

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de residuos de plaguicidas en tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) por  
cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MSD)

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

DANIELA VIVIANA LÓPEZ ORDÓÑEZ

Quito, 2012

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, con mención en Química Analítica, de la candidata Daniela Viviana López Ordóñez ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentado para la calificación correspondiente.

Lcdo. Ramiro Merino

**DIRECTOR DE LA DISERTACIÓN**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, por su apoyo incondicional a lo largo de toda la carrera, por sus acertados consejos, y sobre todo, por creer en mí.

A mis hermanos, por su compañía y respaldo.

Al cMS. Ramiro Merino por guiarme en el desarrollo de este trabajo, gracias por su disponibilidad y paciencia.

Al Ing. Marcelo Parreño y M.Sc. Wendy Heredia por sus sugerencias aportadas a esta investigación.

Al Centro de Estudios y Asesoría en Salud (CEAS) por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones.

Al Ing. Orlando Felicita, por sus recomendaciones, apoyo y colaboración.

Al Dr. Arturo Campaña y a Lourdes por su consideración y solidaridad.

A mis amigos: Danny, Pablo, Karen, Gabriela y Francisco por tenerme presente y estar pendientes de mis avances.

A todos los agricultores que colaboraron con el desarrollo de esta investigación.

## TABLA DE CONTENIDOS

### PRELIMINARES

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3

### CAPÍTULO I

PARTE TEÓRICA .....	5
1.1. TOMATE RIÑÓN ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ).....	5
1.1.1. COMPOSICIÓN Y VALOR NUTRICIONAL .....	6
1.1.2. PRODUCCIÓN Y CONSUMO NACIONAL .....	8
1.1.3. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE TOMATE RIÑÓN .....	9
1.2. PLAGUICIDAS .....	10
1.2.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN.....	11
1.2.2. PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS .....	13
1.2.2.1. ENDOSULFÁN .....	14
1.2.3. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS .....	15
1.2.3.1. DIMETOATO, MALATION Y CLORPIRIFOS .....	17

1.2.4. PLAGUICIDAS PIRETROIDES.....	19
1.2.4.1. CIPERMETRINA .....	20
<b>1.3. LEGISLACIÓN, LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES .....</b>	<b>21</b>
<b>1.4. ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS .....</b>	<b>23</b>
1.4.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES .....	23
1.4.2. ESPECTRÓMETRO DE MASAS.....	24
1.4.3. TÉCNICA QUECHERS .....	26

## **CAPÍTULO II**

<b>PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>30</b>
<b>2.1. MATERIALES.....</b>	<b>30</b>
<b>2.2. MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
<b>2.2.1. MUESTREO.....</b>	<b>31</b>
2.2.1.1. ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DE MUESTREO .....	32
2.2.1.1.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS LOTES .....	32
2.2.1.1.2. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS .....	34
2.2.1.1.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A GRANEL.....	37
2.2.1.1.4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE LABORATORIO.....	37
<b>2.2.2. EXTRACCIÓN DE LOS ANALITOS DE LA MATRIZ .....</b>	<b>38</b>
<b>2.2.3. CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL GC-MSD .....</b>	<b>39</b>

<b>2.2.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANALITOS.....</b>	<b>40</b>
<b>2.2.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS ANALITOS .....</b>	<b>43</b>
2.2.5.1. CURVA DE CALIBRACIÓN EN MATRIZ .....	43
2.2.5.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.....	44
<b>2.2.6. PARÁMETROS EVALUADOS.....</b>	<b>45</b>

### **CAPÍTULO III**

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1. SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2. PARÁMETROS EVALUADOS .....</b>	<b>46</b>
3.2.1. LINEALIDAD .....	46
3.2.2. LÍMITE DE DETECCIÓN.....	50
3.2.3. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN .....	51
3.2.4. PRECISIÓN Y EXACTITUD .....	53
<b>3.3. RESULTADOS DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS .....</b>	<b>56</b>
3.3.1. CONFORMIDAD CON LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMITIDOS.....	58
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>4.1. CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>4.2. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>63</b>

<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	64
<b>ANEXOS</b> .....	71

## LISTA DE TABLAS

### CAPÍTULO I

Tabla 1.1. Valores nutricionales del tomate .....	7
Tabla 1.2. Descripción de los plaguicidas según su grupo químico.....	13
Tabla 1.3. Estructura química, nombre IUPAC y clasificación toxicológica.....	18
Tabla 1.4. Límites Máximos Permisibles en Tomate Riñón.....	22

### CAPÍTULO II

Tabla 2.1. Características de los lotes analizados .....	33
Tabla 2.2. Número mínimo de muestras primarias que han de tomarse de un lote .....	34
Tabla 2.3. Número de muestras primarias tomadas en cada lote.....	36
Tabla 2.4. Contenido de los tubos de extracción (#1) y de <i>clean-up</i> (# 2).....	38
Tabla 2.5 Condiciones de operación del sistema GC-MSD .....	39
Tabla 2.6. Parámetros usados para la técnica de detección en modo SIM .....	41

### **CAPÍTULO III**

Tabla 3.1. Límites de detección (LD).....	51
Tabla 3.2. Límites de cuantificación (LC).....	52
Tabla 3.3. Porcentajes de Recuperación y Desviación Estándar Relativa.....	53
Tabla 3.4. Criterios de aceptación para Porcentajes de Recuperación y Desviación Estándar Relativa en Matrices de Origen Vegetal y Animal.....	54
Tabla 3.5. Ecuación de las curvas de calibración utilizadas para cuantificar los blancos de matriz fortificados.....	55
Tabla 3.6. Resultados de las muestras analizadas.....	57
Tabla 3.7. Conformidad con los límites máximos permitidos.....	59

### **LISTA DE FIGURAS**

#### **CAPÍTULO I**

Figura 1.1 Producción de tomate riñón.....	8
Figura 1.2. Estructura química del endosulfán.....	15
Figura 1.3. Fórmula estructural de los plaguicidas organofosforados.....	16
Figura 1.4. Estructura química general de las piretrinas.....	19
Figura 1.5. Estructura molecular de la cipermetrina.....	20

Figura 1.6. Diagrama de un cromatógrafo de gases .....	24
Figura 1.7. Diagrama de un espectrómetro de masas .....	25

## **CAPÍTULO II**

Figura 2.1 División cantonal de la provincia de Imbabura.....	31
Figura 2.2. Cromatograma de un blanco de matriz fortificado (1.0 µg/mL).....	42

## **CAPÍTULO III**

Figura 3.1. Curva de calibración dimetoato.....	47
Figura 3.2. Curva de calibración malatión.....	47
Figura 3.3. Curva de calibración clorpirifos.....	48
Figura 3.4. Curva de calibración endosulfán.....	48
Figura 3.5. Curva de calibración endosulfán sulfato.....	49
Figura 3.6. Curva de calibración cipermetrina.....	49

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO 1: ESPECTROS DE MASA DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS.....	72
ANEXO 2: CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS POSITIVAS.....	76
ANEXO 3: CROMATOGRAMAS DEL BLANCO DE MATRIZ .....	81

ANEXO 4: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL SOLVENTE DE EXTRACCIÓN.....	82
ANEXO 5: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LOS ESTÁNDARES .....	83
ANEXO 6: PRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MUESTREO .....	88
ANEXO 7: DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS .....	89
ANEXO 8: USO DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS EN EL CULTIVO DE TOMATE RIÑÓN.....	90

## RESUMEN

En este trabajo se llevó a cabo un estudio para determinar el nivel de contaminación en cuanto a residuos de dimetoato, malatión, clorpirifos, endosulfán y cipermetrina en lotes de tomate riñón provenientes de la provincia de Imbabura, cuya producción estaba destinada a ser comercializada en mercados de las ciudades de Quito, Ibarra, Tulcán y Pimampiro.

Se analizaron las muestras de quince lotes, en cinco de ellos se encontraron residuos de cipermetrina, pero sólo dos excedieron el límite máximo de residuos (LMR) establecido por el Codex Alimentarius para este plaguicida en tomate riñón; es decir, dos de los quince lotes, no se consideran aptos para el consumo, y por lo tanto, no cumplen con la reglamentación nacional en cuanto a residuos de cipermetrina.

Para el tratamiento de las muestras se utilizó el método de extracción en fase sólida dispersiva (QuEChERS), y como técnica analítica, Cromatografía de Gases con Detector Selectivo de Masas (GC-MSD). La eficiencia del método fue evaluada según la guía SANCO/825/00, cuyos requerimientos se cumplieron satisfactoriamente. Los porcentajes de recuperación obtenidos se encuentran entre 87-117%, y la máxima desviación estándar relativa (%RSD) fue de 12.59%.

Palabras clave: plaguicidas, tomate, QuEChERS, cromatografía de gases, espectrometría de masas.

## **ABSTRACT**

In this work, a preliminary study was carried out to determine the contamination level by five pesticides (dimethoate, malathion, chlorpyrifos, endosulfan and cypermethrin) in tomato lots from Imbabura province which products were going to be sold at supermarkets of the following cities: Quito, Ibarra, Tulcán and Pimampiro.

Samples collected in fifteen lots were analysed, cypermethrin residues were found in five of them, but just two exceeded the MRL set by the Codex Alimentarius for this pesticide in tomato, it means that two of the fifteen lots were not suitable for consumption, whereby these lots didn't present compliance with the national legislation.

The QuEChERS method was used for sample preparation, and the analysis was carried out with a gas chromatography/mass spectrometry equipment. The method efficiency was evaluated according to SANCO/825/00 Guidelines which requirements were successfully achieved. Recovery results ranged from 87-117% and the highest relative standard deviation was 12.59%.

Keywords: pesticides, tomato, QuEChERS, gas chromatography, mass spectrometry.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate riñón es considerado como uno de los más representativos de la variedad hortícola. La importancia adquirida por este cultivo se debe a la facilidad con que la planta se adapta a una gran variedad de suelos. Además, esta hortaliza constituye una rica fuente de nutrientes como calcio, potasio, fósforo, vitaminas de los grupos B y E, vitamina C y licopeno, un antioxidante natural considerando un agente protector contra el cáncer.

Debido a la gran demanda mundial de tomate y a los buenos réditos económicos, los agricultores, para proteger sus cultivos e inversiones, han hecho del empleo de los plaguicidas una práctica habitual, lo que los ha expuesto a sustancias tóxicas, y su uso indiscriminado ha tenido impactos en su salud y en el ecosistema. Paralelamente, debido a malas prácticas agrícolas, los residuos de plaguicidas en tomate pueden exceder los límites máximos de residuos (LMR) permitidos y perjudicar la salud del consumidor, a la vez que impiden su comercialización en otros mercados.

Para la determinación de residuos de plaguicidas en productos de cosecha como frutas y vegetales, se requiere de técnicas analíticas sensibles, reproducibles, y confiables que permitan su determinación y cuantificación; de esta manera es viable evaluar el grado de inocuidad de los alimentos.

El método de extracción QuEChERS junto con la técnica analítica Cromatografía de Gases con Detector Selectivo de Masas, han sido mundialmente utilizadas para la determinación de una gran cantidad de plaguicidas en varias matrices, obteniéndose resultados satisfactorios en cuanto

a precisión, exactitud y sensibilidad . Por lo cual, la técnica de QuEChERS se ha convertido en el método oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC, por sus siglas en inglés) y del Comité Europeo de Normalización (CEN).

# CAPÍTULO I

## PARTE TEÓRICA

### 1.1. TOMATE RIÑÓN (*Lycopersicum esculentum*)

A nivel mundial el tomate riñón o de mesa constituye una de las hortalizas de mayor consumo, cuyo cultivo y comercialización tanto fresco o en productos procesados como jugos y salsas han alcanzado una dimensión considerable. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés), la producción anual de este alimento es de alrededor de 123.79 millones de toneladas.

El tomate es un fruto perteneciente a la familia de las *Solanáceas* cuyo origen es de América Central y del Sur; es una baya coloreada en tonos que van del amarillo al rojo debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno, su forma es globular y achatada y su superficie lisa. Está constituido por la epidermis o piel, la pulpa, el tejido placentario y las semillas; posee un sabor ligeramente ácido, mide de 1 a 3 cm de diámetro en las especies silvestres, y hasta 16 cm en las especies cultivadas.

La planta de tomate es de porte arbustivo y puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta; se adapta a diferentes métodos de cultivo y tipos de suelos. Es cultivada en países tropicales y subtropicales; se puede producir en cualquier época del año, siempre y cuando se disponga de agua de riego y de infraestructura apropiada.

### **1.1.1. COMPOSICIÓN Y VALOR NUTRICIONAL**

Técnicamente, el tomate es considerado una fruta en cuya composición química se dan variaciones según las condiciones del cultivo, la época de producción, el grado de madurez, el almacenamiento etc. [1]. Este alimento constituye una fuente de vitaminas A, B6, C y E; y de minerales como fósforo, potasio, magnesio, zinc, cobre, sodio, hierro y calcio. Además, contiene proteínas, hidratos de carbono, fibra, ácido tartárico, ácido succínico, ácido salicílico, entre otros. En la tabla 1.1 se presenta la información nutricional expresada en base a 100 gramos de tomate.

Otro de los componentes de gran valor nutricional que contiene el tomate es el licopeno, un pigmento perteneciente a la familia de los carotenoides que le confiere el color rojo. El licopeno es un potente antioxidante, protege a las células del estrés oxidativo producido por radicales libres; reduciendo el riesgo de cáncer a la próstata, estómago y de todo el tracto digestivo. Además de estos beneficios, varios estudios sugieren que una dieta rica en tomate fresco o procesado disminuye la probabilidad de desarrollar enfermedades degenerativas, previene el envejecimiento prematuro de las células y protege el sistema cardiovascular [2].

Debido a sus beneficios para la salud y a su facilidad para combinarse con otros alimentos, se ha visto un aumento en la producción y el consumo de tomate; según un reporte de la FAO, entre 1983 y 2003 el promedio de consumo de tomate a nivel mundial ha aumentado de 11 a 16 kg per cápita por año, lo que indica un incremento de 45.5% [3].

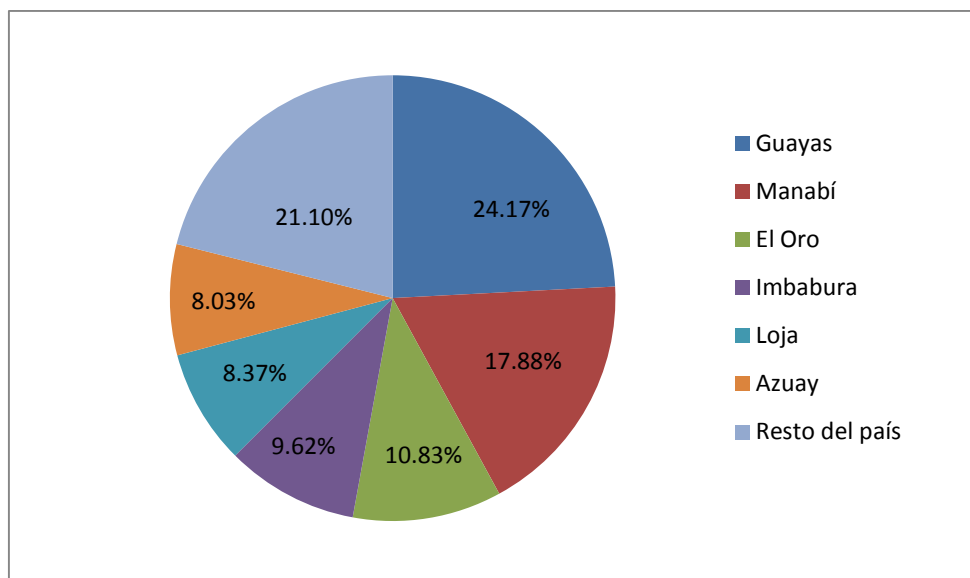
**Tabla 1.1. Valores nutricionales del tomate**

<b>INFORMACIÓN NUTRICIONAL DEL TOMATE RIÑÓN</b>					
<b>Carbohidratos</b>		<b>Grasa y ácidos grasos (AG)</b>		<b>Calorías y contenido de agua</b>	
Total	3.89g	Grasa total	0.200g	Total calorías	18kcal
Azúcares	2.63g	AG saturados	0.028g	Agua	94.52g
Fibra dietética	1.20g	AG monoinsaturados	0.031g		
Almidón	0.00g	AG poliinsaturados	0.083g		
<b>Proteínas y aminoácidos</b>		<b>Vitaminas</b>		<b>Minerales</b>	
Proteínas	0.88g	Vitamina C	13.7mg	Calcio, Ca	10mg
Isoleucina	0.018g	Vitamina B6	0.08mg	Potasio, K	237mg
Leucina	0.025g	Vitamina A	833UI	Sodio, Na	5mg
Arginina	0.021g	Vitamina E	0.54mg	Hierro, Fe	0.27mg
Prolina	0.015g	Niacina	0.594mg	Fósforo, P	24mg
Alanina	0.027g	Riboflavina	0.019mg	Zinc, Zn	0.17mg
Ácido aspártico	0.135g	Licopeno	2573µg	Magnesio, Mg	11mg

**Fuente:** *National Nutrient Database for Standard Reference*, (United States Department of Agriculture, 2010)

### 1.1.2. PRODUCCIÓN Y CONSUMO NACIONAL

Según el III Censo Nacional Agropecuario del 2002, entre las hortalizas, el cultivo de tomate riñón ocupa el cuarto lugar en importancia por área sembrada con 3054 hectáreas [4]. La producción de tomate riñón se lleva a cabo en varias zonas. En la región Costa está básicamente centrada en las provincias de Guayas, Manabí y El Oro; y en la Sierra en Imbabura, Loja y Azuay. En la figura 1.1 se presentan los porcentajes de producción para las principales provincias productoras de tomate riñón.



**Figura 1.1 Producción de tomate riñón**

**Fuente:** Superficie, Producción y Rendimiento-Hortalizas: Tomate Riñón, (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca, 2010)

En el Ecuador, cada persona consume, en promedio, 4 kilos de tomate riñón al año [5]. Esto explica la popularidad de esta hortaliza; además, su importancia también radica en que posee cualidades para integrarse en la preparación de alimentos, lo que convierte al tomate en un ingrediente básico en la dieta diaria ecuatoriana.

### **1.1.3. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE TOMATE RIÑÓN**

En la mayoría de los países el tomate se siembra anualmente. Sin embargo, en climas con temperaturas favorables se comporta como planta perenne (con ciclo de vida mayor a dos años). Se cultiva comercialmente a campo abierto, bajo invernadero y en cultivos hidropónicos.

La planta se adapta a una gran variedad de suelos, mientras sean profundos, con buen drenaje, ligeramente ácidos y ricos en materia orgánica. El tomate es una de las especies cultivadas en invernadero que mejor tolera las condiciones de salinidad del agua de riego y del suelo [6].

A pesar de la versatilidad que este cultivo presenta para adaptarse a varios tipos de suelos y condiciones, el tomate es una especie susceptible a muchas enfermedades e insectos plaga, cuya incidencia en cultivos a campo abierto es mayor que la que se presenta en sembríos en invernadero, debido a que bajo estas condiciones se protege al cultivo de vientos, lluvias y granizadas permitiendo una mayor persistencia de los productos químicos empleados aumentando su eficiencia, sin recurrir a aplicaciones posteriores.

Para combatir estas plagas existe una amplia gama de plaguicidas disponibles en el mercado, sin embargo, en muchos casos, los agricultores usan dosis mayores a las recomendadas por el fabricante, o no utilizan el producto específico para el control de la enfermedad o del insecto plaga [7].

## **1.2. PLAGUICIDAS**

Desde la antigüedad, el hombre ha intentado combatir las plagas y enfermedades que afectan a sus cultivos; se conoce que los griegos y romanos utilizaban azufre y extractos vegetales como fungicidas e insecticidas. En Europa, a partir de 1885, se empezó a utilizar como fungicida el caldo bordelés, que consistía en una mezcla de sulfato de cobre con hidróxido de calcio. A finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX se comienza a utilizar plaguicidas de carácter orgánico tales como los nitrofenoles, clorofenoles, naftaleno y aceites derivados del petróleo.

Pero es en 1939, con el uso extensivo del DDT como insecticida, que comienza el auge de los plaguicidas. Desde entonces, se han sintetizado varios agroquímicos cuyo uso mejoró notablemente la producción agrícola a nivel mundial, y disminuyó la morbilidad y mortalidad por enfermedades transmitidas por agentes biológicos. Sin embargo, el uso masivo de agroquímicos se ha convertido en una práctica habitual y su uso indiscriminado ha traído como consecuencia problemas a nivel ambiental y en la salud.

### **1.2.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN**

Según la Agencia para la Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés), los plaguicidas son sustancias o mezcla de sustancias destinadas para prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga; y también aquellas destinadas a utilizarse como regulador del crecimiento de la planta, defoliante o desecante. [8]

Los plaguicidas son clasificados principalmente en función del tipo de plaga a controlar, toxicidad y grupo químico del principio activo.

#### **a) TIPO DE PLAGA A CONTROLAR**

Los plaguicidas utilizados en el ámbito de la agricultura pueden ser categorizados como herbicidas (controlan o matan maleza), fungicidas (eliminan hongos), insecticidas (controlan o matan insectos) y nematicidas (eliminan nemátodos), dependiendo del organismo al que atacan.

#### **b) TOXICIDAD**

Según esta característica, existen varias clasificaciones, una de las más utilizadas es la recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), que cataloga a los plaguicidas según su capacidad de producir daño agudo a la salud por una o varias exposiciones durante un determinado tiempo; esta clasificación se basa en la dosis letal aguda ( $DL_{50}$ ) por vía dérmica u oral en ratas. Este valor representa la estimación estadística de la cantidad en mg del tóxico por

kg del peso corporal requerida para matar al 50% de un grupo de animales de experimentación [9]. Mientras menor sea el valor  $DL_{50}$ , mayor es la toxicidad del producto químico.

Basándose en este criterio, los plaguicidas pueden encontrarse en las siguientes categorías: IA (extremadamente peligroso), IB (altamente peligroso), II (moderadamente peligroso) y III (ligeramente peligroso). La dosis letal aguda 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 experimentación. [10]

#### c) GRUPO QUÍMICO DEL PRINCIPIO ACTIVO

Desde el punto de vista de su estructura química existe una gran variedad, pudiéndose clasificar como organoclorados, organofosforados, carbamatos, tiocarbamatos, piretroides, triazinas, derivados de origen botánico, compuestos orgánicos del estaño, elementos como arsénico, selenio, antimonio, compuestos inorgánicos como fosfito de magnesio, cloruro de mercurio, etc. En la tabla 1.2 se presenta la descripción de algunas familias de plaguicidas mencionadas.

**Tabla 1.2. Descripción de los plaguicidas según su grupo químico**

<b>Plaguicida</b>	<b>Descripción general de la estructura química</b>
Organoclorados	Se caracterizan por poseer estructuras monocíclicas o policíclicas con distinto número de sustituyentes cloro.
Organofosforados	Son ésteres del ácido fosfórico en los que los átomos de hidrógeno han sido reemplazos por radicales orgánicos.
Carbamatos	Son compuestos derivados del ácido carbámico.
Piretroides	Son ésteres del ácido crisantémico que fueron, inicialmente, aislados de la flor del crisantemo, actualmente se los obtiene por síntesis química.
Triazinas y sus derivados	Las triazinas están básicamente constituidas por un anillo heterocíclico, análogo al del benceno, pero con tres átomos de carbono reemplazados por átomos de nitrógeno.

**Fuente:** Bloomquist, Jeffrey, *Insecticides: Chemistries and Characteristics*, (University of Minnesota, 2007).

### **1.2.2. PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS**

Bajo este nombre se agrupa un número considerable de compuestos sintéticos cuya estructura química generalmente corresponde a los hidrocarburos clorados, aunque, además de cloro, algunos de ellos poseen en su molécula átomos de oxígeno o azufre, o ambos elementos. Entre mayor sea el grado de sustituciones cloradas o grupos funcionales, mayor es la resistencia a la

degradación biológica y fotolítica del compuesto, además, el cloro unido a un anillo bencénico es más estable a la hidrólisis que un cloro dentro de una estructura alifática. [11]

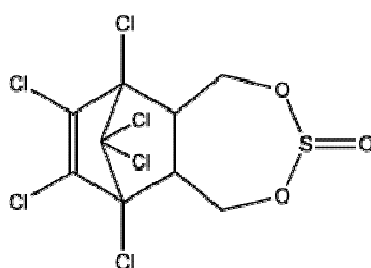
La mayoría de estos compuestos se caracterizan por su baja solubilidad en agua, baja presión de vapor, alta estabilidad química y resistencia al ataque de microorganismos. Los plaguicidas clorados con peso molecular mayor a 236g/mol se destacan por su alta persistencia ambiental y su capacidad para concentrarse en los tejidos animales, su alta liposolubilidad facilita que atraviesen la estructura fosfolípida de las membranas biológicas y se acumulen en los depósitos de grasa.

Muchos de estos plaguicidas han sido restringidos a nivel mundial debido a su prolongada persistencia en el ambiente, además afectan adversamente la salud del hombre.

#### 1.2.2.1. ENDOSULFÁN

Es un insecticida acaricida organoclorado de acción de contacto y estomacal no sistémico, de grado toxicológico II; actúa por inhibición de la enzima citocromoxidasa que interviene en el intercambio gaseoso durante la respiración de los animales, y por inestabilidad en el sistema nervioso; se lo utiliza en aproximadamente 60 tipos de cultivos para controlar más de 100 plagas de insectos, y está posicionado entre los 10 primeros insecticidas genéricos en el mundo. [12]

Su nombre según la IUPAC es: 6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6-9-metano-2,4,3benzodioxatíepin 3-óxido. Presenta dos isómeros  $\alpha$  y  $\beta$  cuya proporción es de 7 a 3 en el endosulfán técnico. En la figura 1.2 se presenta la estructura química del endosulfán.



**Figura 1.2. Estructura química del endosulfán**

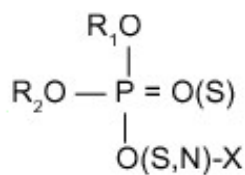
En medio terrestre, el endosulfán es moderadamente persistente (vida media de 50 días), principalmente a pH ácido. En la mayoría de frutas y vegetales, el 50% de sus residuos se disipan entre 3 a 7 días, pero puede ser asimilado por las plantas y transformado en endosulfán sulfato. El endosulfán posee menor afinidad por los lípidos en comparación con otros plaguicidas organoclorados, por lo cual, su bioacumulación es menos probable.

Según las revisiones de la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (JMPR, por sus siglas en inglés) no se considera al endosulfán como cancerígeno, mutágeno ni teratógeno, sin embargo, la aplicación de este agroquímico figura en la lista de discusión del Convenio de Rotterdam y de Estocolmo; entidades formadas por acuerdos internacionales encargadas de regular el uso de sustancias tóxicas. Además, la producción de endosulfán en Europa cesó en el 2006 y en Estados Unidos en 1982. [13]

### **1.2.3. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS**

Son ésteres del ácido fosfórico, en los que los átomos de hidrógeno han sido reemplazados por radicales orgánicos. En la figura 1.2 se presenta la fórmula estructural general de estos

compuestos que se caracterizan por la presencia de tres funciones éster, donde  $R_1$  y  $R_2$  son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo  $X$  es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un radical arilo, y suele contribuir de forma importante a sus propiedades físicas y químicas.



**Figura 1.3. Fórmula estructural de los plaguicidas organofosforados**

En general, estos plaguicidas son estables químicamente cuando se los mantiene en la oscuridad, y en lugares secos y fríos. Sufren reacciones de oxidación e hidrólisis al ser expuestos al calor, luz ultravioleta o agua, por lo que se degradan fácilmente en el ambiente en relación a los plaguicidas organoclorados. Pueden ser polares o apolares, existiendo grandes diferencias de un compuesto a otro. La mayoría son semivolátiles lo que facilita la absorción inhalatoria al momento de las fumigaciones en el campo.

El mecanismo de acción de los organofosforados en el sistema nervioso consiste en bloquear la enzima colinesterasa, la cual destruye la acetilcolina que transmite el impulso durante la sinapsis, de esta manera se anula la sinapsis para otra transmisión. En insectos, los organofosforados afectan el sistema nervioso central desde la unión neuromuscular colinérgica. La única sinapsis colinérgica conocida en insectos es en el sistema nervioso central. [14]

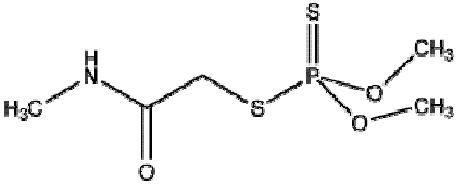
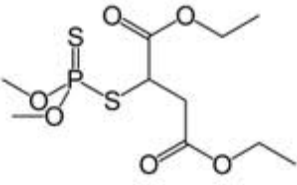
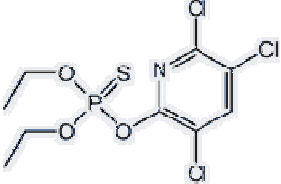
### 1.2.3.1. DIMETOATO, MALATION Y CLORPIRIFOS

Son insecticidas y acaricidas ampliamente utilizados en el control de plagas, especialmente en cultivos de frutas y vegetales. De estos tres, sólo el dimetoato es sistémico. En el ambiente sufren reacciones de hidrólisis u oxidación; pueden ser absorbidos después de su ingestión, inhalación y contacto cutáneo, pero ninguno es bioacumulable y en el organismo se metabolizan rápidamente.

[15]

En la tabla 1.3 se presentan las estructuras químicas del dimetoato, malatión y clorpirifos, sus nombres según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) y su clasificación toxicológica según la OMS.

**Tabla 1.3. Estructura química, nombre IUPAC y clasificación toxicológica**

Estructura química	Nombre IUPAC	Clasificación toxicológica
 <p style="text-align: center;"><b>dimetoato</b></p>	<p>O,O-dimetil S-metil carbamoil metilfosforoditioato</p>	<p style="text-align: center;">II</p> <p style="text-align: center;">Moderadamente tóxico</p>
 <p style="text-align: center;"><b>malatión</b></p>	<p>Dietil(dimetoxitiofosforiltio) succinato o S-1,2-bis(etoxicarbonil)etil O,O- dimetil fosforoditioato</p>	<p style="text-align: center;">III</p> <p style="text-align: center;">ligeramente tóxico</p>
 <p style="text-align: center;"><b>clorpirifos</b></p>	<p>O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl) phosphorothioate</p>	<p style="text-align: center;">II</p> <p style="text-align: center;">moderadamente tóxico</p>

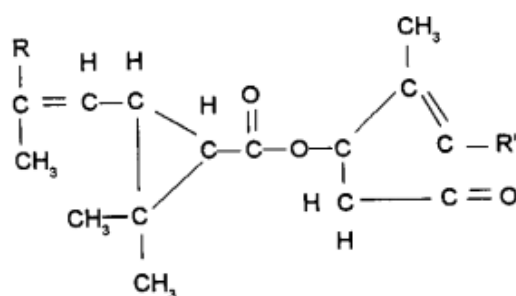
**Fuente:** *The Pesticide Action Network (PAN) Pesticide Database*, 2011.

No existen estudios que confirmen que el dimetoato y el clorpirifos sean cancerígenos ni mutágenos; sin embargo, en EE.UU el uso doméstico de clorpirifos ha sido restringido desde el año 2002 [16]. Mientras que el malatión sí es considerado un agente mutágeno y su efecto cancerígeno aún se encuentra en discusión. [17]

#### 1.2.4. PLAGUICIDAS PIRETROIDES

Son ésteres del ácido crisantémico, cuya característica estructural común es la presencia de un anillo ciclopropánico. Los compuestos originales de esta serie fueron las piretrinas naturales, las cuales fueron aisladas de las flores del crisantemo y han sido utilizados por el hombre desde hace muchos años; sin embargo, estos productos naturales son poco solubles en agua, inestables a la exposición a la luz y al calor, lo cual les resta utilidad para su aplicación en la agricultura.

El desarrollo de los piretroides sintéticos basado en la estructura química y actividad biológica de las piretrinas, ha supuesto modificaciones químicas importantes que hacen que estos compuestos sean menos degradables en el medioambiente pero más tóxicos. En general, estos compuestos tienen bajas presiones de vapor, son poco solubles en agua y su persistencia en el ambiente depende de su estructura. Por ejemplo, los piretroides de última generación, como la cipermetrina, son fotoestables y de baja volatilidad, lo que les confiere mayor efectividad residual [18]. En la figura 1.43 se presenta la estructura química general de las piretrinas.



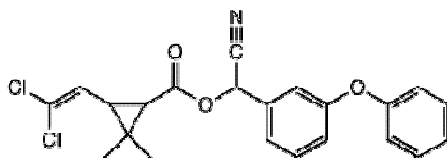
**Figura 1.4. Estructura química general de las piretrinas**

A los piretroides se los considera venenos axónicos, ya que aparentemente, al igual que el DDT, alteran el balance de los iones sodio y potasio dentro de los axones de las neuronas, inicialmente estimulan las células nerviosas a que produzcan descargas repetitivas, seguidas por parálisis y la

muerte. Tales efectos son causados por su acción sobre el canal de sodio, un diminuto conducto que les permite a los iones de sodio entrar al axón para causar excitación.

#### 1.2.4.1. CIPERMETRINA

Es un insecticida acaricida de acción estomacal y de contacto no sistémico, de grado toxicológico II; su nombre según la IUPAC es (RS)- $\alpha$ -ciano-3-fenoxibencil (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropancarboxilato. La molécula de cipermetrina contiene tres centros quirales (carbonos con 4 sustituyentes diferentes), por lo que presenta ocho isómeros; los cuales están agrupados en 4 isómeros cis y 4 isómeros trans; los productos técnicos disponibles comúnmente tienen más del 90% de pureza y la relación de isómeros de cis a trans varía de 50:50 a 40:60. En la figura 1.5 se presenta la estructura química de la cipermetrina. [19]



**Figura 1.5. Estructura molecular de la cipermetrina**

Cuando la cipermetrina se aplica a los cultivos pueden presentarse residuos en el suelo y en aguas superficiales, los productos de degradación se fijan como glucósidos en las plantas, pero la degradación biológica es relativamente rápida; en el suelo, la vida media está determinada por muchos factores, pudiendo ser de dos a cuatro semanas [19].

Este piretroide se absorbe fácilmente vía ingestión e inhalación y en menor proporción por la piel, no es un agente teratógeno ni mutágeno según la OMS, pero es considerado por la EPA como un posible cancerígeno y disruptor endócrino [20].

### **1.3. LEGISLACIÓN, LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES**

Los límites máximos de residuos establecidos (LMR) indican la concentración de uno o más contaminantes por debajo de la cual, no se prevé riesgo para la salud; estos límites son determinados por autoridades competentes y son legalmente exigibles.

Existen algunas organizaciones de normalización encargadas de establecer los LMR, la más conocida a nivel mundial es la Comisión del Codex Alimentarius, creada en 1963 por la OMS y la FAO. También hay entidades que determinan estos límites a nivel regional o nacional; así, la Unión Europea tiene su propia normativa regional, mientras que en Estados Unidos, la EPA es el organismo oficial de regulación nacional.

Debido a que no existe una legislación nacional con respecto a residuos de plaguicidas en alimentos, se ha acogido al Codex Alimentarius como norma vigente. En la tabla 1.4 se presentan los LMR para dimetoato, malatión, clorpirifos, endosulfán y cipermetrina en tomate riñón.

**Tabla 1.4. Límites Máximos Permisibles en Tomate Riñón**

Plaguicida	Límites Máximos Permisibles (mg/kg)			
	EPA	Codex Alimentarius	Unión Europea (EU)	The Japan Food Chemical Research Foundation
Dimetoato	2	-	0.02*	1.0
Malatión	8	0.5	0.02*	0.5
Clorpirifos	-	-	0.5	0.5
Endosulfán <sup>1</sup>	1	0.5	0.5	0.5
Cipermetrina <sup>2</sup>	-	0.2	0.5	2.0
*Límite de detección				
<sup>1</sup> Endosulfán: suma de sus isómeros $\alpha$ y $\beta$ y de Endosulfán Sulfato				
<sup>2</sup> Cipermetrina: suma de todos sus isómeros				

**Fuentes:** *Health and Safety Executive, Chemicals Regulation Directorate Pesticides, 2011; US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs; The Japan Food Chemical Research Foundation.*

Los límites máximos del Codex para residuos, se establecen basándose en estimaciones hechas por la JMPR después del examen de datos de residuos obtenidos en ensayos supervisados, de la evaluación toxicológica del plaguicida y su residuo y en base a la ingesta diaria admisible (IDA) para cada plaguicida [21].

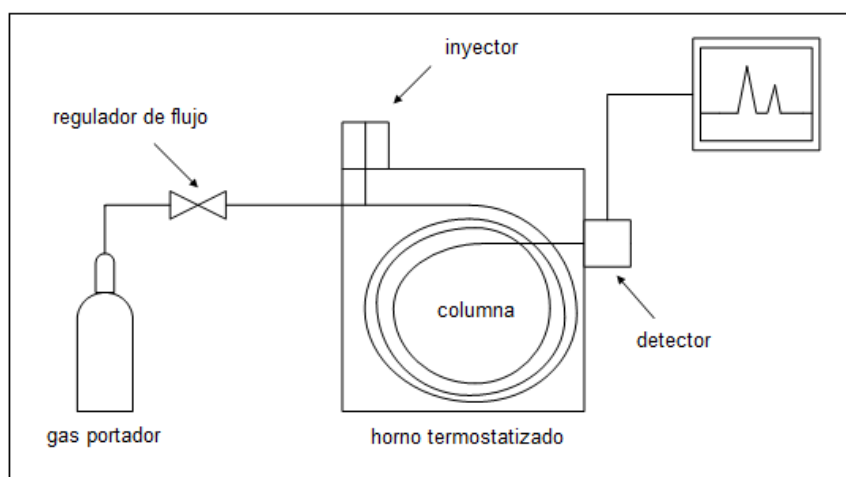
## **1.4. ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS**

Con la finalidad de controlar los LMR, varias organizaciones dedicadas a monitorear la calidad de los alimentos en cuanto a la presencia de residuos de plaguicidas, han desarrollado metodologías multiresiduo y planes de muestreo para llevar a cabo controles sobre los alimentos en fase de comercialización. Existen varios métodos analíticos para la determinación de residuos de plaguicidas, muchos de ellos se basan en técnicas cromatográficas.

### **1.4.1. CROMATOGRAFÍA DE GASES**

La cromatografía de gases es un método de separación física, en la que los componentes de una mezcla vaporizada son separados al distribuirse entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria líquida adherida a las paredes de una columna. Esta técnica puede separar mezclas gaseosas, líquidas o sólidas que sean solubles en solventes orgánicos, volátiles y tengan estabilidad térmica.

Un cromatógrafo de gases está compuesto por una cámara de vaporización, un horno, una columna y un detector, el cual monitorea el gas portador a la salida de la columna midiendo una propiedad física del gas que varía debido a la presencia de ciertos analitos, de esta manera, se genera una señal cuando un componente de la muestra eluye de la columna [22]. En la figura 1.6 se presenta el diagrama de un cromatógrafo de gases.



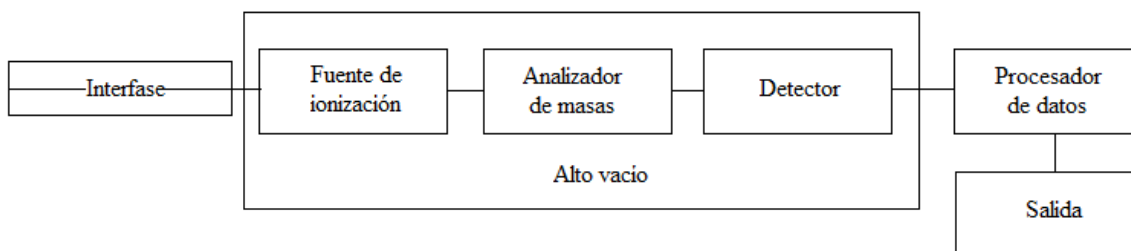
**Figura 1.6. Diagrama de un cromatógrafo de gases**

Tradicionalmente los detectores más utilizados para la determinación de residuos de plaguicidas son: detector de captura de electrones (ECD), fotométrico de llama (FPD), de nitrógeno-fósforo (NPD), entre otros. Estos detectores permiten identificar los compuestos eluidos a partir de su tiempo de retención, para lo cual, es necesario el uso de estándares certificados de los plaguicidas que se van a analizar.

#### 1.4.2. ESPECTRÓMETRO DE MASAS

El espectrómetro de masas es utilizado como detector para cromatografía de gases, permitiendo registrar los espectros de masas a medida que los compuestos eluyen de la columna. El principio de este detector es la medición de las fracciones formadas como resultado del bombardeo de la molécula con electrones de alta energía y que serán separadas de acuerdo a su relación masa/carga. Este instrumento consta de tres partes principales: la fuente de ionización,

el analizador de masas y el detector. En la figura 1.7 se presenta un diagrama de un detector selectivo de masas.



**Figura 1.7. Diagrama de un espectrómetro de masas**

El efluente que emerge de la columna es introducido a la fuente de ionización, que trabaja a alto vacío, donde se produce el impacto electrónico con electrones de cierta energía (70eV), lo que genera la emisión de un electrón de las moléculas provocando su ionización; a más de estos iones moleculares se forman iones fragmento por la descomposición de las moléculas ionizadas con exceso de energía. El tipo y la proporción de estos fragmentos son característicos de cada compuesto [23].

El analizador de masas tiene como función separar los iones formados en la cámara de ionización, de tal manera que sólo los iones con una relación masa/carga específica alcancen a llegar al detector. La detección consecutiva de los iones produce el espectro de masas de la sustancia. El detector también registra la corriente iónica total que se genera en la fuente de ionización, cuya representación gráfica constituye el cromatograma. [24]

El espectrómetro de masas proporciona información cualitativa prácticamente inequívoca que proviene de los espectros de masas de los compuestos analizados [24]; la información cuantitativa se obtiene del cromatograma, en donde el área o la altura de los picos es proporcional a la concentración del analito correspondiente.

Existen dos técnicas de detección con las que se puede trabajar utilizando un espectrómetro de masas: barrido completo (modo SCAN) y Monitoreo de Iones Seleccionados (SIM). Al utilizar el modo SCAN el detector realiza un barrido de todos los iones. En el modo SIM, el analizador de masas adquiere y guarda solamente las señales de iones de una relación  $m/z$  específica, lo que permite monitorear una cantidad de iones característicos de un analito, esta técnica de detección permite tener alta selectividad sin perder sensibilidad y reducir interferencias.

La cromatografía de gases con detector de espectroscopía de masas constituye una herramienta de análisis muy útil y poderosa, ya que dada la eficaz separación de la cromatografía de gases y la capacidad de detección del espectrómetro de masas, se hace posible identificar los compuestos de interés de una mezcla compleja.

#### 1.4.3. TÉCNICA QUECHERS

El procedimiento para la extracción de analitos de la matriz, se basó en el método EN 15662 de la Unión Europea, el cual utiliza la técnica de extracción QuEChERS, que proviene de las siglas del inglés: *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*, es decir, rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro. Este nuevo método de preparar las muestras surgió de la necesidad de desarrollar métodos multiresiduos rápidos y económicos que proporcionen resultados

confiables. Actualmente existen más de 10 compañías que ofrecen productos QuEChERS en el mercado [25].

La técnica QuEChERS fue introducida en el año 2003 por Anastassiades, Lehotay, Štajnbaher y Schenck; este método, básicamente, implica la extracción de los analitos de frutas y vegetales con un solvente orgánico en presencia de sales como sulfato de magnesio anhidro, cloruro de sodio u otras sales que inducen la partición líquido-líquido y la separación de las fases orgánica y acuosa.

La remoción de agua residual del extracto y su limpieza o eliminación de interferencias, se llevan a cabo simultáneamente mediante extracción en fase sólida dispersiva, donde el extracto interactúa con amina primaria secundaria, (PSA) un intercambiador aniónico débil que elimina varios compuestos polares co-extraídos de la matriz como ácidos grasos, pigmentos polares y azúcares; mientras que el sulfato de magnesio anhidro absorbe el agua residual. [26]

En el método original, 10g de muestra representativa y homogenizada se colocan en un tubo de centrifuga de 50mL de polipropileno, el cual contiene 4g de sulfato de magnesio anhidro y 1g de cloruro de sodio. Luego se añaden 10mL de acetonitrilo como solvente de extracción, se agita el tubo manualmente por un minuto, y se centrifuga. Para el proceso de *cleanup* se toma un alícuota de 1mL de extracto y se lo transfiere a un tubo de 2mL, el cual contiene 50mg PSA+50mg C18 + 150mg de MgSO<sub>4</sub> anhidro, se agita en vórtex por 30 segundos, y se centrifuga.

La efectividad de este método fue demostrada en varias matrices para más de 200 plaguicidas utilizando cromatografía de gases-espectrometría de masas y cromatografía líquida-

espectrometría de masas; pero se obtuvieron bajas recuperaciones para aquellos plaguicidas sensibles al pH como captan, folpet, diclofluanid clorotalonil, imazalil y tiabendazol; ya que sufrían degradación [27]. En estudios posteriores los autores de la técnica observaron que al utilizar una solución tampón para mantener el pH a 5 durante la extracción, se obtenían recuperaciones (>70%) para estos plaguicidas independientemente de la matriz [28].

Existen dos versiones modificadas de este método que surgieron con la finalidad de estabilizar el pH en el proceso de extracción, una de ellas es el *AOAC Official Method 2007.01*, el cual utiliza acetato de sodio, y ácido acético al 1% en acetonitrilo para formar la solución tampón; y el *European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662*, que en lugar de acetato utiliza citrato de sodio.

Son pocos los plaguicidas problemáticos para los cuales se necesita estabilizar el pH, por lo cual, no es necesario afinar aún más el protocolo y sacrificar la extracción de los demás plaguicidas. El método QuEChERS es lo suficientemente flexible y robusto para la mayoría de plaguicidas y ha producido excelentes resultados al utilizar diferentes cantidades y tipos de solventes y de sales en el proceso de extracción, así como diferentes cantidades y tipos de agentes adsorbentes en la etapa de *clean-up*. En varias modificaciones de la técnica no se ha observado una ventaja significativa de una sobre otra [29].

Se conoce que el acetonitrilo es el solvente más indicado para la preparación de la muestra, ya que cumple con casi todos los aspectos que deben ser considerados al elegir un solvente, los cuales son: compatibilidad con un vasto grupo de analitos de diferentes polaridades, selectividad, habilidad de separarse del agua o de inducir el proceso de partición usando aditivos,

compatibilidad con técnicas usadas para la etapa de *clean-up* y volatilidad si se requiere concentrar el extracto. [30].

El acetato de etilo es considerado el segundo solvente en términos efectividad después del acetonitrilo, su desventaja radica en la cantidad de interferencias que se extraen al utilizar este solvente, que para sustancias lipofílicas decrece en este orden: acetato de etilo > acetona > acetonitrilo, y para azúcares: acetona > acetonitrilo > acetato de etilo. [31].

Aunque el acetato de etilo presente esta desventaja, ha demostrado ser mejor solvente de inyección para cromatografía de gases-espectrometría de masas al presentar reproducibilidades más consistentes en comparación con el acetonitrilo [29] Además, en cuanto a precios, el acetonitrilo es 1.7 veces más costoso que el acetato de etilo y más tóxico. [30]

La presencia de pigmentos como clorofila y carotenoides representan un problema en el análisis de plaguicidas, el uso del negro de carbón grafitizado ha sido incluido en la etapa de *clean-up*, ya que remueve la mayoría de pigmentos en los extractos, pero no elimina ácidos grasos ni azúcares, por lo cual, la combinación con PSA y/o C18 constituye una excelente opción para la remoción de interferencias en matrices vegetales [32].

Aunque los pigmentos, debido a su baja volatilidad no contribuyen con ningún pico en los cromatogramas, ni afectan la cuantificación, pueden degradarse en el *liner* o permanecer en la columna. Varios autores concuerdan en que mientras más exhaustivo sea el proceso de eliminación de interferencias, menor será la contaminación del sistema cromatográfico, y se extenderá la vida de la columna capilar y del *liner* [33].

## CAPÍTULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1. MATERIALES

Para este trabajo se utilizó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies 689-N con automuestreador e inyector 7683 Series *Split/Splitless*, acoplado a un detector selectivo de masas de cuadrupolo 5973-N. Se empleó una columna capilar de alta eficiencia Zebron ZB-Multiresidue-1 de 30 m de longitud, 0.25  $\mu\text{m}$  de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de fase estacionaria; con límites de temperatura entre -60 y 320 °C.

Para el tratamiento de las muestras se usó una licuadora marca Oster de 10 velocidades, una centrífuga Thermo Scientific IEC CL10 y un mezclador vórtex Heidolph, REAX top. En la preparación de soluciones y en el tratamiento de extracto de muestras se emplearon filtros de jeringa Acrodisc (0.2  $\mu\text{m}$  de membrana GHP).

Los estándares de plaguicidas fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) y de Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemania). Se empleó acetato de etilo, grado plaguicidas, de Fisher Scientific (Fairlawn, NJ, USA). Para el método de extracción se utilizaron kits de extracción en fase sólida dispersiva (QuEChERS) de la casa comercial Waters (Milford, MA, USA). El carbón grafitizado, la amina primara secundaria (PSA) y el sulfato de magnesio anhidro se obtuvieron de Agilent Technologies.

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. MUESTREO

El muestreo se efectuó en la provincia de Imbabura. Se tomaron muestras de tomate riñón de 15 productores, 6 de los cuales ubicados en el cantón Ibarra, parroquia Ambuquí; y 9 en el cantón Pimampiro, parroquia Pimampiro. En la figura 2.1 se presenta la división cantonal de la provincia.

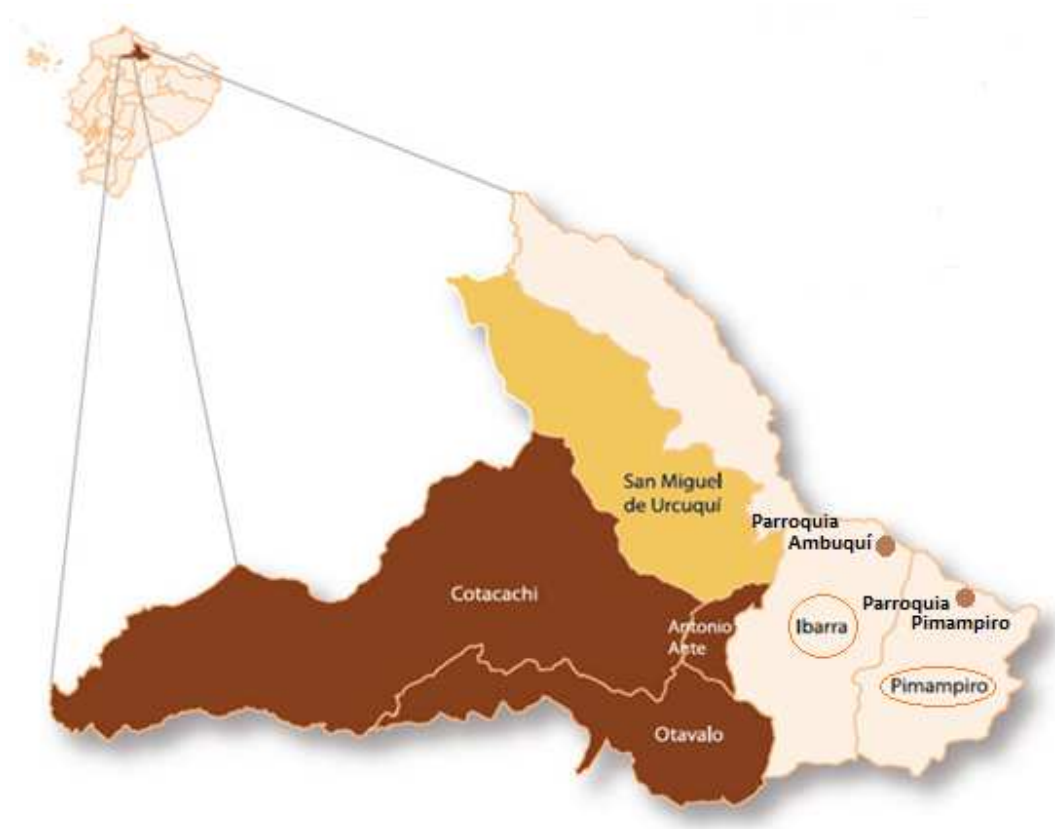


Figura 2.1 División cantonal de la provincia de Imbabura

El muestreo se efectuó acorde a la norma 2002/63/EC [34], el objetivo de este procedimiento fue obtener una muestra representativa de un lote para realizar un análisis, con el fin de determinar su conformidad con los LMR de los plaguicidas en estudio.

#### 2.2.1.1. ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

En el protocolo del procedimiento de muestreo se establecen cuatro etapas: caracterización de los lotes, recolección de las muestras primarias, preparación de la muestra a granel y preparación de la muestra de laboratorio.

##### 2.2.1.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS LOTES

Según la norma 2002/63/EC, un lote es la cantidad de producto alimenticio entregado en un momento determinado, del cual, se sabe o supone que tiene características uniformes, como por ejemplo origen, productor, variedad, marca, consignador etc. Basándose en esta definición, se consideró un lote a la producción proveniente de una cosecha.

En el cultivo de tomate, la cosecha, generalmente, se realiza dos veces por semana, y cada cosecha constituye una remesa; de acuerdo con la norma en la que se basa este muestreo, una remesa puede estar constituida por uno o más lotes, en este caso, la remesa de un día constituye un lote. La producción de cada cosecha se almacena en gavetas o cajas, cuyo peso varía de acuerdo a cada productor.

En la tabla 2.1 se presenta la fecha de cosecha en la cual se tomaron las muestras, el peso y el número de gavetas de cada productor y el lugar de expendio de su producción.

**Tabla 2.1. Características de los lotes analizados**

<b>Lote</b>	<b>Fecha de cosecha (día/mes/año)</b>	<b>Peso de gaveta (kg)</b>	<b>Número de gavetas/cosecha</b>	<b>Lugar de expendio</b>
C1	08/09/2011	20	20	Mercado Mayorista Quito
C2	08/09/2011	20	15	Mercado Mayorista Quito
C3	10/09/2011	22	14	Mercado Mayorista Ibarra
C4	10/09/2011	20	13	Mercado Mayorista Ibarra
C5	11/09/2011	22	10	Mercado Mayorista Ibarra
C6	11/09/2011	20	23	Mercado Mayorista Tulcán
I1	08/09/2011	22	50	Supermaxi, Quito
I2	08/09/2011	22	45	Supermaxi, Quito
I3	08/09/2011	20	20	Mercado Mayorista Quito
I4	10/09/2011	22	30	Mercado de Ipiales, Nariño
I5	10/09/2011	20	40	Mercado Mayorista de Quito
I6	10/09/2011	20	43	Mercado de Pimampiro
I7	10/09/2011	22	45	Mercado de Pimampiro
I8	11/09/2011	20	70	Supermaxi, Ibarra
I9	11/09/2011	20	64	Supermaxi, Ibarra
<p>C: lotes de sembríos a campo abierto (cantón Ibarra, parroquia Ambuquí).  I: lotes de sembríos bajo invernadero (cantón Pimamapiro, parroquia Pimampiro)</p>				

#### 2.2.1.1.2. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS PRIMARIAS

La muestra primaria constituye una o más unidades tomadas de un solo lugar en un lote, es decir, de una sola gaveta. Según el documento de la norma, en el caso de frutas y vegetales, la definición de unidad se aplica para el vegetal o la fruta completa o racimo. El lugar de donde se toma la muestra primaria se elige de preferencia en modo aleatorio, pero cuando esto es materialmente imposible, las unidades se tomarán de las partes accesibles del lote. El número mínimo de muestras primarias que se deben tomar de un lote se determina en la tabla 2.2.

**Tabla 2.2. Número mínimo de muestras primarias que han de tomarse de un lote**

<b>Por peso del lote (kg)</b>	<b>Número mínimo de muestras primarias que han de tomarse de un lote</b>
< 50	3
50-500	5
> 500	10
<b>Por número de cajas u otros contenedores del lote</b>	
1-25	1
26-100	5
> 100	10

**Fuente:** Official Journal of the European Communities, *Establishing community methods of sampling for the official control of pesticide residues in products of plant and animal origin and repealing*, (julio de 2002)

Para la recolección de las muestras primarias, se tomó en cuenta el peso de cada lote y el tamaño mínimo de la muestra de laboratorio, que para productos cuyo peso oscila entre 25 y 250g, como es el caso del tomate, corresponde a 1kg (aproximadamente 10 unidades).

De acuerdo con el procedimiento establecido, el número de unidades requeridas para formar una muestra primaria debe definirse según el tamaño mínimo de la muestra de laboratorio. Por lo tanto, se consideró a 1kg como el equivalente a una muestra primaria. En la tabla 2.3 se presenta el peso de cada lote y el número de muestras primarias recolectadas.

**Tabla 2.3. Número de muestras primarias tomadas en cada lote**

<b>Lote</b>	<b>Peso del lote (kg)</b>	<b>Número de muestras primarias</b>
C1	400	5
C2	300	5
C3	308	5
C4	260	5
C5	220	5
C6	460	5
I1	1100	10
I2	990	10
I3	400	5
I4	660	10
I5	800	10
I6	860	10
I7	990	10
I8	1400	10
I9	1280	10

Cada muestra primaria (1kg) fue tomada de una gaveta escogida al azar.

#### 2.2.1.1.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A GRANEL

La muestra a granel constituye el total combinado y perfectamente mezclado de las muestras primarias tomadas de un lote, las cuales deberán proporcionar material suficiente para que se pueda extraer de la muestra a granel todas las muestras de laboratorio sin cortar ni romper las unidades que la constituyen, por lo cual, todas las muestras primarias recolectadas de un lote se colocaron en un contenedor de manera que todas las unidades se mezclen.

#### 2.2.1.1.4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE LABORATORIO

Por cada lote se prepararon 2 muestras de laboratorio de 1kg cada una, para lo cual, de la muestra a granel se extrajo 1kg de tomate y se lo almacenó en fundas de polietileno con cierre hermético con su respectiva etiqueta indicando el código del lote, la fecha y el lugar de muestreo. Las muestras fueron transportadas en contenedores térmicos con hielo para mantenerlas refrigeradas.

## 2.2.2. EXTRACCIÓN DE LOS ANALITOS DE LA MATRIZ

Para la extracción de los analitos de la matriz se tomó 1kg de tomate, que corresponde a la cantidad mínima de muestra de laboratorio, se procedió a cortar y homogenizar la hortaliza, luego se pesó una submuestra de 15g en el tubo de extracción (# 1) de 50mL y se agregaron 15mL de acetato de etilo, manualmente se agitó el tubo por 1 minuto y se centrifugó por 5 minutos a 5000 rpm.

Del extracto obtenido se transfirió 1mL al tubo de *clean-up* (# 2) de 2mL para eliminar interferencias como azúcares, ácidos grasos y pigmentos; se añadió 25mg de negro de carbón grafitizado y se agitó en el mezclador vortex por 30 segundos, luego se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos.

Finalmente, se transfirieron 500µL del extracto final al vial de inyección para ser analizados en el GC-MSD. El contenido de los tubos de extracción y *clean-up* se presentan en la Tabla 2.4

**Tabla 2.4. Contenido de los tubos de extracción (#1) y de *clean-up* (# 2)**

<b>Tubo (# 1) (Tubo de extracción)</b>	<b>Tubo (# 2) (<i>Clean-up</i> )</b>
Sulfato de magnesio anhidro 4g	Sulfato de magnesio anhidro 150mg
Cloruro de sodio 1g	PSA (amina primaria secundaria) 25mg
Citrato de sodio dihidratado 1g	C18 25mg
Citrato dihidrogenado de sodio 0.5g	

### 2.2.3. CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL GC-MSD

Las condiciones de operación bajo las cuales se obtuvo la mejor separación entre los picos de cada plaguicida y se muestran en la tabla 2.5.

**Tabla 2.5 Condiciones de operación del sistema GC-MSD**

Temperatura del inyector	250°C	
Temperatura de la interfase	300°C	
Temperatura fuente de iones	320°C	
Temperatura cuadrupolo	150°C	
Modo de inyección	Splitless	
Gas, flujo	Helio, 1.0mL/min.	
Volumen de inyección	4 µL	
<b>Programa de temperaturas</b>		
Tasa de calentamiento (°C/min.)	Temperatura objetivo (°C )	Tiempo (min.)
-	70	4.00
30	250	2.00
10	270	0.00
30	300	3.00

#### **2.2.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS ANALITOS**

Para la identificación de los analitos se empleó la técnica de Monitoreo de Iones Seleccionados (SIM); para esto, se analizaron soluciones de los estándares de cada analito en modo SCAN. De los espectros obtenidos se seleccionaron los 4 iones más abundantes de cada plaguicida. Luego se determinaron los intervalos, lo que consiste en dividir el tiempo de corrida para que cada intervalo contenga un número determinado de analitos; de este modo, el equipo monitorea exclusivamente los iones de los analitos contenidos en cada intervalo.

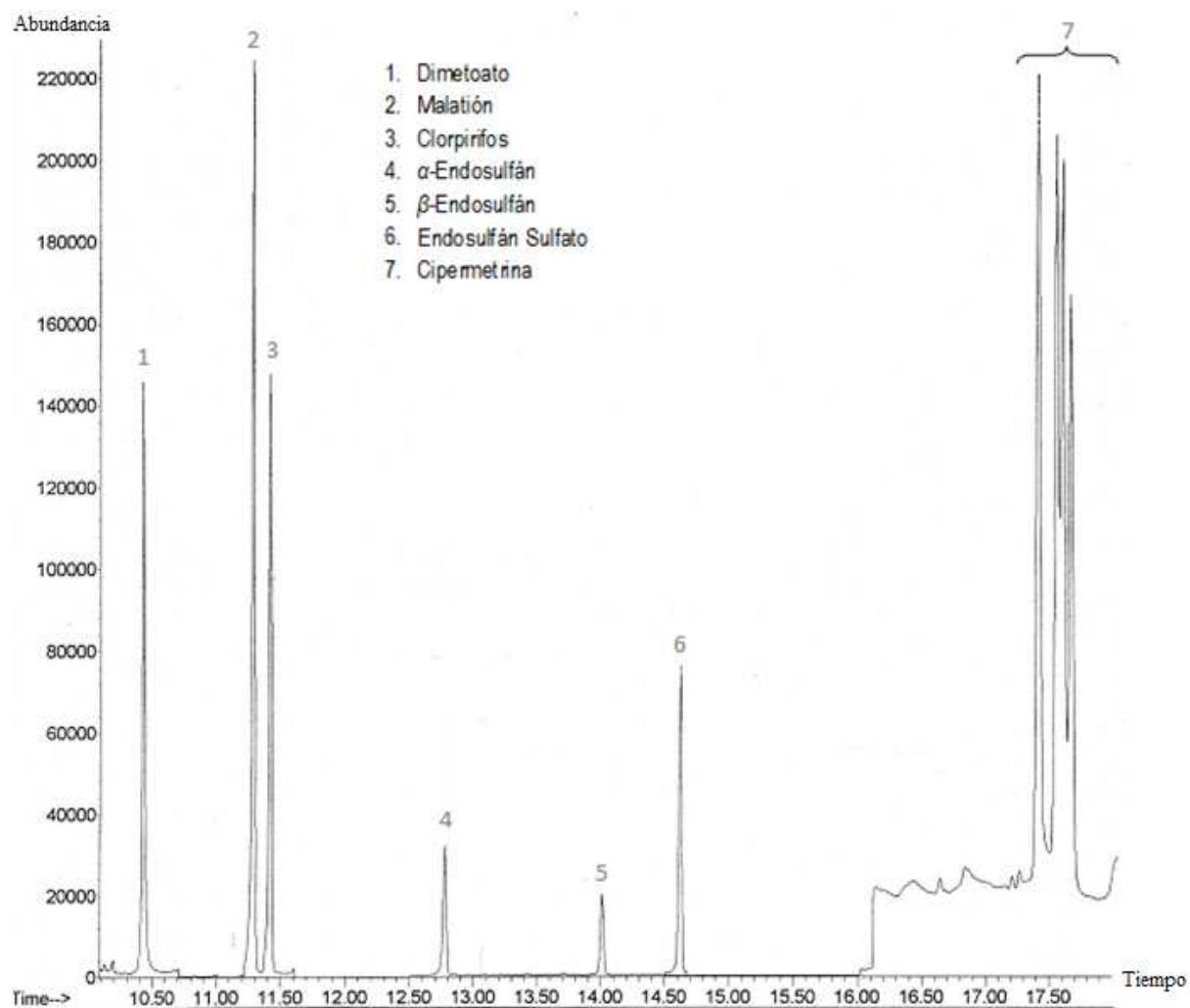
En la tabla 2.6 se presentan los intervalos de tiempo escogidos, tiempos de retención y los iones seleccionados de cada plaguicida.

**Tabla 2.6. Parámetros usados para la técnica de detección en modo SIM**

<b>Analitos</b>	<b>Iones seleccionados (<i>m/z</i>)</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Intervalo de tiempo (min)</b>
Dimetoato	83, 93, 125, 229	10.430	10.20-11.21
Malatión	93, 125, 127, 173	11.290	11.21-11.37
Clorpirifos	97, 197, 199, 314	11.421	11.37-12.50
$\alpha$ -Endosulfán	195, 237, 239, 241	12.779	12.50-13.10
$\beta$ -Endosulfán	195, 197, 237, 241	14.011	13.10-14.50
Endosulfán Sulfato	272 ,274, 387, 420	14.630	14.50-16.01
Cipermetrina I	91, 163, 165, 181	17.312	16.01-18.00
Cipermetrina II	91, 163, 165, 181	17.455	
Cipermetrina III	91, 163, 165, 181	17.504	
Cipermetrina IV	91, 163, 165, 181	17.568	

En la técnica de detección SIM, la identificación se realiza mediante el tiempo de retención y las abundancias relativas de las 4 relaciones *m/z* características de cada plaguicida. Este proceso de identificación se lo realizó con el programa NIST MS Search 2.0, el cual está incluido en el software *Chemstation* que conecta el sistema GC-MSD al computador.

En la figura 2.2 se presenta el cromatograma obtenido bajo la técnica de detección en modo SIM de un blanco de matriz fortificado (1.0  $\mu\text{g/mL}$ ).



**Figura 2.2. Cromatograma de un blanco de matriz fortificado (1.0  $\mu\text{g/mL}$ )**

## 2.2.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS ANALITOS

### 2.2.5.1. CURVA DE CALIBRACIÓN EN MATRIZ

En el análisis de plaguicidas mediante cromatografía de gases es común encontrarse con variaciones en la respuesta inducidas por componentes de la matriz. En general, estos fenómenos se caracterizan por aumentar la señal cromatográfica de algunos de los compuestos en estudio.

Este fenómeno se debe a un proceso de competencia entre los analitos y los componentes de la matriz por los sitios activos presentes en el sistema cromatográfico responsables de la adsorción y/o descomposición térmica de algunos analitos. La naturaleza de estos sitios activos se atribuye, generalmente, a impurezas de metales que se pueden encontrar en las superficies de la columna y del *liner* [35].

Este efecto matriz, se evidencia al comparar la respuesta cromatográfica de un analito en solvente con la del mismo analito a la misma concentración en una muestra real, donde puede observarse, que en muchos casos, la señal del analito en solvente resulta ser inferior hasta en un 95% [36]. Por esta razón, en la mayoría de los laboratorios se ha optado por el empleo de curvas de calibración en blancos de matriz, lo cual evita la sobreestimación en los resultados cuantitativos [37].

### 2.2.5.2. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

De cada analito se preparó 4mL de solución stock de 200 $\mu$ g/mL en acetato de etilo. A partir de estas soluciones se prepararon 10mL de cocktail de plaguicidas de manera que la concentración de cada analito sea de 10 $\mu$ g/mL.

Para la construcción de la curva de calibración en matriz, se trataron 4kg de tomate de acuerdo con el método de extracción establecido, con la finalidad de obtener un volumen de extracto de matriz suficiente para elaborar 5 soluciones de trabajo de las siguientes concentraciones: 0.05, 0.15, 0.30, 0.50 y 1.00  $\mu$ g/mL.

El extracto de matriz obtenido se analizó en el GC-MSD para verificar la ausencia de los plaguicidas en estudio (Anexo 3). Luego se procedió con la elaboración de las soluciones de la curva de calibración en matriz a partir del cocktail de plaguicidas. Se prepararon 4mL de cada solución de trabajo.

## 2.2.6 PÁRAMETROS EVALUADOS

La evaluación del método fue realizada basándose en la guía SANCO/825/00 de la Comisión Europea [38], para lo cual, se determinaron los siguientes parámetros: linealidad, exactitud, precisión, límites de detección y de cuantificación.

La linealidad de las curvas de calibración de cada plaguicida se evaluó en base a sus coeficientes de correlación  $R^2$ , que según la guía de la AOAC debe ser mayor a 0.99 para métodos analíticos relacionados con la determinación de contaminantes y aditivos en alimentos [39].

La exactitud fue evaluada según los porcentajes de recuperación de cada analito, para lo cual, se fortificaron 15 muestras con el cocktail de plaguicidas, de tal manera que se obtuvieron tres niveles de concentración: 0.05, 0.25 y 0.5  $\mu\text{g/mL}$  (5 repeticiones por cada nivel). La precisión se determinó junto con la exactitud, por lo que se calcularon las desviaciones estándar relativas (%RSD) de los porcentajes de recuperación de los tres niveles de fortificación.

Los resultados obtenidos en cuanto a precisión y exactitud se compararon con los criterios de aceptación para porcentajes de recuperación y desviación estándar relativa en matrices de origen vegetal y animal de la norma SANCO/825/00.

El límite de detección se determinó como el promedio de la lectura de 10 blancos más tres veces su desviación estándar y el límite de cuantificación como el promedio de la lectura de 10 blancos más diez veces su desviación estándar.

## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

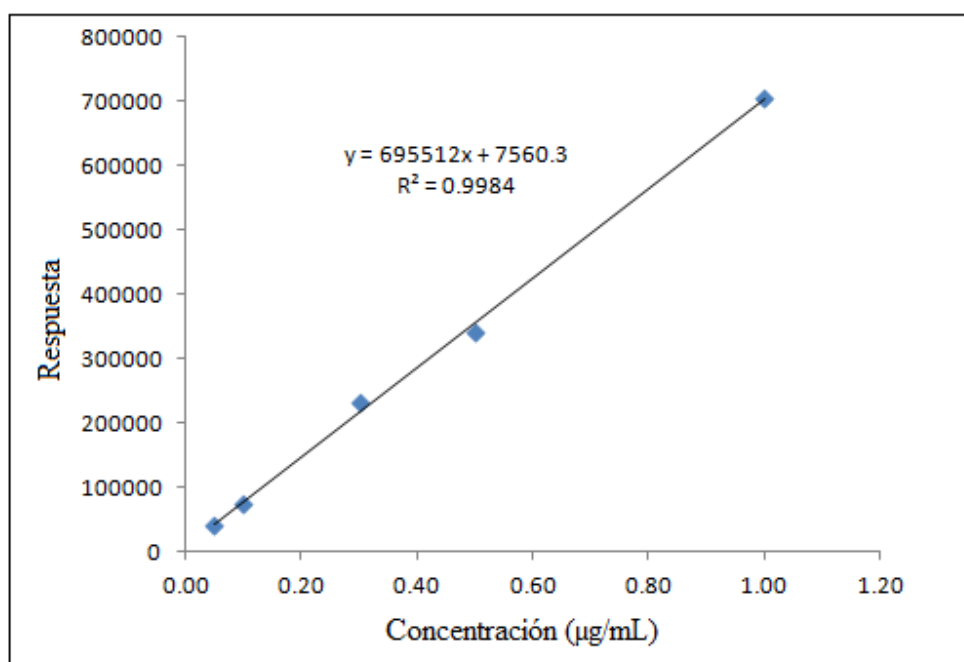
#### **3.1. SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA**

La utilización de una columna capilar de selectividad optimizada, con bajos niveles de sangrado certificados para espectrometría de masas, altos límites de temperatura (300/320°C) y de baja actividad, junto con el programa de temperaturas, permitieron obtener una separación cromatográfica con picos resueltos y simétricos, ver figura 2.2, excepto en el caso de la cipermetrina, cuya resolución se ve afectada debido a la complejidad de su estructura ya que posee 4 diastereoisómeros. Sin embargo, esto no representa un problema al analizar este analito por GC-MSD, ya que con la asistencia del software del equipo se pueden reconocer los iones característicos de la cipermetrina.

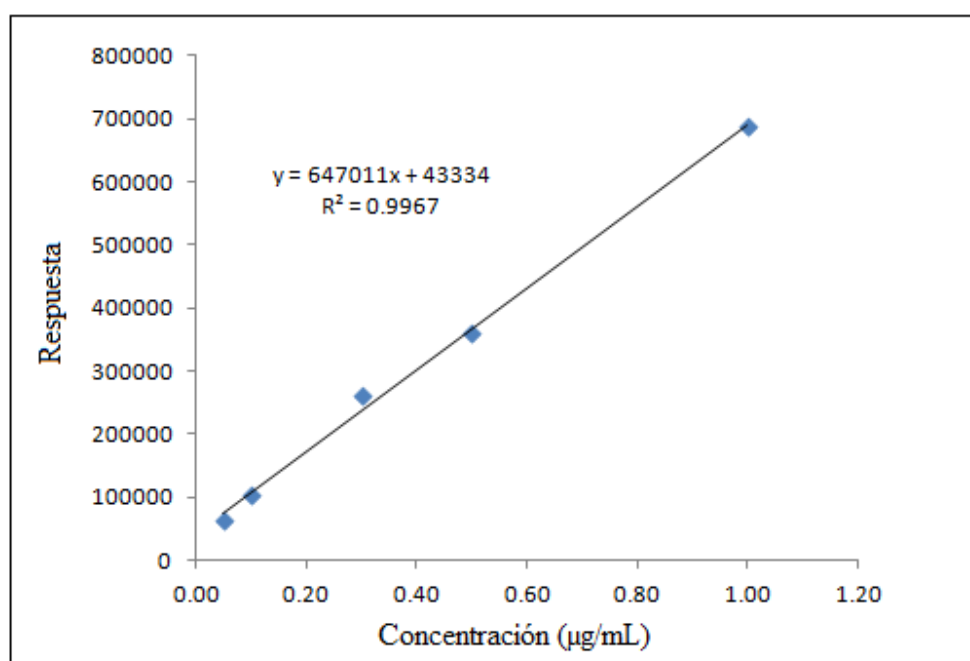
#### **3.2. PARÁMETROS EVALUADOS**

##### **3.2.1. LINEALIDAD**

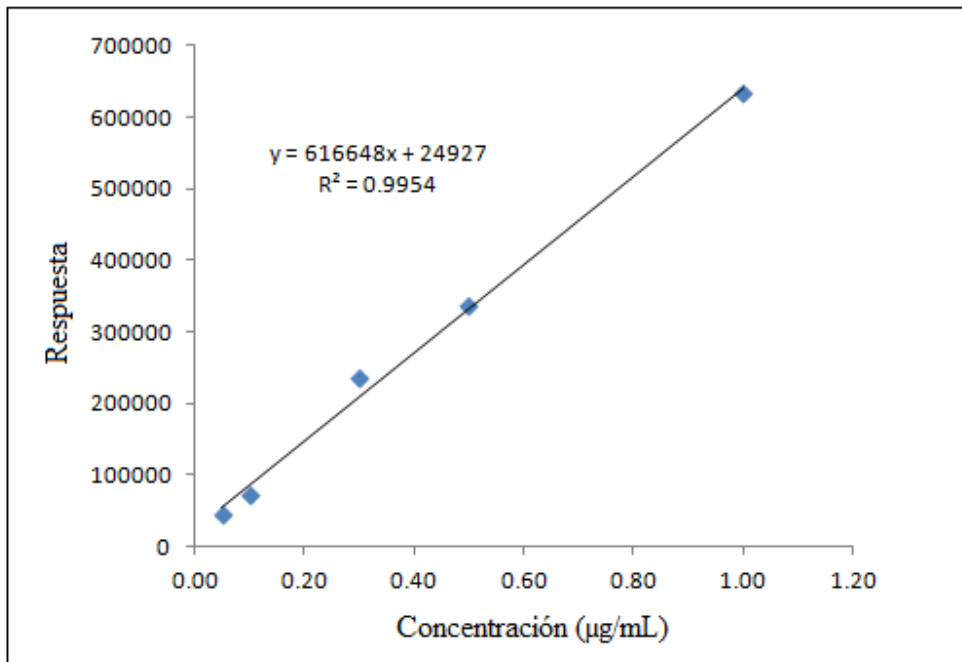
Las ecuaciones y los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) de las curvas de calibración de cada plaguicida se obtuvieron con el programa Microsoft Excel y se presentan a continuación:



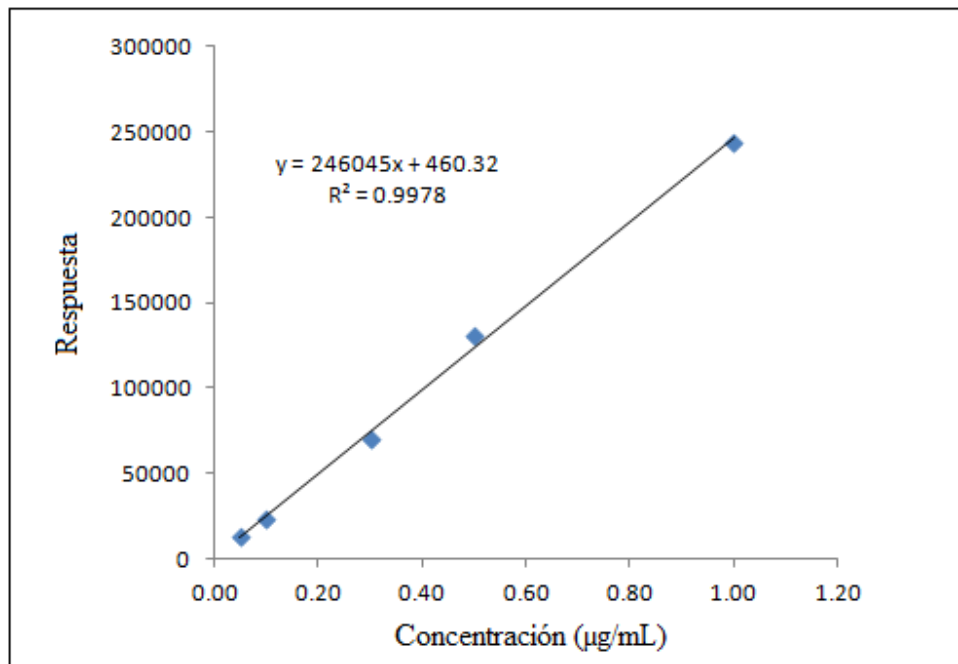
**Figura 3.1. Curva de calibración de dimetoato**



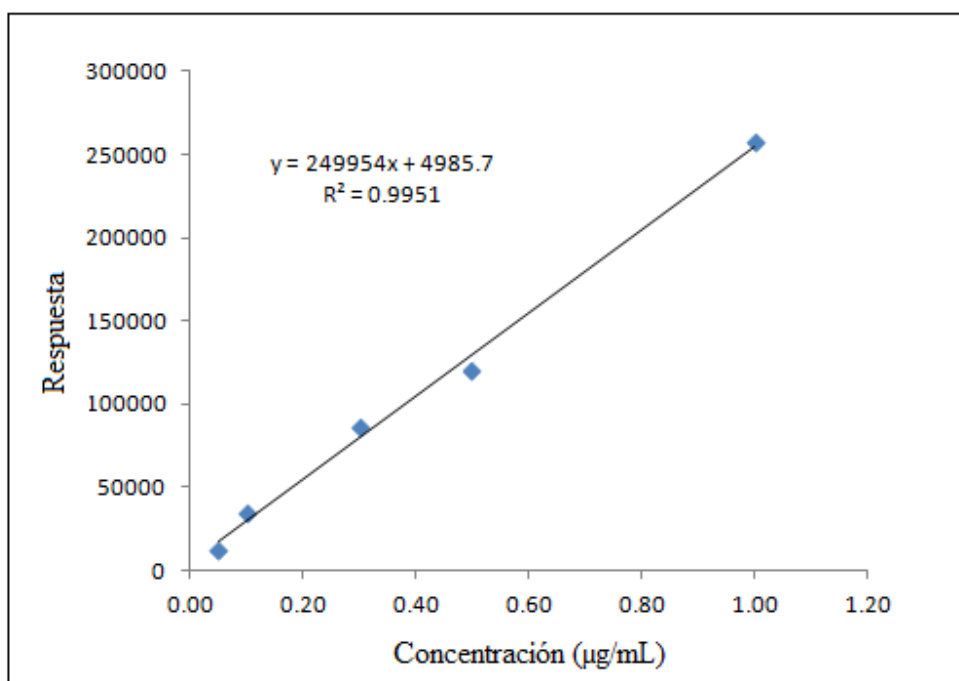
**Figura 3.2 Curva de calibración de malatión**



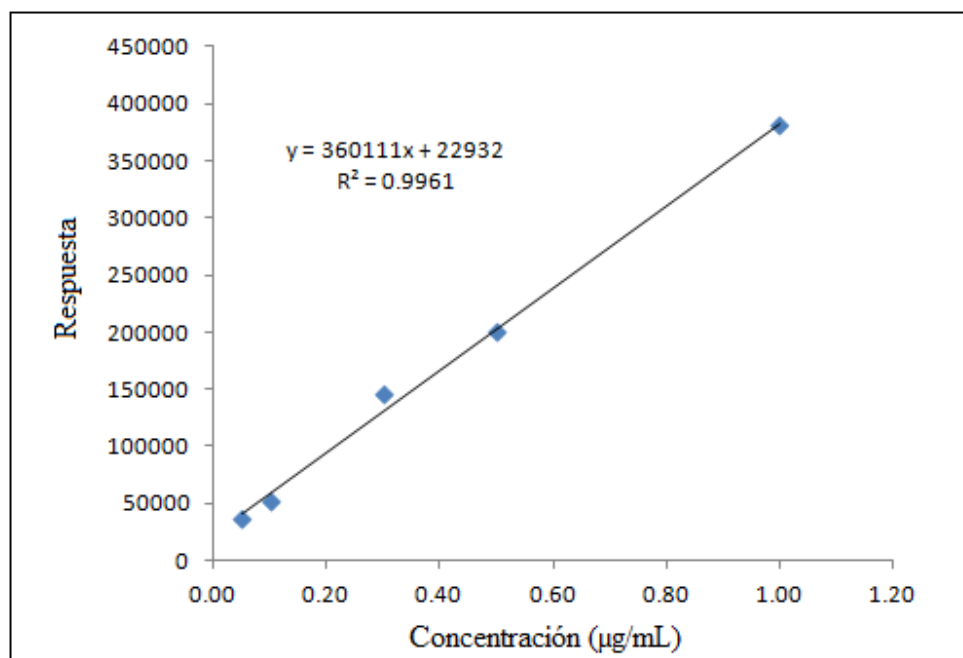
**Figura 3.3. Curva de calibración de clorpirifos**



**Figura 3.4. Curva de calibración de endosulfán**



**Figura 3.5. Curva de calibración de endosulfán sulfato**



**Figura 3.6. Curva de calibración de cipermetrina**

Como se puede observar en las curvas de calibración de cada plaguicida, todos los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) son mayores o iguales a 0.995, valor muy próximo a 1, con lo cual se demuestra que existe linealidad en el intervalo de trabajo de 0.05 a 1.00  $\mu\text{g/mL}$  establecido para los cinco analitos.

### 3.2.2. LÍMITE DE DETECCIÓN

Para la determinación del límite de detección se calculó la concentración de cada uno de los 10 blancos de matriz inyectados y se utilizó la siguiente fórmula establecida por la IUPAC:

$$LD = \bar{x}_{n=10} + 3.S \quad (3.1)$$

Donde  $\bar{x}$  corresponde al promedio de las 10 concentraciones calculadas y  $S$  es la desviación estándar de las mismas.

En la tabla 3.1 se presentan los límites de detección para los 5 plaguicidas.

**Tabla 3.1. Límites de detección (LD)**

Plaguicida	Límite de Detección (µg/mL)
Dimetoato	0.025
Malatión	0.026
Clorpirifos	0.019
Endosulfán	0.017
Endosulfán. S	0.016
Cipermetrina	0.017

### 3.2.3. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Para la determinación del límite de cuantificación se procedió de igual manera que al determinar el límite de detección, y se utilizó la siguiente fórmula establecida por la IUPAC:

$$LC = \bar{X}_{n=10} + 10.S \quad (3.2)$$

Donde  $X$  corresponde al promedio de las 10 concentraciones calculadas y  $S$  es la desviación estándar de las mismas.

En la Tabla 3.2 se presentan los límites de cuantificación para los 5 plaguicidas.

**Tabla 3.2. Límites de cuantificación (LC)**

Plaguicida	Límite de Cuantificación ( $\mu\text{g/mL}$ )
Dimetoato	0.046
Malatión	0.049
Clorpirifos	0.043
Endosulfán	0.048
Endosulfán.S	0.041
Cipermetrina	0.046

El método de extracción de QuEChERS junto con la técnica analítica Cromatografía de Gases con Detector Selectivo de Masas (GC-MSD), ha permitido obtener límites de cuantificación entre 0.01 y 0.1  $\mu\text{g/mL}$  para una amplia gama de plaguicidas [26]; rango en el que se encuentran los LC de los cinco plaguicidas que se analizaron en el presente trabajo.

Todos límites de cuantificación (LC) se encuentran bajo los límites máximos de residuos para tomate riñón determinados por las entidades citadas, sin embargo, los límites de cuantificación del dimetoato y malatión son mayores al LMR establecido por la Unión Europea para estos plaguicidas, por lo cual, si una muestra presentara residuos de malatión o dimetoato en concentraciones menores sería necesario concentrar el extracto.

### 3.2.4. PRECISIÓN Y EXACTITUD

Para la evaluación de estos parámetros se calcularon los porcentajes de recuperación de las 15 fortificaciones a tres niveles de concentración y sus respectivas desviaciones estándar relativas, obteniéndose los resultados que se presentan en la tabla 3.3

**Tabla 3.3. Porcentajes de Recuperación y Desviación Estándar Relativa**

Plaguicida	Nivles de Fortificación ( $\mu\text{g/mL}$ )					
	0.05		0.25		0.5	
	<i>%Rec.</i>	<i>%RSD</i>	<i>%Rec.</i>	<i>%RSD</i>	<i>%Rec.</i>	<i>%RSD</i>
Dimetoato	114.16	9.04	98.32	9.54	97.61	7.35
Malatión	101.47	9.73	93.40	7.87	95.06	4.66
Clorpirifos	106.42	9.06	102.46	7.44	98.76	3.82
Endosulfán	116.76	12.59	94.39	5.39	105.06	2.92
Endosulfán.S	98.64	6.13	87.22	6.59	94.03	7.65
Cipermetrina	99.13	11.25	93.13	6.64	93.84	11.72
<i>%Rec.</i> : porcentaje de recuperación <i>%RSD</i> : desviación estándar relativa						

Los porcentajes de recuperación fueron calculados mediante la siguiente ecuación:

$$\%Rec = \frac{Concentración_{obtenida}}{Concentración_{estimada}} \times 100 \quad (3.1)$$

*Concentración<sub>obtenida</sub>*: concentración de las muestras obtenidas después del análisis

*Concentración<sub>estimada</sub>*: concentración de las muestras fortificadas

Según la guía SANCO/825/00, los criterios de aceptación para los porcentajes de recuperación y su respectivo %RSD son los siguientes:

**Tabla 3.4. Criterios de aceptación para Porcentajes de Recuperación y Desviación Estándar Relativa en matrices de origen vegetal y animal**

Nivel de concentración	Intervalo de recuperación aceptable (%)	Precisión %RSD
$> 1 \mu\text{g/kg} \leq 0.01 \text{ mg/kg}$	60 – 120	30
$> 0.01 \text{ mg/kg} \leq 0.1 \text{ mg/kg}$	70 – 120	20
$> 0.1 \text{ mg/kg} \leq 1.0 \text{ mg/kg}$	70 – 110	15
$> 1 \text{ mg/kg}$	70 – 110	10

Como se puede apreciar en la tabla 3.4, los porcentajes de recuperación de los cinco plaguicidas se encuentran en el intervalo de recuperación aceptable y sus %RSD son menores a los %RSD máximos señalados. Por lo cual, el método cumple con los requerimientos de la guía SANCO/825/00 de la Comunidad Europea en cuanto a exactitud y precisión.

En una publicación del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), se presenta la validación de un método para la determinación de 229 plaguicidas en frutas y vegetales por GC-MSD en el que se utiliza la técnica QuEChERS como método de extracción y *clean-up* [40], donde se reportan porcentajes de recuperación entre 90 y 110% con desviaciones estándar relativas < 10% para la mayoría de plaguicidas, entre los que se encuentran los plaguicidas en estudio. Los valores de estos resultados son similares a aquellos expuestos en la tabla 3.4, donde el rango de recuperaciones es de 87 a 117% y la desviación estándar relativa máxima es de 12.59%.

En la tabla 3.5 se presentan las ecuaciones de las curvas de calibración utilizadas para la cuantificación de los blancos de matriz fortificados:

**Tabla 3.5. Ecuación de las curvas de calibración utilizadas para cuantificar los blancos de matriz fortificados**

Plaguicida	Ecuación de la curva de calibración	R <sup>2</sup>
Dimetoato	$y = 763010x - 8201.7$	0.997
Malatión	$y = 719506x + 30304$	0.999
Clorpirifos	$y = 603433x + 12179$	0.999
Endosulfán	$y = 272326x + 4803.5$	0.998
Endosulfán. S	$y = 243947x + 304.85$	0.997
Cipermetrina	$y = 389087x + 9299.7$	0.997

De acuerdo con los datos de la tabla 3.5, los coeficientes de correlación de las curvas de calibración utilizadas para la cuantificación de los blancos de matriz fortificados son iguales o mayores a 0.997.

### **3.3. RESULTADOS DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS**

Las muestras fueron preparadas y analizadas de acuerdo con el método establecido y evaluado obteniéndose los siguientes resultados:

**Tabla 3.6. Resultados de las muestras analizadas**

Lote	Concentración de los plaguicidas analizados (mg/kg)				
	Dimetoato	Malatión	Clorpirifos	Endosulfán	Cipermetrina
C1	ND <sup>1</sup>	ND	0.08	ND	0.05
C2	ND	ND	ND	ND	0.05
C3	ND	ND	ND	ND	0.08
C4	ND	ND	< LC <sup>2</sup>	ND	0.30
C5	ND	ND	< LC	ND	0.28
C6	ND	ND	ND	ND	ND
I1	ND	ND	ND	ND	ND
I2	ND	ND	ND	ND	ND
I3	ND	ND	ND	ND	ND
I4	ND	ND	ND	ND	ND
I5	ND	ND	ND	ND	ND
I6	ND	ND	ND	ND	ND
I7	ND	ND	ND	ND	ND
I8	ND	ND	ND	ND	ND
I9	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1</sup> ND: No detectado  
<sup>2</sup> LC: Límite de cuantificación

Para cada muestra analizada, el software del equipo elabora un reporte de cuantificación, cuyas concentraciones reportadas corresponden a los extractos obtenidos luego del tratamiento de las muestras; sin embargo, en este caso, dichos reportes proporcionan directamente la concentración de analito en la muestra ya que la técnica preparativa no incluye ningún procedimiento de dilución ni concentración; y el extracto que se obtiene en el método de extracción tiene una concentración de 1g de muestra por 1mL de solvente.

### **3.3.1. CONFORMIDAD CON LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMITIDOS**

Se determinó la conformidad de los lotes muestreados con los límites máximos permitidos (LMRs) establecidos para tomate riñón por el Codex Alimentarius, la Unión Europea, la EPA (*Environmental Protection Agency*) y por la legislación de Japón (*The Japan Food Chemical Research Foundation*).

Nueve de los lotes examinados (C6, I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7, I8, I9) no presentaron residuos de los plaguicidas analizados, por lo cual, cumplen con todas las reglamentaciones mencionadas en cuanto a Dimetoato, Malatión, Clorpirifos, Endosulfán y Cipermetrina.

En la tabla 3.7 se presentan las concentraciones de las muestras en las que se detectaron residuos y sus LMRs respectivos.

**Tabla 3.7. Conformidad con los límites máximos permitidos**

Muestras	Analitos detectados	Concentración (mg/kg)	LMRs (mg/kg)			
			Codex A.	EPA	EU	Japón
C1	Cipermetrina	0.05	0.20	-	0.5	2.0
	Clorpirifos	0.08	-	-	0.5	0.5
C2	Cipermetrina	0.05	0.20	-	0.5	2.0
C3	Cipermetrina	0.08	0.20	-	0.5	2.0
C4	Cipermetrina	0.3	0.20	-	0.5	2.0
	Clorpirifos	< LC	-	-	0.5	0.5
C5	Cipermetrina	0.26	0.20	-	0.5	2.0
	Clorpirifos	< LC	-	-	0.5	0.5

Según los datos expuestos en la tabla 3.7, de los lotes que presentaron residuos de cipermetrina, las muestras C4 y C5 sobrepasan los límites máximos permitidos del Codex Alimentarius, pero sí presentan conformidad con las legislaciones de la EU y de Japón.

La concentración de clorpirifos en las muestras C4 y C5 es menor al límite de cuantificación (0.043mg/kg), y en la muestra C1 es 0.08 mg/kg, por lo tanto, los tres lotes cumplen con los LMRs de la EU y del Japón.

Para las muestras que presentan residuos de cipermetrina no se pudo determinar su conformidad con los LMR establecidos por la EPA, ya que esta entidad no presenta límites máximos permitidos para este plaguicida en tomate riñón.

Debido a que la producción de los lotes examinados es para consumo nacional, los LMR legalmente exigibles corresponden a los establecidos por el Codex Alimentarius, por lo cual, los lotes de tomate riñón C4 y C5 no cumplen con la reglamentación nacional en cuanto a residuos de cipermetrina y deberían ser retirados del mercado.

Todas las muestras que presentaron residuos de plaguicidas provienen de lotes de sembríos a campo abierto, lo cual sugiere que el uso de estos agroquímicos es más frecuente en este tipo de cultivos. El hecho de no haber detectado residuos de plaguicidas en los lotes provenientes de cultivos bajo invernadero, es un indicativo de que los productores respetan el tiempo de carencia de los agroquímicos que utilizan.

Otra de las causas por las cuales no se detectaron residuos de plaguicidas en las muestras pertenecientes a cultivos bajo invernadero, se debe posiblemente a la mayor temperatura a la que se encuentran estos cultivos, lo que ocasiona que el proceso de degradación de los plaguicidas se acelere. Un incremento en la temperatura de 10°C aparentemente produce la disminución de la vida media de un plaguicida en un factor de 2 a 3. [41].

## IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES

- Se adaptó un método multiresiduo para la determinación de 5 plaguicidas: Dimetoato, Malatión, Clorpirifos, Endosulfán y Cipermetrina en tomate riñón. Para la extracción y *clean-up* de los analitos de la matriz se utilizó la técnica de QuEChERS y como técnica analítica Cromatografía de Gases con Detector Selectivo de Masas (GC-MSD).
- El método de extracción QuEChERS presenta varias ventajas: uso reducido de material de laboratorio, el tiempo invertido en la preparación de la muestra es relativamente corto (10 minutos por muestra), la cantidad de solvente utilizado es mínimo (10 a 15 mL), el mismo solvente es empleado en el proceso de extracción y para la inyección del extracto en el cromatógrafo, además no requiere concentración de la muestra y es posible extraer analitos de diferentes polaridades.
- La evaluación del método resultó satisfactoria al cumplir con los criterios de aceptación en cuanto a linealidad, precisión y exactitud establecidos en la guía para la validación de métodos analíticos para la determinación de residuos de plaguicidas de la Comunidad Europea.

- El método permite cuantificar niveles de concentración de 0.05 a 1.00mg/kg de cada uno de los plaguicidas, por lo cual, se pudo determinar la conformidad de las muestras analizadas con los límites máximos de residuos establecidos por el Codex Alimentarius y conocer si cumplen con la reglamentación nacional.
- Los lotes C4 y C5 presentaron niveles de cipermetrina sobre el LMR establecido por el Codex Alimentarius, es decir, no se consideran aptos para el consumo, y en caso de ser exportados a países en donde esta legislación está vigente, estos lotes serían rechazados ocasionando pérdidas económicas para el productor.

## 4.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar el alcance de este método, para comprobar su eficiencia en otras matrices, así como también se podría aumentar el número de plaguicidas a analizarse, debido a la gran cantidad de analitos que pueden ser determinados usando la técnica de extracción QuEChERS y como técnica instrumental GC-MSD.
- Por las ventajas que presenta el método, también se sugiere realizar un estudio para determinar el nivel de contaminación por plaguicidas en los vegetales y frutas con mayores niveles de consumo y que forman parte de la canasta básica.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Escudero, P. (2004). Evaluación de la competitividad del sistema agroalimentario del tomate riñón, [http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/Ing%20Rizzo/perfiles\\_productos/tomate.pdf](http://www.sica.gov.ec/agronegocios/biblioteca/Ing%20Rizzo/perfiles_productos/tomate.pdf), 15 de agosto de 2011.
- [2] Giovannucci, E. (2001). Tomatos, Tomatos-Based Products, Lycopene, and Cancer: Review of the Epidemiologic Literature, Journal of the National Cancer Institute, <http://jnci.oxfordjournals.org/content/91/4/317.full.pdf+html>, 18 de agosto de 2011.
- [3] Estudio FAO Desarrollo Económico y Social, (2001). El mercado mundial de productos hortofrutícolas tropicales, Perspectivas y requerimientos para su desarrollo, <http://faostat.fao.org/site/>, 18 de agosto de 2011.
- [4] Tomate riñón: superficie, producción y rendimiento a nivel nacional, serie histórica 2000, [http://www.magap.gob.ec/sinagap/spr/spr\\_tomater.htm](http://www.magap.gob.ec/sinagap/spr/spr_tomater.htm), 19 de agosto de 2011.
- [5] El Comercio, (2011). Ocho variedades de tomate riñón están en los mercados locales, <http://www.elcomercio.com/>, 20 de agosto de 2011.
- [6] Almeida, E. (2008). Primera Jornada Agrícola de Actualización de Tecnologías en el Cultivo de Tomate Riñón, *Revista Tierra Adentro*, 23, pp 12.

- [7] Lomas, L., Sandoval, A. (2009). Incidencia, severidad, rango de hospederos y especie del nemátodo del rosario de la raíz (*Nacobbus sp*) en el cultivo de tomate de mesa (*Lycopersicum esculentum*) en Pimampiro, *Revista "El Investigador"*, 18, pp 43.
- [8] Environmental Protection Agency, (2010). The Agricultural Worker Protection Standard- Definition of Pesticide Handler, <http://www.epa.gov/oecaagct/factsheets/epa-305-f-98-029.pdf>, 20 de agosto de 2011.
- [9] Corey, G., Henao, S. (1986). *Plaguicidas Organofosforados y Carbámicos*, 1.<sup>a</sup> edición, Editorial Hispano Americana, México D.F., México.
- [10] Instituto Nacional de Salud Pública, Dirección de Ciencias Ambientales, (2001). *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición*, Cuernavaca, México.
- [11] Bloomquist, J. (2009). *Insecticides: Chemistries and Characteristics*, University of Minnesota, [ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm](http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloomq.htm), 22 de agosto de 2011.
- [12] Olvera, M. (2010). Primer taller sobre Endosulfán en México: Consideraciones y sugerencias por parte de la Industria en México, [http://www.ine.gob.mx /descargas/sqre/2010\\_taller\\_endosulfan\\_pres\\_olvera.pdf](http://www.ine.gob.mx /descargas/sqre/2010_taller_endosulfan_pres_olvera.pdf), 26 de agosto de 2011.
- [13] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, (2001). Toxicological profile for Endosulfán, <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp>, 28 de agosto de 2011.

- [14] Sullivan, J.B., J. Blose, (1992). *Organophosphate and carbamate insecticides. Hazardous Materials Toxicology*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1992, pp. 1015.
- [15] Departamento de Ingeniería en Alimentos, Universidad del Bío-Bío, Chillán, Chile, (2002). Variabilidad asociada a la determinación de residuos de clorpirifos al ser aplicado en un huerto de manzanos, <http://mingaonline.uach.cl/pdf/rcsuelo/v9n3/art02.pdf>, 3 de septiembre de 2011.
- [16] Environmental Protection Agency, (2010). Chlorpyrifos: Analysis of Risks, <http://www.epa.gov/espp/litstatus/effects/chlorpyrifos-analysis.pdf>, 3 de septiembre de 2011.
- [17] Chemical Watch Factsheets, Malathion, <http://www.beyondpesticides.org/pesticides/>, 3 de septiembre de 2011.
- [18] Fernández, M. (2003). *Estudio del comportamiento fotoquímico y determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción*, Real Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela-Galicia, España.
- [19] Isern, M.D. (2004). La química de los pesticidas y su metodología analítica, <http://www.ucel.edu.ar/upload/libros/>, 10 de septiembre de 2011.

- [20] Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ), Cipermetrina: Guía para la salud y la seguridad, <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/036116.pdf>, 11 de septiembre de 2011.
- [21] Comisión del Codex Alimentarius, Límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas, (2010). <http://www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.htm>, 20 de septiembre de 2011.
- [22] Braithwaite, A., Smith, F. (1996). *Chromatographic Methods*, 5<sup>a</sup> edición, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Neatherlands.
- [23] Clement, R., Karasek, F. (1991). *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Principles and Techniques*, 2.<sup>a</sup> edición, Elsevier Science Publisher, Holanda.
- [24] Trujillo, O. (2006). *Análisis de Pesticidas por Cromatografía de Gas, Un Modelo Operacional*, Centro de Publicaciones Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Manizales.
- [25] The Federal Laboratory Consortium for Technology Transfer (FLC), (2005). [www.federallabs.org/sandlg/state](http://www.federallabs.org/sandlg/state), 27 de noviembre de 2011.
- [26] Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Štajnbaher, D., Schenck, F.J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-

Phase Extraction” for the determination of Pesticide Residues in Produce, *Journal of AOAC International*, 86, pp 412.

[27] Lehotay, S.J., Maštovská, K., Lightfield, A.R. (2005). Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables, *Journal of AOAC International*, 88, pp 615.

[28] Anastassiades, M., Scherbaum, E., Taşdelen, B., Štajnbaher, D. Ohkawa, H., Miyagawa, Lee, P.W. (2007). Crop Protection, Public Health, Environmental Safety, Wiley-VCH, Weinheim, Alemannia, p. 439.

[29] Lehotay, S.J. Son, K.A., Kwon, H., Koesukwiwat, U., Fu, W., Maštovská, K., Hoh, E., Leepipatpiboon, N. (2010). Comparison of QuEChERS Sample Preparation Methods for the Analysis of Pesticide Residues in Fruit and Vegetables, *Journal of Chromatography A*, 1217, pp 2548.

[30] Maštovská, K., Lehotay, S.J. (2004). Evaluation of Common Organic Solvents for Gas Chromatographic Analysis and Stability of Multiclass Pesticide Residues, *Journal of Chromatography A*, 1040, pp 259.

[31] Lehotay, S.J., Lightfield, A.R., Harman-Fetcho, J.A., Donoghue, D. J. (2001). Analysis of Pesticide Residues in Eggs by Direct Sample Introduction/Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp 4589.

[32] Shimelis, O., Yang, Y., Stenerson, K., Kaneko, T., Ye, M. (2007). Evaluation of a Solid-Phase Extraction Dual-layer Carbon/primary secondary Amine for Clean-up of Fatty Acid Matrix Components from Food Extracts in Multiresidue Pesticide Analysis, *Journal of Chromatography A*, 1165, pp 18.

[33] Li, L., Li, W., Qin, D., Jiang, S., Liu, F. (2009). Application of Graphitized Carbon Black to the QuEChERS Method for Pesticide Multiresidue Analysis in Spinach, *Journal of AOAC International*, 92, pp 538.

[34] Commission Directive 2002/63/EC, (2002). Community Methods of Sampling for the Official Control of Pesticide Residues in and on Products of Plant and Animal Origin and Repealing Directive 79/700/EEC, Official Journal of the European Communities L187, 16/07/2002, pp 30.

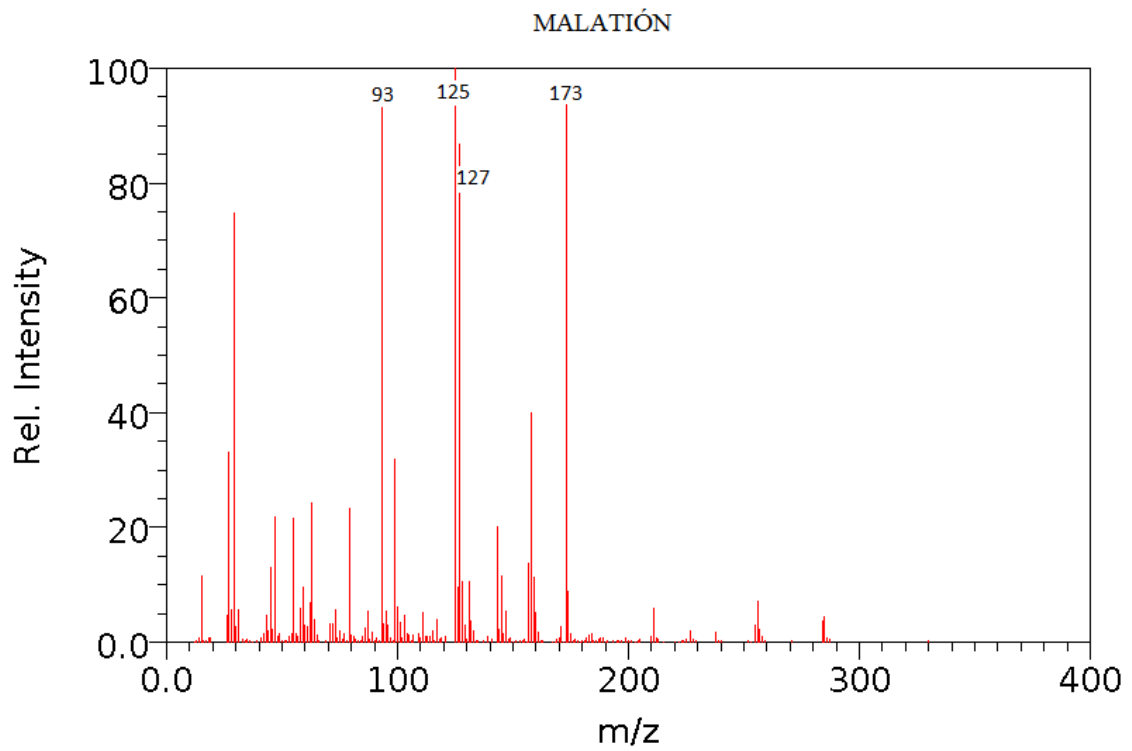
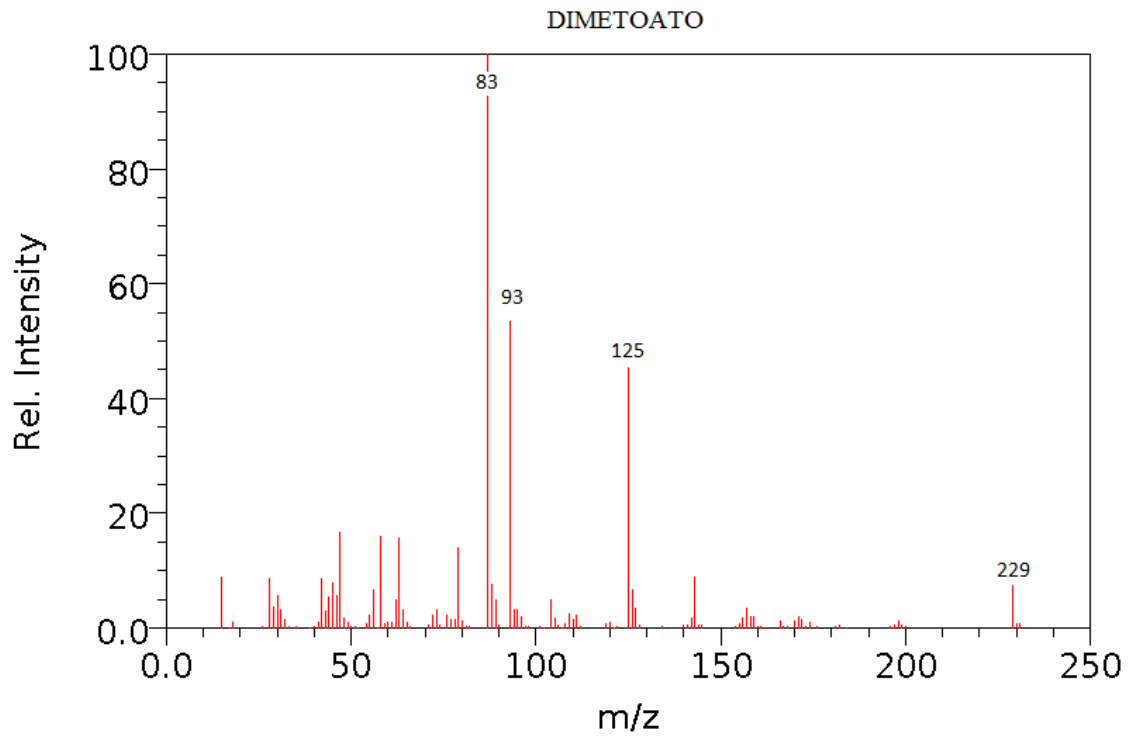
[35] Hajlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Poustka, J., Godula, M., Cuhra, P., Kempny, M. (1998). Matrix-induced Effects: a Critical Point in the Gas Chromatographic Analysis of Pesticide Residues, *Journal of Chromatography A*, 800, pp 283.

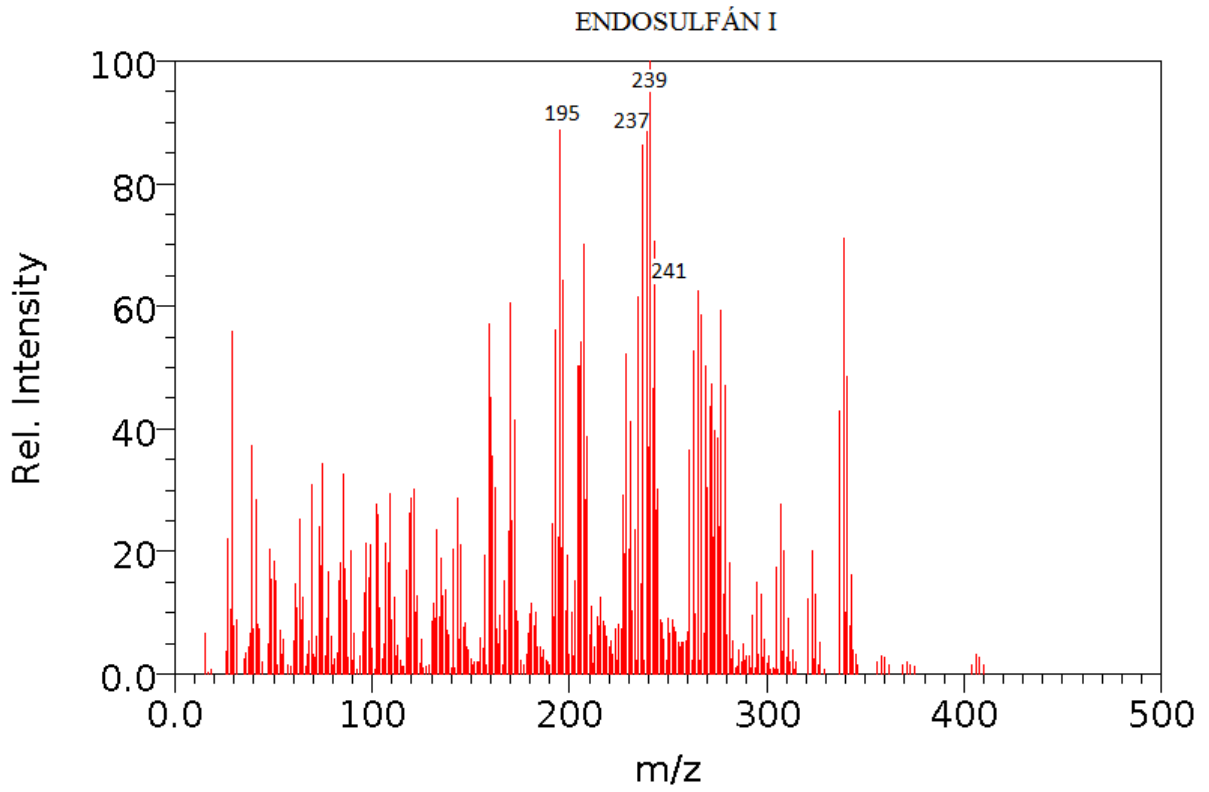
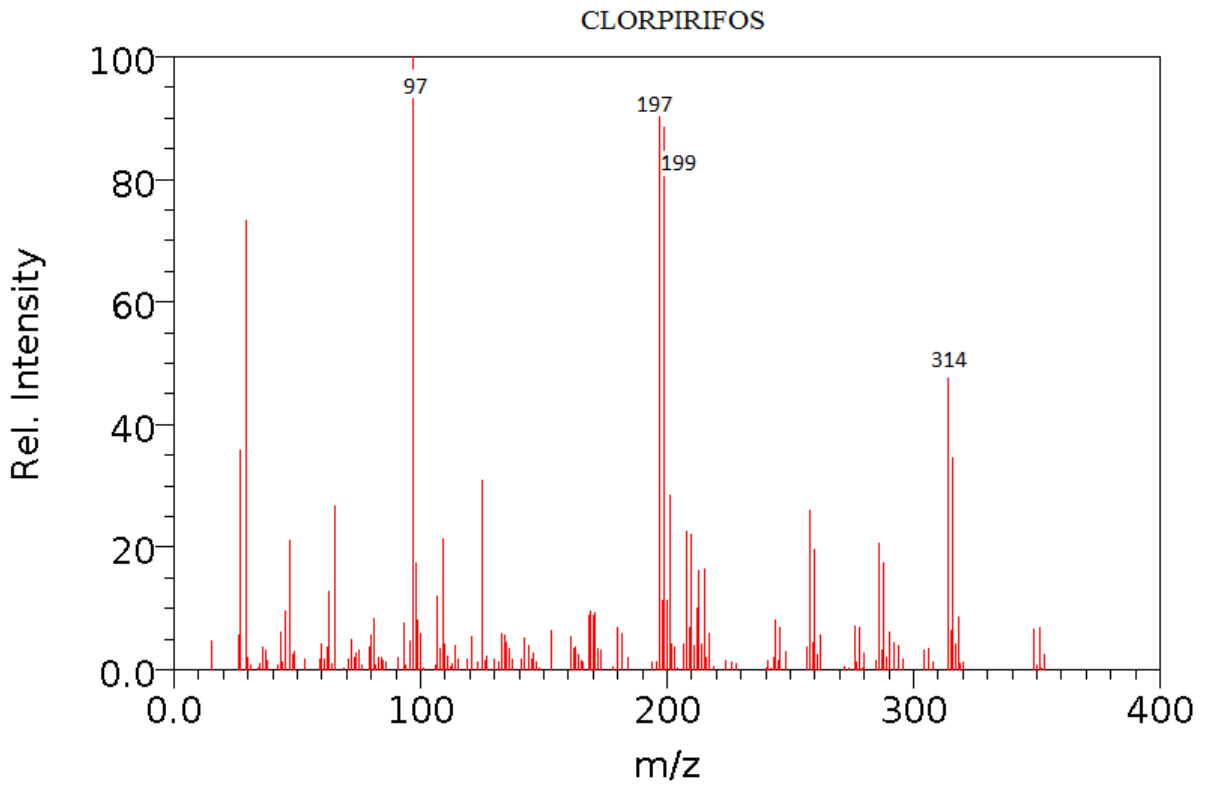
[36] Erney, D.R., Gillespie, A.M., Gilvydis, D.M., Poole, C.F. (1993). Explanation of the Matrix-induced Chromatographic Response Enhancement of Organophosphorus Pesticides During Open Tubular Column Gas Chromatography with Splitless or Hot on-column Injection and Flame Photometric Detection, *Journal of Chromatography A*, 638, pp 57.

- [37] Kocourek, V., Hajlová, J., Holadová, K., Poustka, J. (1998). Stability of Pesticides in Plant Extracts Used as Calibrants in the Gas Chromatographic Analysis of Residues, *Journal of Chromatography A*, 800, pp 297.
- [38] European Commission, Directorate Health and Consumer Protection, (2004). Guidance document on pesticide residue analytical methods, SANCO/825/00 rev. 7, 17.03.
- [39] AOAC, (2002). Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals.
- [40] Lehotay, S.J., Kon, A., Hiemstra, M., van Bodegraven, P. (2005). Validation of a Fast and Easy Method for Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection, *Journal of AOAC International*, 88, pp 595.
- [41] Ismail, B.S., Kailasam, K. (2002). Measurement and Prediction of Permethrin Persistence in Six Malaysian Agricultural Soils, *Australian Journal of Soil Research*, 40, pp 817.

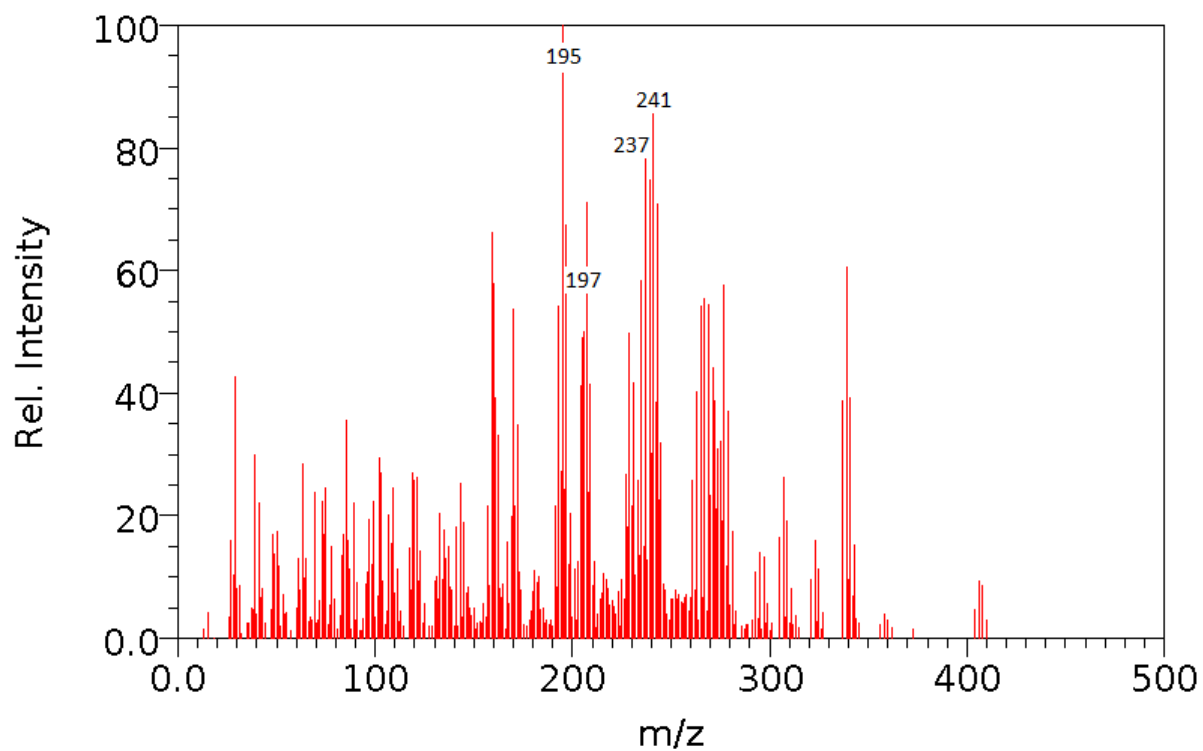
## **ANEXOS**

## ANEXO 1: ESPECTROS DE MASA DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS

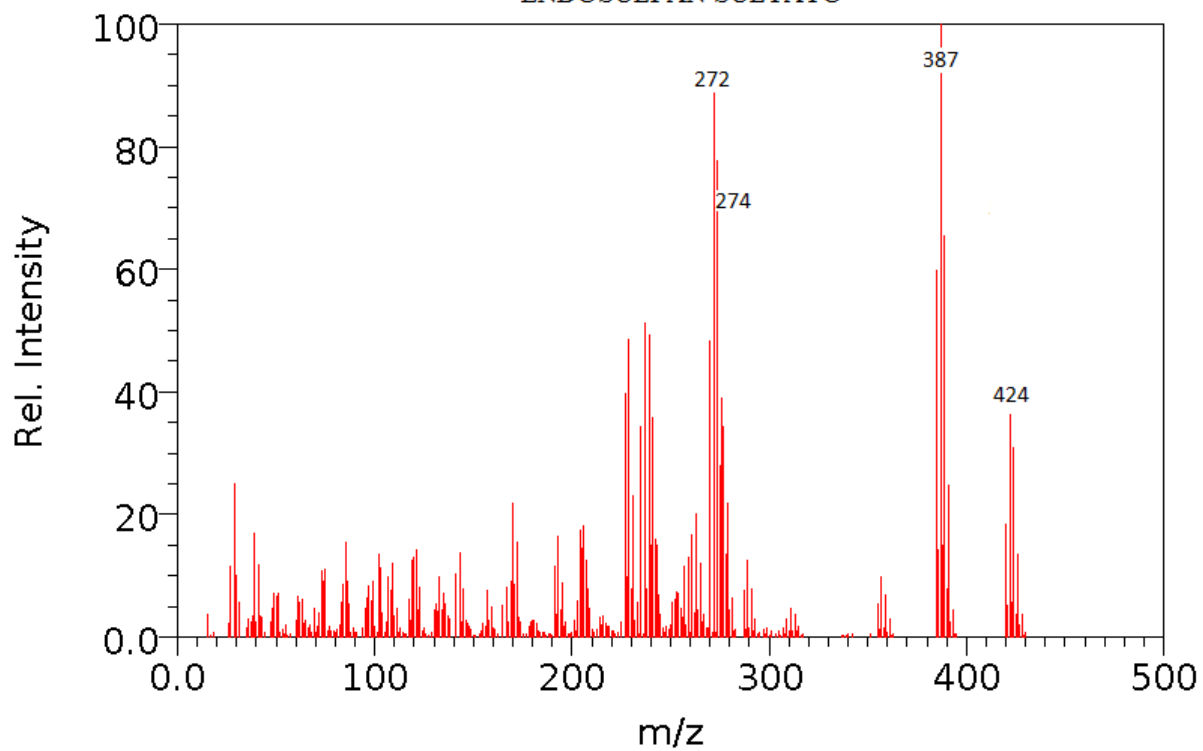


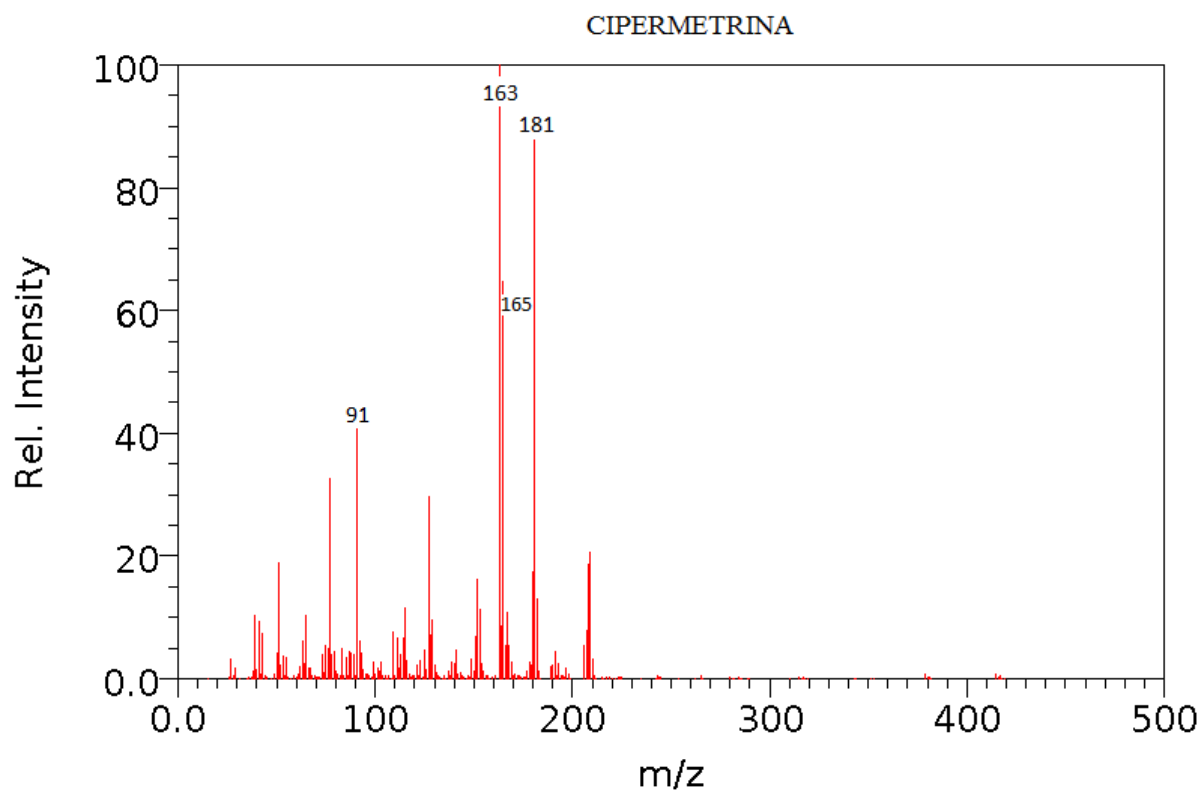


ENDOSULFÁN II



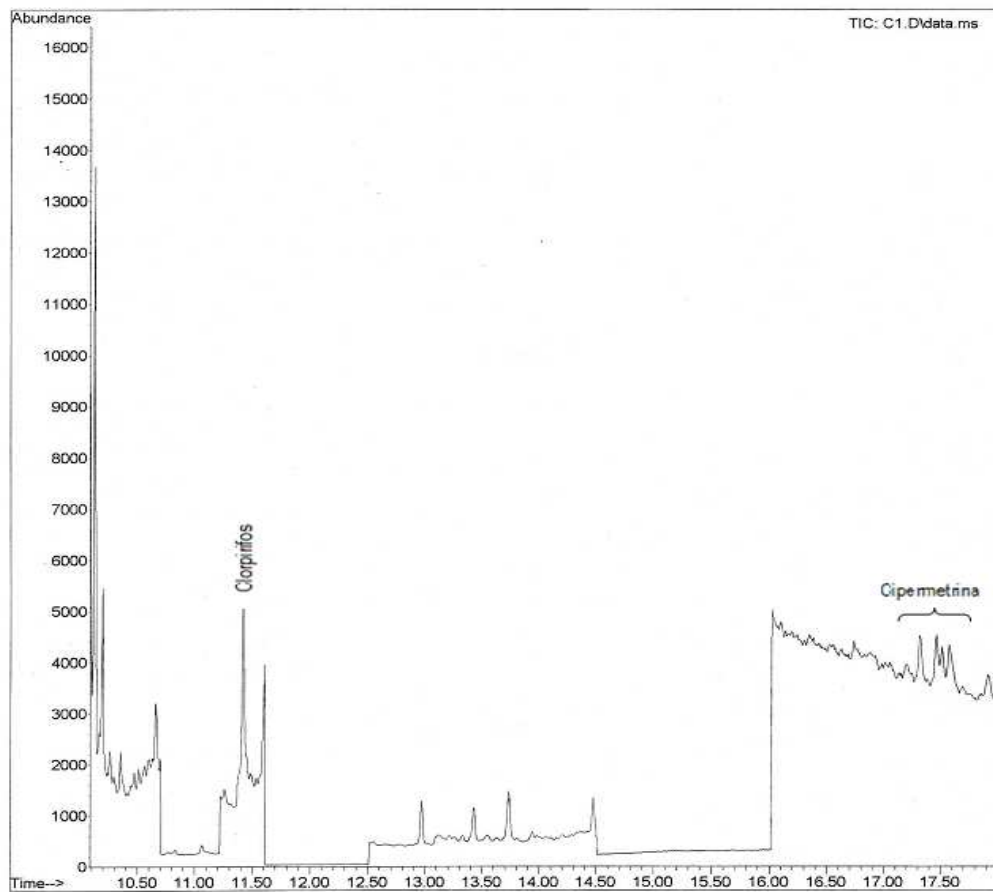
ENDOSULFÁN SULTATO





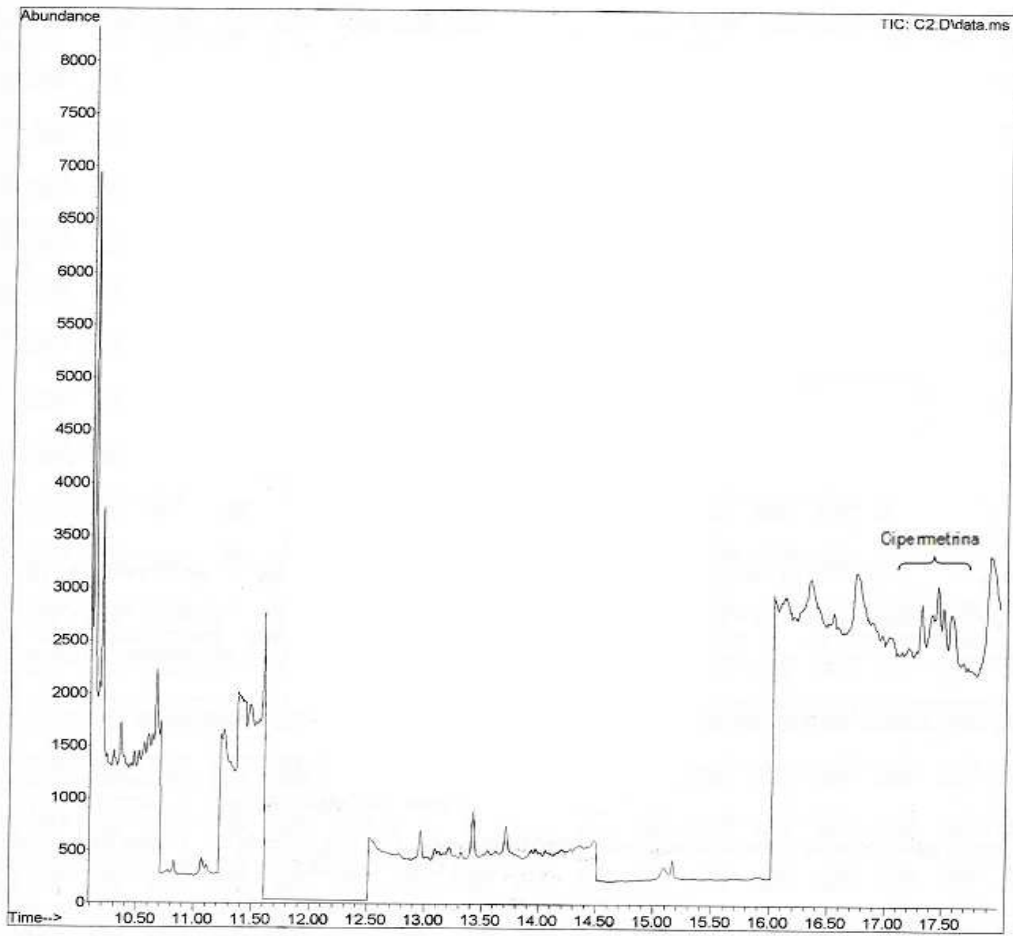
## ANEXO 2: CROMATOGRAMAS DE LAS MUESTRAS POSITIVAS

Muestra C1



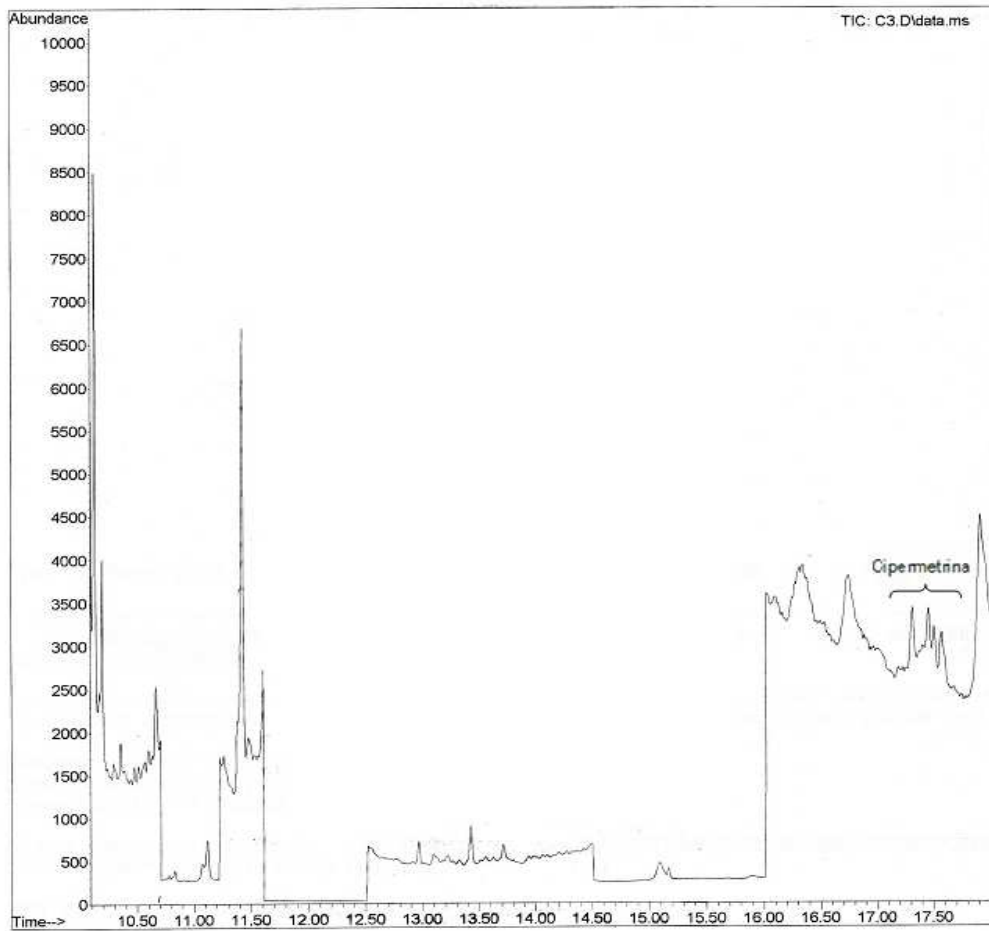
Cromatograma de un extracto de tomate obtenido del lote C1

Muestra C2



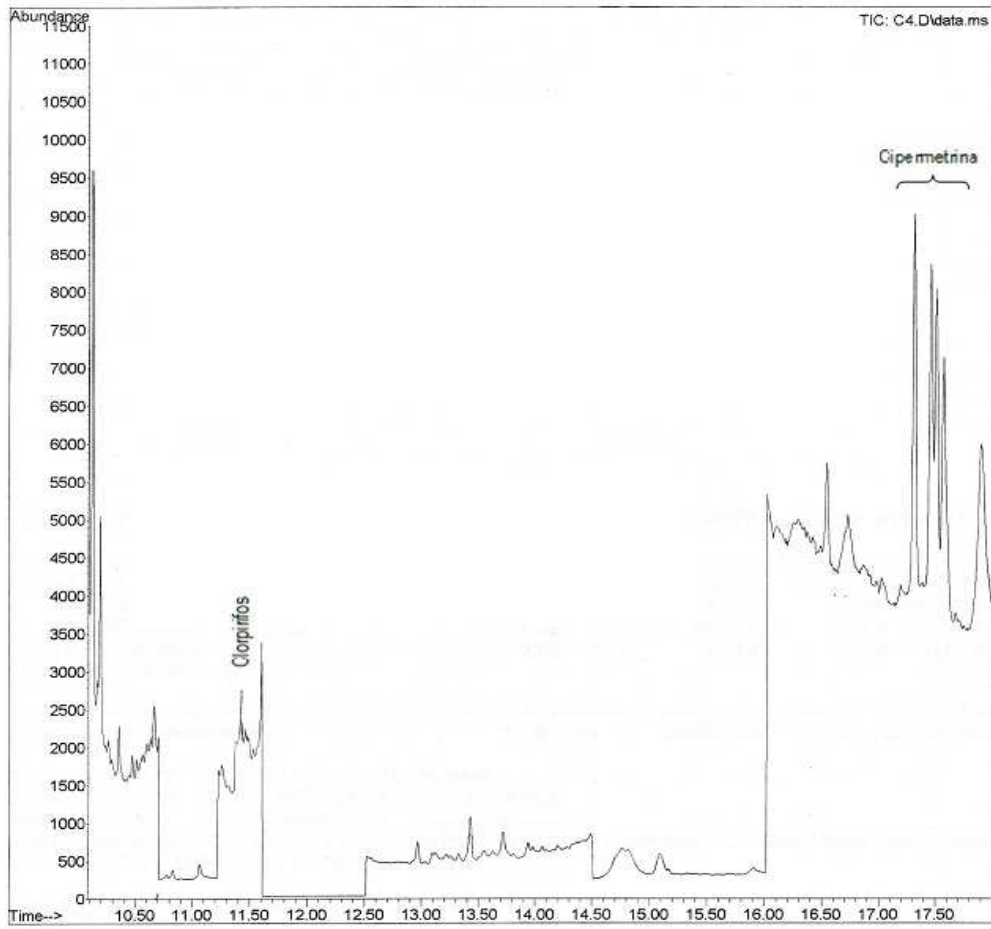
**Cromatograma de un extracto de tomate obtenido del lote C2**

Muestra C3



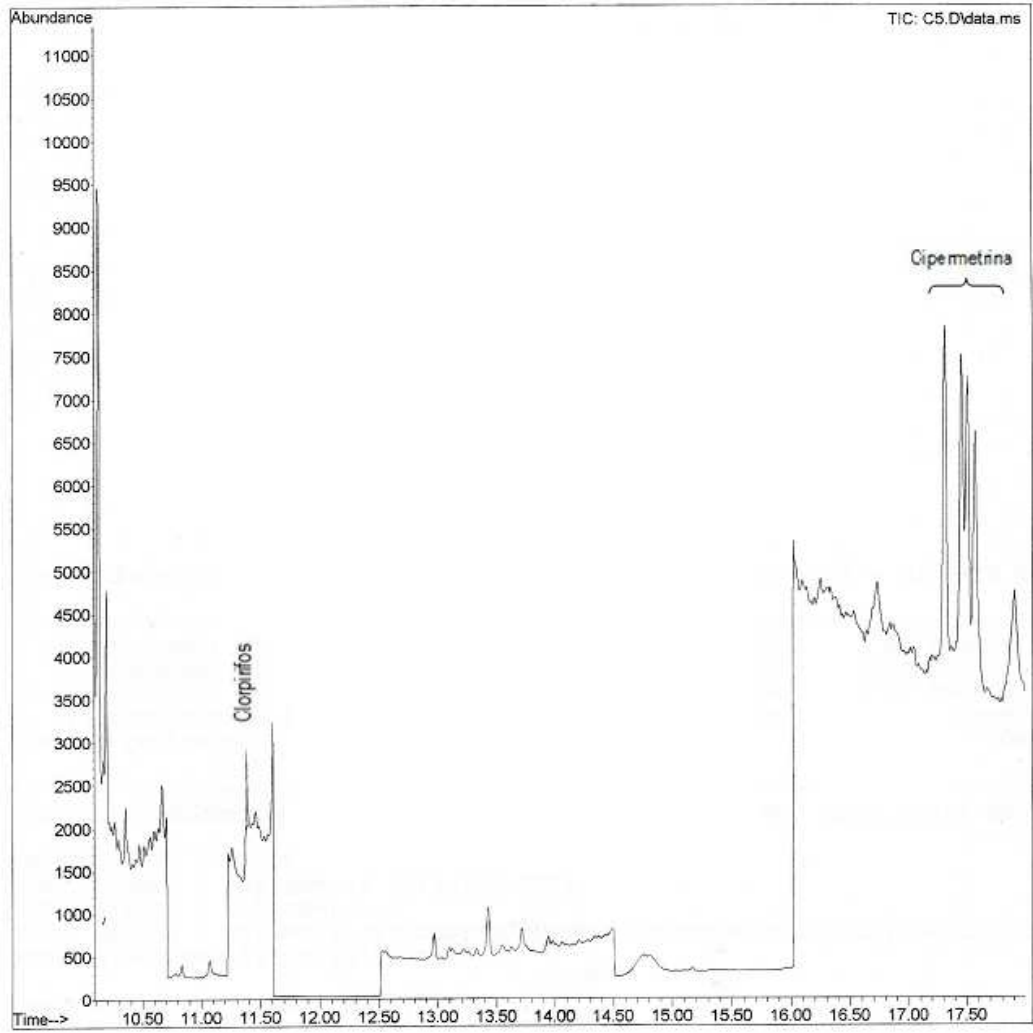
**Cromatograma de un extracto de tomate obtenido del lote C3**

Muestra C4



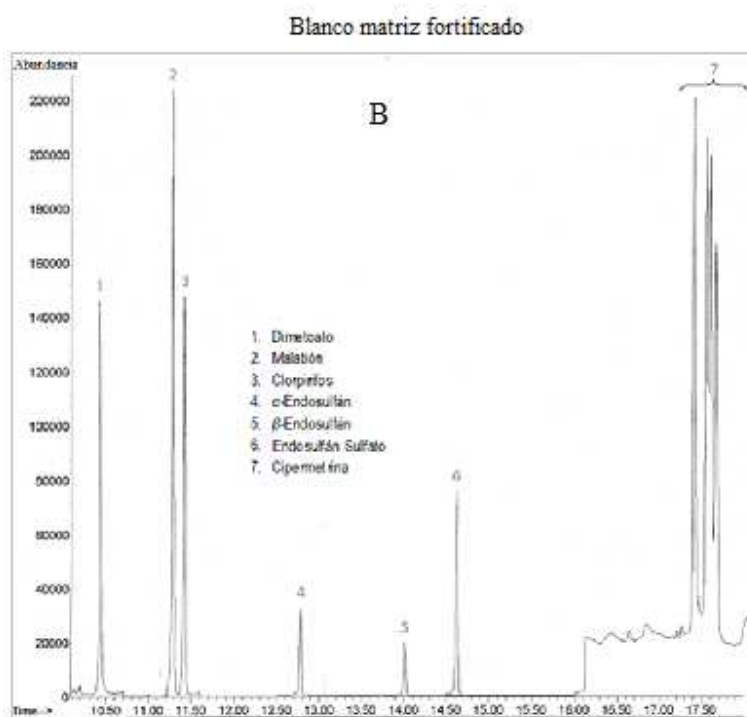
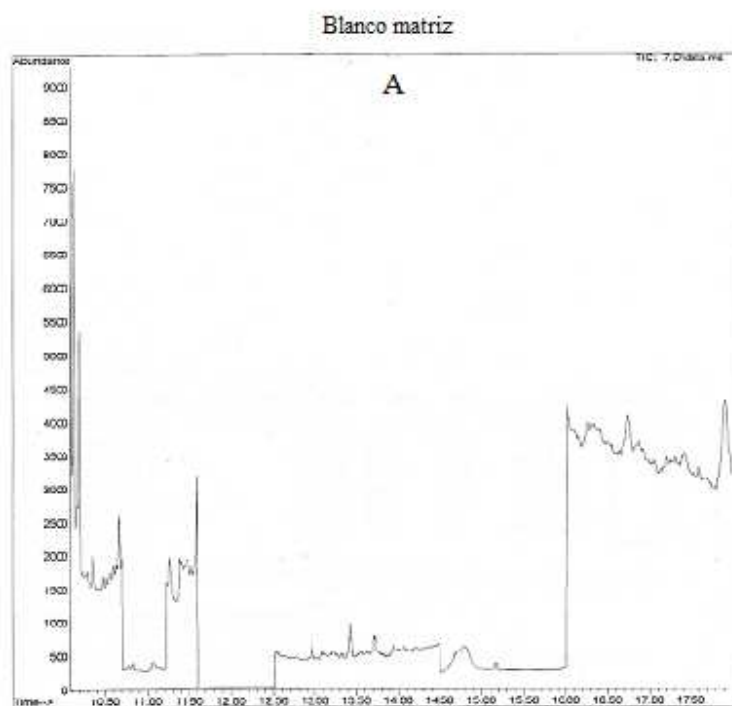
**Cromatograma de un extracto de tomate obtenido del lote C4**

Muestra C5



**Cromatograma de un extracto de tomate obtenido del lote C5**

### ANEXO 3: CROMATOGRAMAS DEL BLANCO DE MATRIZ



A: Cromatograma de un blanco de matriz libre de residuos

B: Cromatograma de un blanco de matriz fortificado (1.0  $\mu\text{g/mL}$ )

## ANEXO 4: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL SOLVENTE DE EXTRACCIÓN

### Certificate of Analysis



**Certificate of Analysis**

Fisher Scientific's Quality System has been found to conform to Quality Management System Standard ISO9001:2000 standard by DNV Certificate number CERT-08052-2006-AQ-HOU-ANAB

This is to certify that units of the above mentioned lot number were tested and found to comply with the specifications of the grade listed. Certain data have been supplied by third parties. Fisher Scientific expressly disclaims all warranties, expressed or implied, including the implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose. Certain products (USP/FCC/NF/EP/BP/JP grades) are sold for use in food, drug, or medical device manufacturing. Fisher does not claim regulatory coverage under 21 CFR nor maintain DMF's with the FDA. The following are the actual analytical results obtained:

<b>Catalog Number</b>	E191	<b>Mfg. Date</b>	2/5/2008
<b>Lot Number</b>	076767		
<b>Description</b> ETHYL ACETATE, PESTICIDE GRADE			
<b>Country of Origin</b>	United States		

Result name	Units	Specifications	Test Value
APPEARANCE		REPORT	CLEAR, COLORLESS LIQUID
IDENTIFICATION	PASS/FAIL	= PASS TEST	PASS TEST
SUIT PESTICIDE RES ANALYSIS		= PASS TEST	PASS TEST



*Edgar E. Hane*

**Lab Manager Fairlawn**

Note: The data listed is valid for all package sizes of this lot of this product, expressed as a extension of this catalog number listed above. If there are any questions with this certificate, please call Chemical Services at (800) 227-6701.

## ANEXO 5: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LOS ESTÁNDARES

**SIGMA-ALDRICH**

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-50518 Seelze  
Telefon: +49 5137 8238-150

Seelze, 24.03.2010/112323/09/15840

Order-No.:  
Customer-No.:

Order-Code:

Quantity:

Production Date: 31.Aug.2009  
Expiry Date: 31.Aug.2014

Article/Product: 45449

Batch : SEE9243X

Dimethoate PESTANAL®

#### Reference Material (RM)

##### 1. General Information

Formula: C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sub>0</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub>  
CAS-No.: [60-51-5]  
Usage : Acaricide/Insecticide

Molar mass: 229.26 g/Mole  
Recomm. storage temp.: 2-8 °C

The estimated uncertainty of a single measurement of the assay can be expected to be 0.5 % relative (confidence level = 95%, n= 6) whereby the assay measurements are calculated by 100% minus found impurities.

##### 2. Batch Analysis

Identity (NMR)  
Assay (HPLC)  
Water (Karl Fischer)  
Melting range  
Date of Analysis

complying  
99.6 area %  
0.04 %  
47.0-49.5 °C  
15.Sep.2009

##### 3. Advice and Remarks

- The minimum shelf life is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flasks/ packages.
- Whenever the container is opened for removal of aliquot portions of the substance, the person handling the substance must assure, that the integrity of the substance is maintained and proper records of all its handlings are kept. Special care has to be taken to avoid any contamination or adulteration of the substance.
- We herewith confirm that the delivery is effected according to the technical delivery conditions agreed.
- Particular properties of the products or the suitability for a particular area of application are not assured.
- We guarantee a proper quality within our General Conditions of Sales.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH  
Quality Management SA-LC

This document was produced electronically and is valid without a signature

**SIGMA-ALDRICH**

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-30918 Seelze  
Telefon: +49 5137 8238-150

Seelze, 30.11.2010/150512/09/09167

Order-No.:  
Customer-No.:

Order-Code:

Quantity:

Production Date: 26.May.2009  
Expiry Date: 26.May.2015

Article/Product: 36143

Batch : SZB9146XV

Malathion PESTANAL®

**Reference Material (RM)****1. General Information**

Formula: C10H19O6PS2  
CAS-No.: [121-75-5]  
Usage : Acaricide/Insecticide

Molar mass: 330.36 g/Mole  
Recomm. storage temp.: 2-8 °C

The estimated uncertainty of a single measurement of the assay can be expected to be 1 % relative (confidence level = 95%, n= 6) whereby the assay measurements are calculated by 100% minus found impurities.

**2. Batch Analysis**

Identity (NMR)	complying
Assay (HPLC)	97.2 area %
Refractive index (n 25/D)	1.4960
Water (Karl Fischer)	0.02 %
Date of Analysis	22.Jun.2009

**3. Advice and Remarks**

- The minimum shelf life is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flasks/ packages.
- Whenever the container is opened for removal of aliquot portions of the substance, the person handling the substance must assure, that the integrity of the substance is maintained and proper records of all its handlings are kept. Special care has to be taken to avoid any contamination or adulteration of the substance.
- We herewith confirm that the delivery is effected according to the technical delivery conditions agreed.
- Particular properties of the products or the suitability for a particular area of application are not assured.
- We guarantee a proper quality within our General Conditions of Sales.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH  
Quality Management SA-LC

This document was produced electronically and is valid without a signature

**SIGMA-ALDRICH**

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-30918 Seelze  
Telefon: +49 5137 8238-150

Seelze, 23.11.2015/149406/10/10953

Order-No. :  
Customer-No. :

Order-Code:

Quantity:

Production Date: 21.May.2010  
Expiry Date: 21.May.2015

Article/Product: 45395

Batch : SEBA141XV

Chlorpyrifos PESTANAL®

**Reference Material (RM)****1. General Information**

Formula: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>PS  
CAS-No.: [2921-88-2]  
Usage : Insecticide

Molar mass: 350.59 g/Mole  
Recomm. storage temp.: 2-8 °C

The estimated uncertainty of a single measurement of the assay can be expected to be 0.5 % relative (confidence level = 95%, n= 6) whereby the assay measurements are calculated by 100% minus found impurities.

**2. Batch Analysis**

Identity (NMR)  
Assay (HPLC)  
Melting range  
Water (Karl Fischer)  
Date of Analysis

complying	
99.9	area %
40.9-41.9	°C
0.06	%
04.Jun.2010	

**3. Advice and Remarks**

- The minimum shelf life is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flasks/ packages.
- Whenever the container is opened for removal of aliquot portions of the substance, the person handling the substance must assure, that the integrity of the substance is maintained and proper records of all its handlings are kept. Special care has to be taken to avoid any contamination or adulteration of the substance.
- We herewith confirm that the delivery is effected according to the technical delivery conditions agreed.
- Particular properties of the products or the suitability for a particular area of application are not assured.
- We guarantee a proper quality within our General Conditions of Sales.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH  
Quality Management SA-LC

This document was produced electronically and is valid without a signature

**SIGMA-ALDRICH®****CERTIFICATE OF ANALYSIS /  
INSPECTION CERTIFICATE 3.1 acc. to DIN EN 10204**

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH D-30918 Seelze  
Telefon: +49 5137 8238-150

Seelze, 27.06.2008/894418/08/14344

Order-No. :  
Customer-No. :

Order-Code:

Quantity:

Production Date: 11.Jun.2008  
Expiry Date: 11.Jun.2014

Article/Product: 32015

Batch : 8163X

Endosulfan (alpha+beta=2+1) PESTANAL®

**Reference Material (RM)****1. General Information**

Formula: C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S  
CAS-No.: [115-29-7]  
Usage : Insecticide/Rodenticide

Molar mass: 406.93 g/Mole  
Recomm. storage temp.: roomtemp.

**Batch Analysis**

Identity (NMR)	complying
endosulfan (alpha + beta) HPLC	99.9 %
alpha - endosulfan (HPLC)	67.0 %
beta - endosulfan (HPLC)	33.0 %
Water (Karl Fischer)	0.06 %
Date of Analysis	26.Jun.2008

**3. Advice and Remarks**

- The minimum shelf life is based on the current knowledge and holds only for proper storage conditions in the originally closed flasks/ packages.
- Whenever the container is opened for removal of aliquot portions of the substance, the person handling the substance must assure, that the integrity of the substance is maintained and proper records of all its handlings are kept. Special care has to be taken to avoid any contamination or adulteration of the substance.
- We herewith confirm that the delivery is effected according to the technical delivery conditions agreed.
- A sample of the above mentioned batch showed the listed analytical values.
- Particular properties of the products or the suitability for a particular area of application are not assured.
- We guarantee a proper quality within our General Conditions of Sales.

Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH  
Quality Assurance



Works Inspector

# Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer



## Product Identification

13133000 Endosulfan-sulfate  
CA 1,4,5,6,7,7-Hexachlorobicyclo[2,2,1]-5-heptan-2,3-bis-(methylen)-sulphate  
IUPAC 1,4,5,6,7,7-Hexachloro-hexahydro-methano-benzodioxathiepin-dioxide  
Formula C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S  
Mol.Weight 422.93  
CAS No. 1031-07-8

## Reference Materials for Residue Analysis

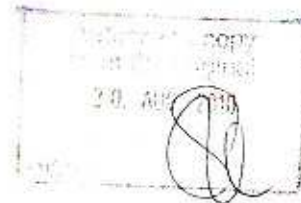
Expiry Date 15.12.2014  
Lot Number 81205  
Store at 20 °C ±4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

Toxicological Data	Physical Data
 R Code 28-50/53 S Code 22-24/25-45-60-61 LD50 (Rats female/male in mg/kg) 18	Phase crystalline solid Color colourless Melt Range 179,4 °C Vapour pressure N/A at °C Solubility in water insol. g/l at °C Boiling Range (lit.)
<b>Analytical Data</b> Detection: GC/MSD Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj.-Vol: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret.-Time: 14,53 min.	<b>Method Details:</b> Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 5 min Gradient: 15° C/min
Identity: RT Comment: Purity was confirmed by external standard method. May decompose at higher temperatures during GC analysis.	
Water Content 0,0 % Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 98,5 % Tolerance/Uncertainty +/- 0,5 % The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.	

Certified on 15.12.2008

by Dr. J. Heidrich

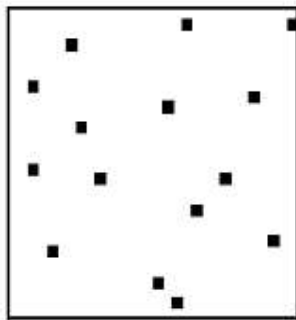


Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers - Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86189 Augsburg - Germany  
Phone +49 821 906080 Fax +49 821 906088 info@analytical-standards.com  
The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.

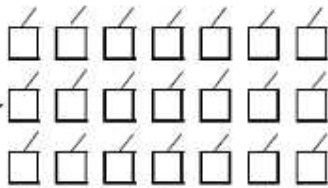


## ANEXO 6: PRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MUESTREO

**Lote y muestras primarias de otro producto:**  
1, 3, 5, 10 o 15 muestras primarias tomadas de  
de lugares elegidos aleatoriamente

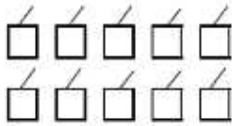


*nota: se combinan las muestras primarias  
para formar la muestra a granel*

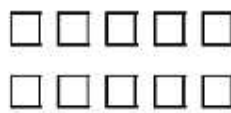


**Unidades que forman la muestra a granel**

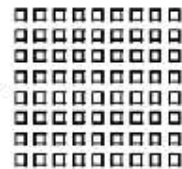
*nota: cuando las muestras de laboratorio se preparan directamente a partir del lote,  
la muestra a granel es la suma conceptual de las muestras de laboratorio.*



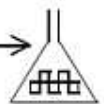
**Muestra de laboratorio (1 o más)**



**Muestra analítica preparada  
parcialmente**

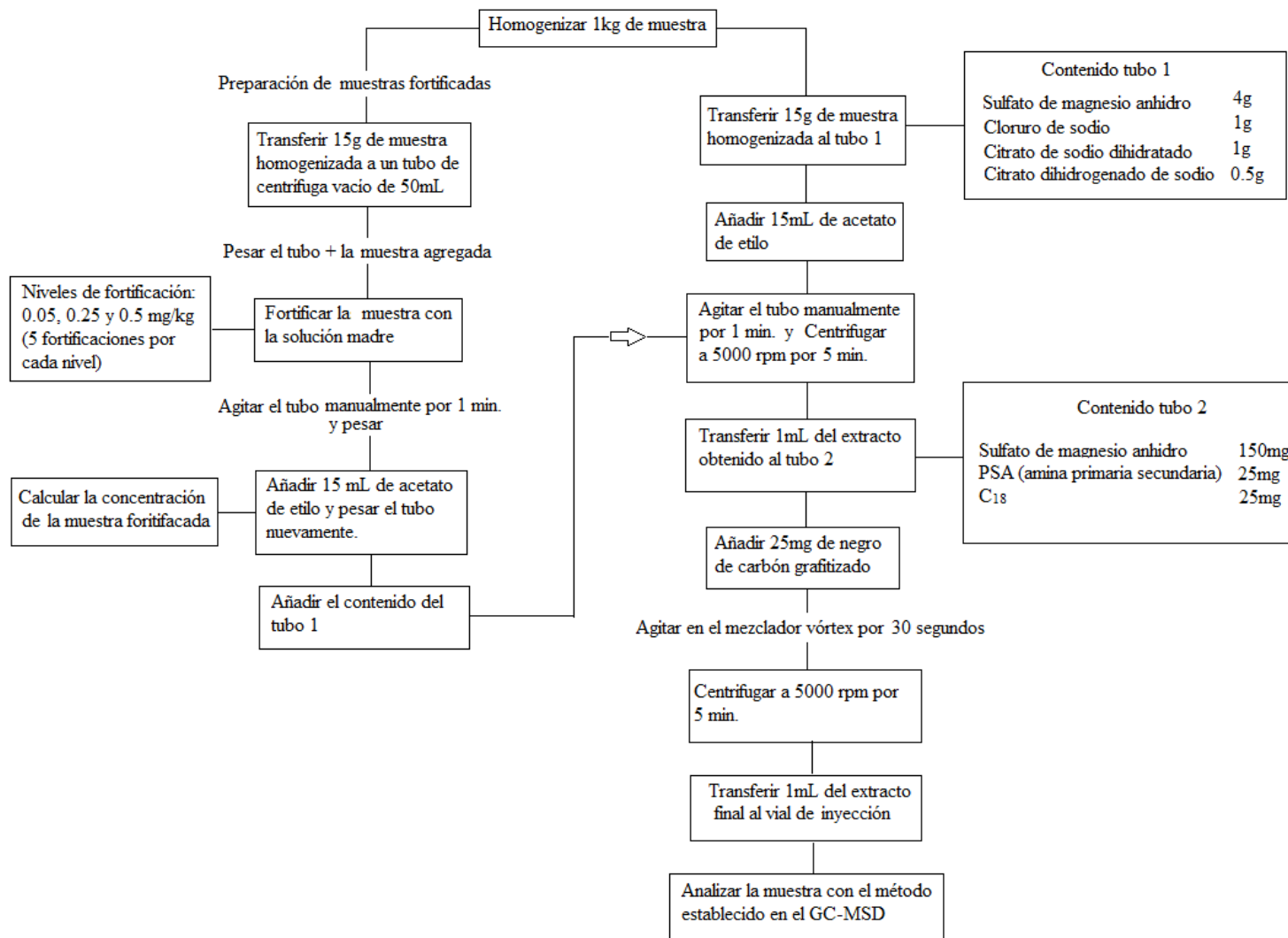


**Muestra analítica preparada  
completamente**



**Porción analítica (1 o más)**

## ANEXO 7: DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS



**ANEXO 8: USO DE LOS PLAGUICIDAS ANALIZADOS EN EL CULTIVO DE TOMATE RIÑÓN**

Plaga que ataca al cultivo de tomate riñón	Plaguicida
Mosca Blanca ( <i>Trialeurodes vaporariorum</i> y <i>Bemisia tabaci</i> )	Cipermetrina Malatión
Áfidos ( <i>Aphis gossypii</i> , <i>Aulacorthum solani</i> , <i>Macrosiphum euphorbiae</i> , <i>Myzus persicae</i> )	Clorpirifos Dimetoato Malatión
Trips ( <i>Frankliniella</i> sp.)	Dimetoato Malatión
Minador de la hoja ( <i>Lyriomiza trifolii</i> y <i>Lyriomiza bryoniae</i> )	Endosulfán Cipermetrina
Araña roja ( <i>Tetranychus urticae</i> )	Clorpirifos Dimetoato
Gusano negro ( <i>Agrotis Ypsilon</i> )	Endosulfán

Fuente: Edifarm, (2004). *Vademécum Agrícola*, Quito, Ecuador.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Daniela Viviana López Ordóñez, C.I 172201768-6 autor del trabajo de graduación titulado: “Determinación de residuos de plaguicidas en tomate riñón (*Lycopersicon esculentum*) por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MSD)”, Previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos del autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 25 de abril de 2012

Srta.

C.I. 172201768-6