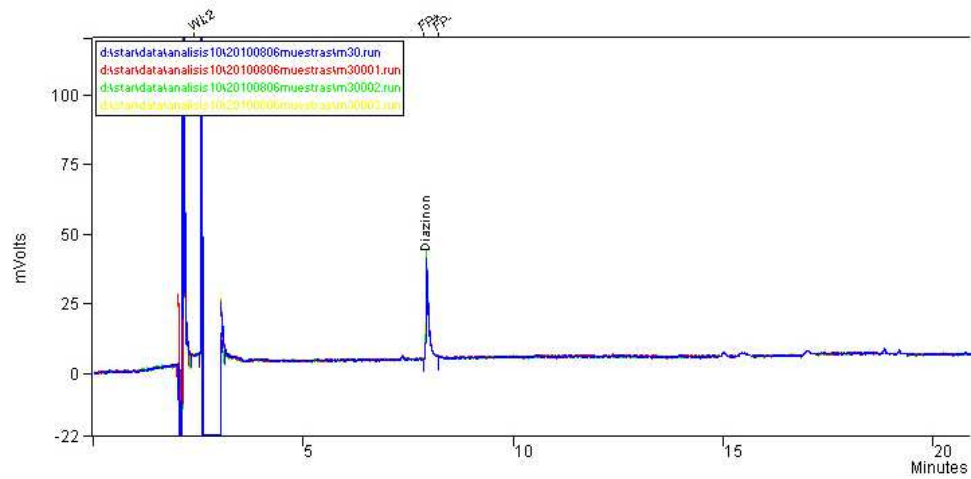
Cromatograma de la muestra No. 28:



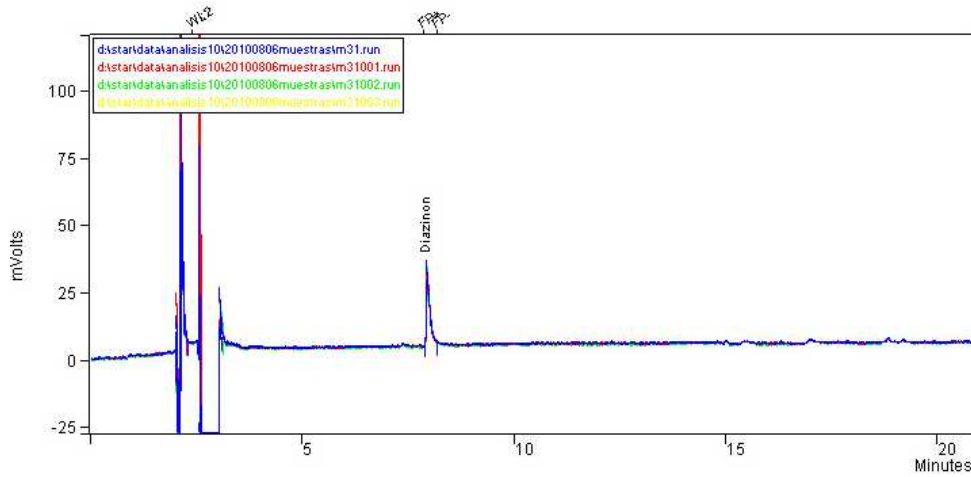
Cromatograma de la muestra No. 29:



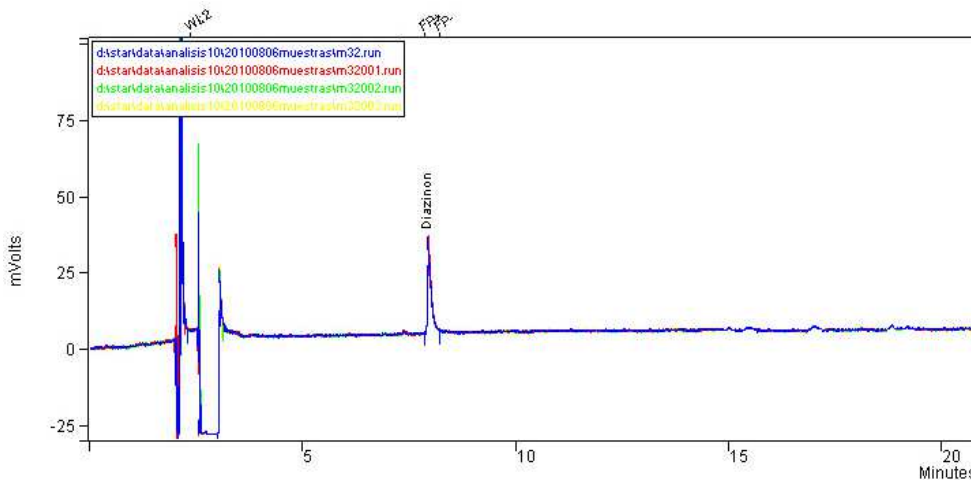
Cromatograma de la muestra No. 30:



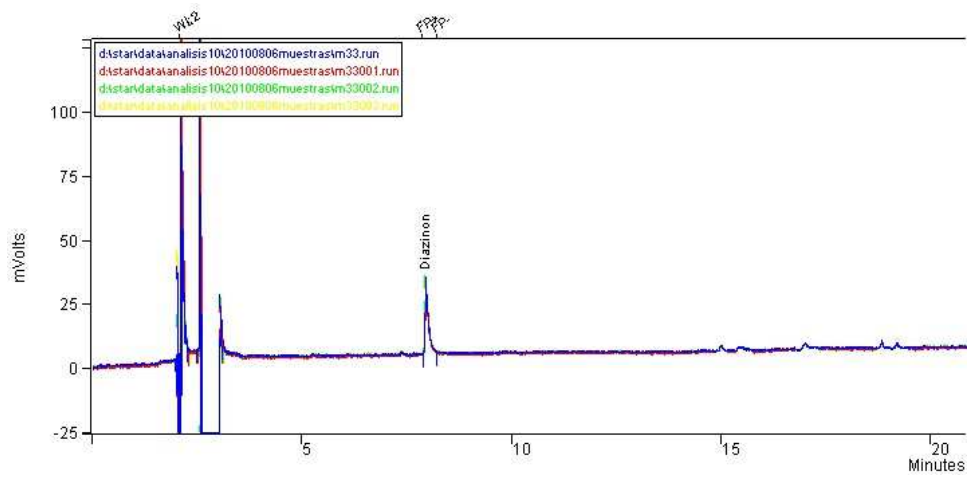
Cromatograma de la muestra No. 31:



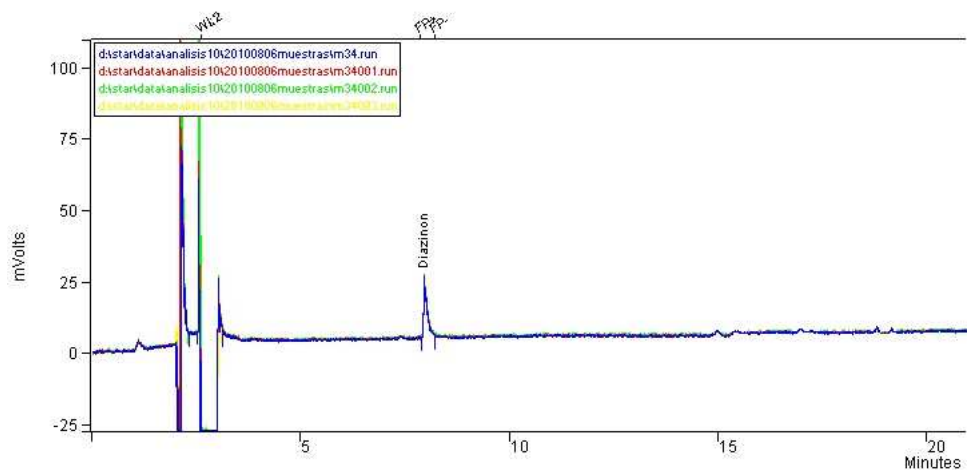
Cromatograma de la muestra No. 32:



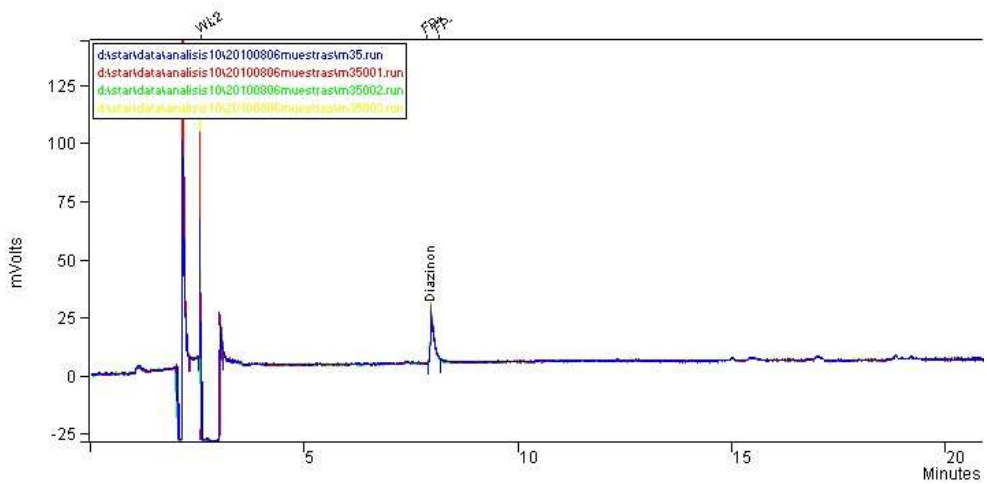
Cromatograma de la muestra No. 33:



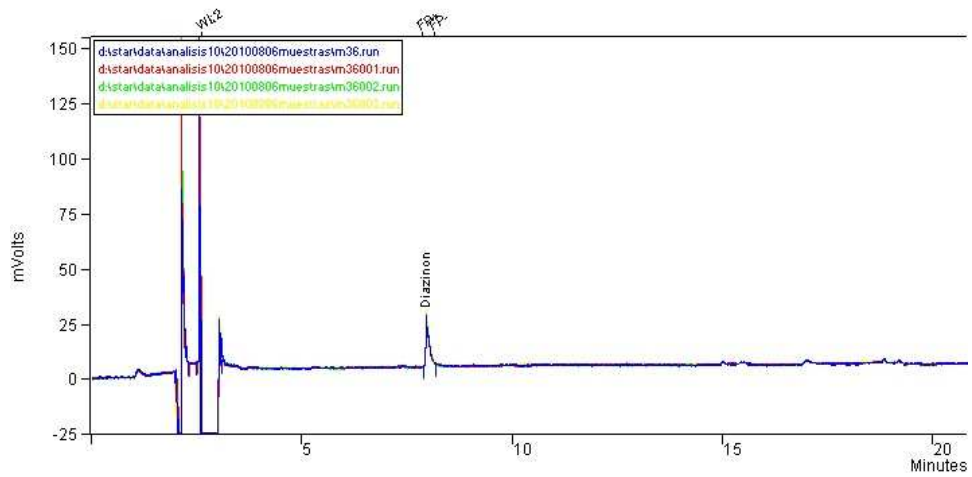
Cromatograma de la muestra No. 34:



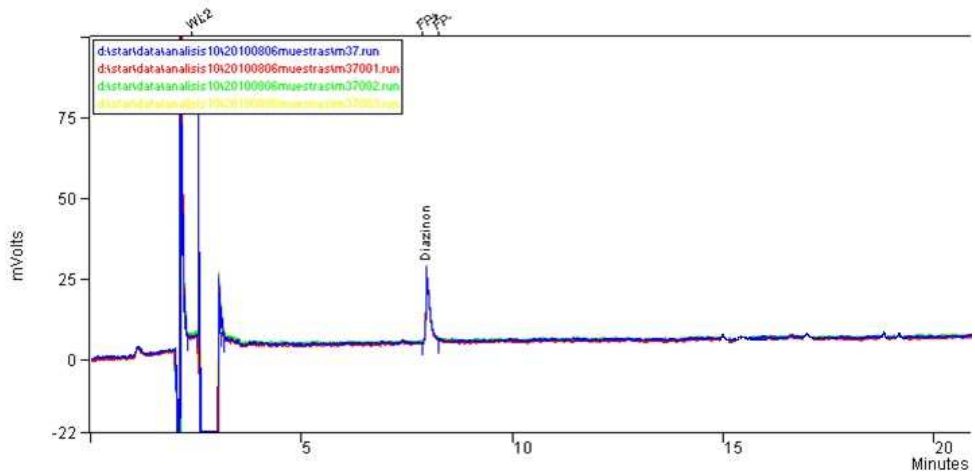
Cromatograma de la muestra No. 35:



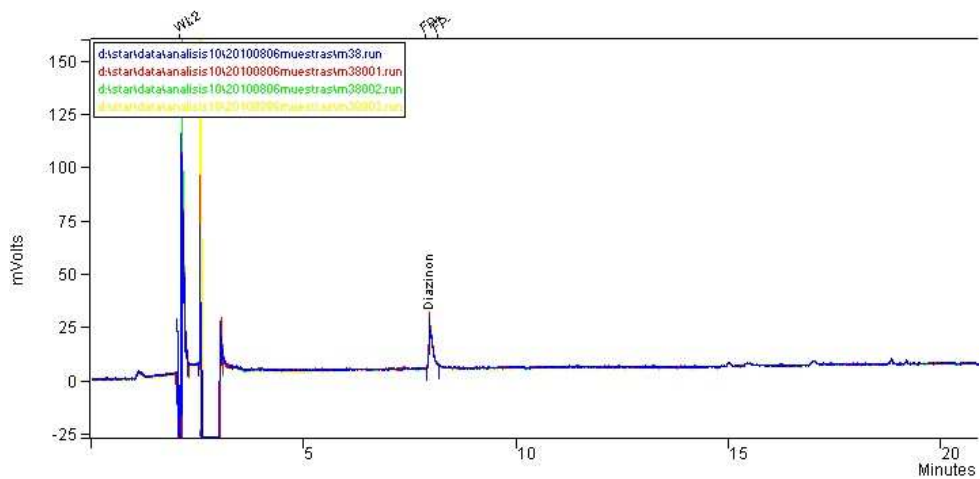
Cromatograma de la muestra No. 36:



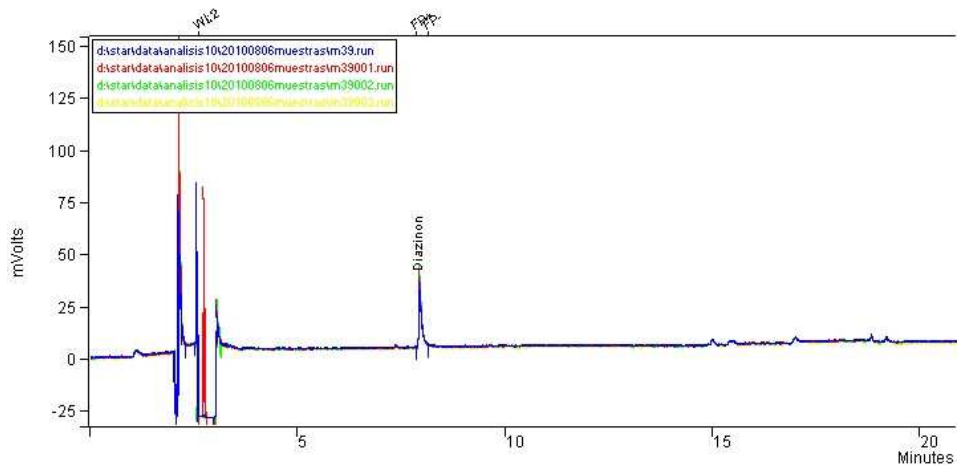
Cromatograma de la muestra No. 37:



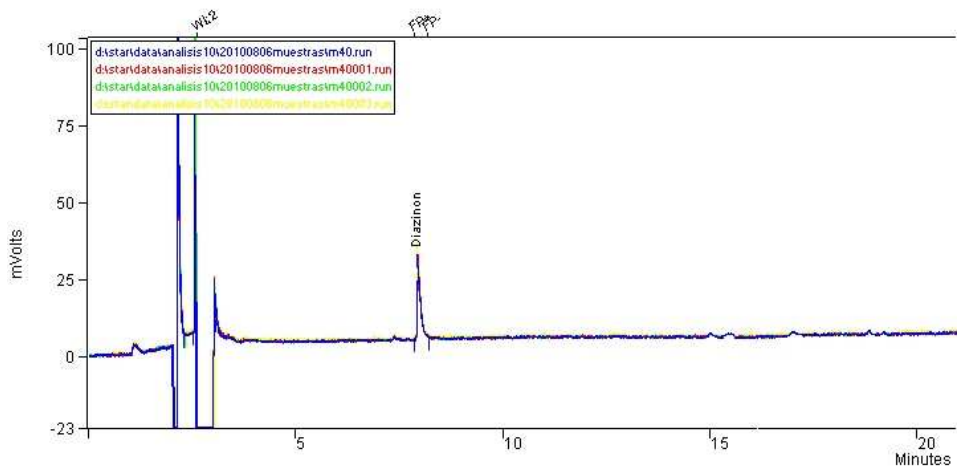
Cromatograma de la muestra No. 38:



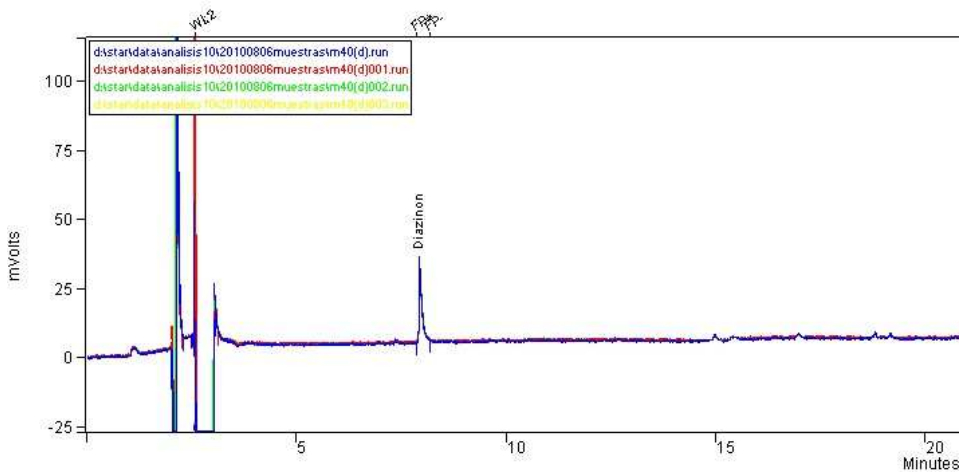
Cromatograma de la muestra No. 39:



Cromatograma de la muestra No. 40:



Cromatograma de la muestra No. 40 (Duplicado):



ANEXO 5: “Certificados de análisis”