

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Determinación por HPLC de residuos de insecticida
 órganofosforado (Methamidophos) en tomates
 comercializados en Lima-Perú**

TESIS

para optar al título profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Cristian Campos Chávez

Abimael Palacios Alcántara

ASESOR

Jesús Víctor Lizano Gutiérrez

Lima – Perú

2010

Dedico la presente tesis a mi maravillosa familia.

Para mi madre Alejandrina Alcántara, fiel amiga, acompañante y consejera, por soportar todos estos años lejos de ella y a mi padre Odeón Palacios, por su apoyo, comprensión y sacrificio permitiendo que este momento llegara. Sin ellos no estaría escribiendo estas líneas.

Para mi novia Lisset Díaz, por ser mi ejemplo de superación, por mostrarme a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad, ni desfallecer en el intento.

Para mi niño Jairo que a sus cortos 4 años me ha enseñado que la vida se vive día por día, siempre con una sonrisa fresca en nuestros labios.

Abimael Palacios Alcántara

El presente trabajo de tesis va dedicado a:

Mis padres; Sr. Eugenio Campos Zúñiga y esposa Alicia Chávez Panduro por todo su apoyo desde mis primeros años de educación, por enseñarme que la educación viene de casa, con sólidos valores como la honradez, el respeto y la perseverancia, por sus indismayables luchas día tras día, por su amor incondicional y por ser siempre optimistas. A quienes les estaré eternamente agradecidos.

A mi novia María Isabel Soto por brindarme su amor, comprensión, apoyo, por su decisión al logro de objetivos y estar a mi lado en los buenos y malos momentos.

A toda mi familia, en especial a mis hermanos; Frank y Jackeline.

Cristian Campos Chávez

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirnos llegar a este momento de nuestras vidas y poder disfrutar de este éxito con los seres que más amamos.

La realización de este trabajo no hubiese sido posible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este llegue a un feliz término. Por ello, es para nosotros muy grato utilizar este espacio para ser justos y consecuentes con ellas, expresándoles nuestros agradecimientos:

De manera especial y sincera a nuestro asesor de Tesis; Q.F. Tox. Jesús Víctor Lizano, por su apoyo, confianza en nuestro trabajo, por guiarnos con su experiencia, oportuna orientación, por su ayuda incondicional y fomentar en nosotros el espíritu investigador e inquisitivo.

A nuestro jurado calificador, doctores; Moisés García O., Delia Whu W., Fabiola Guadalupe L. y Manuel Torres, por aportar sus observaciones y recomendaciones, no cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado.

Al Laboratorio MEDCO por facilitarnos los medios, equipos e instalaciones para llevar a cabo las actividades programadas durante el desarrollo de esta tesis.

No podríamos dejar a de agradecer a nuestra querida Facultad de Farmacia y Bioquímica y a nuestra alma mater Universidad Nacional Mayor de San Marcos por nuestra formación profesional y brindarnos una visión objetiva para el logro nuestras metas.

INDICE

	<u>Pagina</u>
RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS	4
OBJETIVOS	4
I. GENERALIDADES	
1.1 Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	5
1.1.1 Orígenes	
1.1.2 Morfología	
1.1.3 Valores Nutricionales	
1.1.4 Cultivo en el Perú	
1.1.5 Plagas y Enfermedades del Tomate	
1.2 Plaguicidas	12
1.2.1 Clasificación	
1.2.2 Exposición a Plaguicidas	
1.2.3 Plaguicidas y Alimentos	
1.2.4 Impacto Ambiental de los Plaguicidas	
1.2.5 Etiquetado y Manejo de Plaguicidas	
1.3 Insecticidas Órganofosforados	22
1.3.1 Estructura Química y Clasificación	
1.3.2 Toxicidad de los Órganofosforados	
1.3.3 Toxicocinética de los Órganofosforados	
1.3.4 Manifestaciones Clínicas	
1.3.5 Tipos de Intoxicación por Órganofosforados	

1.4	Methamidophos	37
1.4.1	Biodegradación Ambiental	
1.4.2	Bioacumulación en Alimentos	
1.4.3	Ecotoxicidad	
1.4.4	Características Físicas	
1.4.5	Nombres Comerciales	
1.4.6	Usos	
II.	PARTE EXPERIMENTAL	
2.1	Esquema del Procedimiento Realizado Para la Determinación Cualitativa de Residuos de Methamidophos en Tomates	44
2.2	Esquema del Procedimiento Realizado Para la Determinación Cuantitativa De Residuos de Methamidophos en Tomates	45
2.3	Toma de Muestra	46
2.4	Métodos Utilizados Para la Determinación de Residuos de Methamidophos	46
2.4.1	Determinación Cualitativa de Methamidophos por Cromatografía en Capa Fina (CCF)	
2.4.2	Determinación Cuantitativa de Methamidophos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	
III.	RESULTADOS	53
IV.	DISCUSIÓN	59
V.	CONCLUSIONES	61
VI.	RECOMENDACIONES	62
VII.	BIBLIOGRAFÍA	63
VIII.	ANEXOS	66

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el análisis toxicológico de identificación y cuantificación de los residuos del insecticida órganofosforado METHAMIDOPHOS en 25 muestras de tomates, en tres mercados mayoristas (La Parada, 3 de Febrero y Manzanilla) y dos mercados minoristas (N° 1 – San Juan de Lurigancho y Ceres – Ate), todos ubicados en el departamento de Lima. El análisis de identificación cualitativa se realizó por Cromatografía en Capa Fina (CCF) utilizando los Rf y por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) utilizando los tiempos de retención. El análisis Cuantitativo se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), utilizando las áreas integradas de los picos en los cromatogramas obtenidos.

Se determinó la presencia de Methamidophos en la totalidad de las muestras analizadas. De las 25 muestras analizadas solo una muestra (4%) perteneciente al mercado mayorista 3 de Febrero presentó una concentración máxima de 1.0369 ppm de Methamidophos excediendo el Límite Máximo Residual (LMR) para el Methamidophos en tomates según *Codex Alimentarius* que es de 1.0 ppm.

Palabras Clave: tomate, plaguicidas, órganofosforados, Methamidophos, LMR, CCF, HPLC.

SUMMARY

In the present study was conducted toxicological analysis for the identification and quantification of the organophosphate insecticide METHAMIDOPHOS residue in 25 samples of tomatoes, three wholesale markets (La Parada, 3 de Febrero and Manzanilla) and two retail markets (No. 1- San Juan de Lurigancho and Ceres – Ate) , all located in the department of Lima. Qualitative identification analysis was performed by Thin Layer Chromatography (TLC) using the R_f and High-Resolution Liquid Chromatography (HPLC) using the retention times. Quantitative analysis was performed by high resolution liquid chromatography (HPLC) using the integrated areas of peaks in the chromatograms obtained.

We determined the presence of Methamidophos in all samples. Of the 25 samples tested only one sample (4%) belonging to the wholesale market 3 de Febrero present a maximum concentration of 1.0369 ppm of Methamidophos exceeding the Maximum Residual Limit (MRL) for Methamidophos on tomatoes as Codex Alimentarius is 1.0 ppm.

Key Words: tomato, insecticide, organophosphates, Methamidophos, MRL, TLC, HPLC.

INTRODUCCIÓN

Es sabido que los plaguicidas utilizados en las plantaciones provocan una larga lista de problemas a la salud, tanto crónicos como agudos, y que algunos son perjudiciales para los organismos del suelo y el agua, que contaminan el medio ambiente.

En las plantaciones de tomatera se utilizan un sin número de agrotóxicos, muchos de los cuales representan una grave amenaza a las reservas de agua, a través de las cuales contaminan al resto de los seres vivos. Un boletín de abril del 2008 del Movimiento Mundial por los Bosques, Montevideo – Uruguay afirma que insecticidas como el Monocrotophos, el Methamidophos y el Carbofuran, y fungicidas como el Chlorothalonil y el Maneb, son contaminantes de las capas hídricas subterráneas. ²⁸

Además de deteriorar la salud humana de quienes aplican los plaguicidas -en este caso particular los trabajadores y trabajadoras de las plantaciones de tomates- los efectos de los plaguicidas se hacen sentir en las comunidades y también en los consumidores de todo Lima.

Tesis realizadas en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, demuestran que existen residuos de Methamidophos que superan el Límite Máximo Residual en papas provenientes del interior del país consumidas en Lima Metropolitana ²⁶, así como otras tesis muestran la presencia de este mismo insecticida en otras hortalizas como el apio, coliflor, lechuga y algunas frutas como las manzanas y maracuyá todas ellas consumidas en Lima ¹⁸.

Los informes de la Organización Mundial de la Salud y la autoridad local, SENASA, afirma que el uso de plaguicidas requiere un alto nivel de precaución y pueden causar envenenamiento letal o muy severo si se usan de manera inadecuada, pueden producir impactos ambientales negativos significativos, para los que no existen medidas de mitigación adecuadas o proyectos que son incompatibles con las políticas de desarrollo sostenible del país o de las entidades internacionales de desarrollo. Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática, INEI; solo para el año 1999 el Perú importaba cerca de 6 736 176 Kg de insecticidas.

Por todo lo expuesto, con la realización de este trabajo de investigación se busca determinar el grado de contaminación de este alimento, que es de uso amplio en la industria alimentaria y consumo directo por parte de la población, con este insecticida órganofosforado METHAMIDOPHOS, determinando su presencia y concentración mediante las técnicas de Cromatografía en Capa Fina (CCF) y Cromatografía Líquida de Alta resolución (HPLC), respectivamente, en los tomates comercializados en los mercados limeños (tres mercados mayoristas y dos minoristas).

HIPOTESIS

Los tomates comercializados en Lima – Perú se encuentran contaminados con residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) y estos exceden el Límite Máximo Residual según el *Codex Alimentarius*.

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la concentración de residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en los tomates comercializados en Lima – Perú con referencia al *Codex Alimentarius*.

Objetivos Específicos:

- Determinar cualitativamente los residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima – Perú.
- Determinar cuantitativamente los residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima – Perú.
- Hacer un cuadro comparativo de los resultados cuantitativos de los residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates con el Límite Máximo Residual según el *Codex Alimentarius*.
- Hacer un cuadro comparativo de la concentración promedio por mercado de residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates de los diferentes mercados trabajados.
- Dar un aporte más, en base a las evidencias encontradas, a las entidades de salud para que haya un mayor control sobre el uso de estos insecticidas que son altamente tóxicos según la OMS.

I. GENERALIDADES

1.1 TOMATE (*Solanum lycopersicum*)

La tomatara es una planta de la familia de las solanáceas, originaria de América y cultivada en todo el mundo por su fruto comestible, el tomate. ¹

1.1.1 ORÍGENES

Según el libro *El tomate en América* de Andrew Smith ², el tomate se originó muy probablemente en las tierras altas de la costa occidental de Sudamérica. Investigaciones posteriores han precisado que ésta y otras hortalizas se cultivaron en forma continua por las culturas que florecieron en los Andes desde tiempos preincaicos. El tomate viajó a Europa desde Tenochtitlan, capital del imperio azteca, después de la conquista de los españoles, donde se le conocía como *xitomatl*, "fruto con ombligo" (de donde proviene el nombre actual en muchos estados de México, *jitomate*). Si bien ambos centros de origen del tomate cultivado, Perú y México, han sido postulados y se ha proporcionado evidencia en uno u otro sentido, no existen pruebas concluyentes que apoyen de manera incontrovertida uno de tales sitios como el lugar donde el tomate ha sido domesticado a partir de su ancestro silvestre. Más aún, puede ser que este cultivo haya sido domesticado independientemente por las culturas precolombinas que habitaban lo que actualmente es México y Perú ³

1.1.2 MORFOLOGÍA

Planta: Perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta. ⁴

Sistema Radicular: Raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. Seccionando transversalmente la raíz principal y de fuera hacia dentro encontramos; epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, cortex y cilindro central, donde se sitúa el xilema (conjunto de vasos especializados en el transporte de los nutrientes). ⁴

Hoja: Compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos. La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior o zona en empalizada, es rica en cloroplastos. Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y constan de un nervio principal. ⁴

Flor: Regular e hipogina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal a intervalos de 135°, de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo y de un ovario bi o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racemoso (dicasio), generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate calibre M y G; es frecuente que el eje principal de la inflorescencia se ramifique por debajo de la primera flor formada dando lugar a una inflorescencia compuesta, de forma que se han descrito algunas con más de 300 flores. La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. La flor se une al eje floral por medio de un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, que se distingue por un engrosamiento con un pequeño surco originado por una reducción del espesor del cortex. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas. ⁴

Fruto: Baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpo, el tejido placentario y las semillas. El fruto puede recolectarse separándolo por la zona de abscisión del pedicelo, como ocurre en las variedades industriales, en las que es indeseable la presencia de parte del pecíolo o bien puede separarse por la zona peduncular de unión al fruto. ⁴

1.1.3 VALORES NUTRICIONALES ⁵

El tomate es un alimento con escasa cantidad de calorías. De hecho, 100 gramos de tomate aportan solamente 18 kcal. La mayor parte de su peso es agua y el segundo constituyente en importancia son los hidratos de carbono. Contiene azúcares simples que le confieren un ligero sabor dulce y algunos ácidos orgánicos que le otorgan el sabor ácido característico.

El tomate es una fuente importante de ciertos minerales (como el potasio y el magnesio). De su contenido en vitaminas destacan la B1, B2, B6 y la vitamina C. Presenta también carotenoides como el licopeno (pigmento que da el color rojo característico al tomate). La vitamina C y el licopeno son antioxidantes con una función protectora de nuestro organismo. (Ver Tabla N° 1)

El licopeno posee propiedades antioxidantes y actúa protegiendo a las células humanas del estrés oxidativo, producido por la acción de los radicales libres que son uno de los principales responsables de las enfermedades cardiovasculares, del cáncer y del envejecimiento. Además, actúa modulando las moléculas responsables de la regulación del ciclo celular y produciendo una regresión de ciertas lesiones cancerosas.

TABLA N° 1: VALORES NUTRICIONALES DEL TOMATE.

Según *Nutritive Value of Foods*. United States Department of Agriculture. 2002 ⁵

TOMATE ROJO CRUDO	
Valor Nutricional por cada 100 g	
Agua	94.5 g
Valor Calórico	18 kcal
Proteínas	0.9 g
Glúcidos	2.8 g
Lípidos	0.2 g
Provitamina A	0.38 mg
Vitamina B1	0.06 mg
Vitamina B2	0.04 mg
Vitamina B6	0.11 mg
Vitamina C	15 mg
Vitamina PP	0.7 mg
Hierro	0.4 mg
Calcio	10 mg
Magnesio	10 mg
Fósforo	24 mg
Potasio	280 mg
Sodio	1.2 mg

1.1.4 CULTIVO EN EL PERÚ ¹

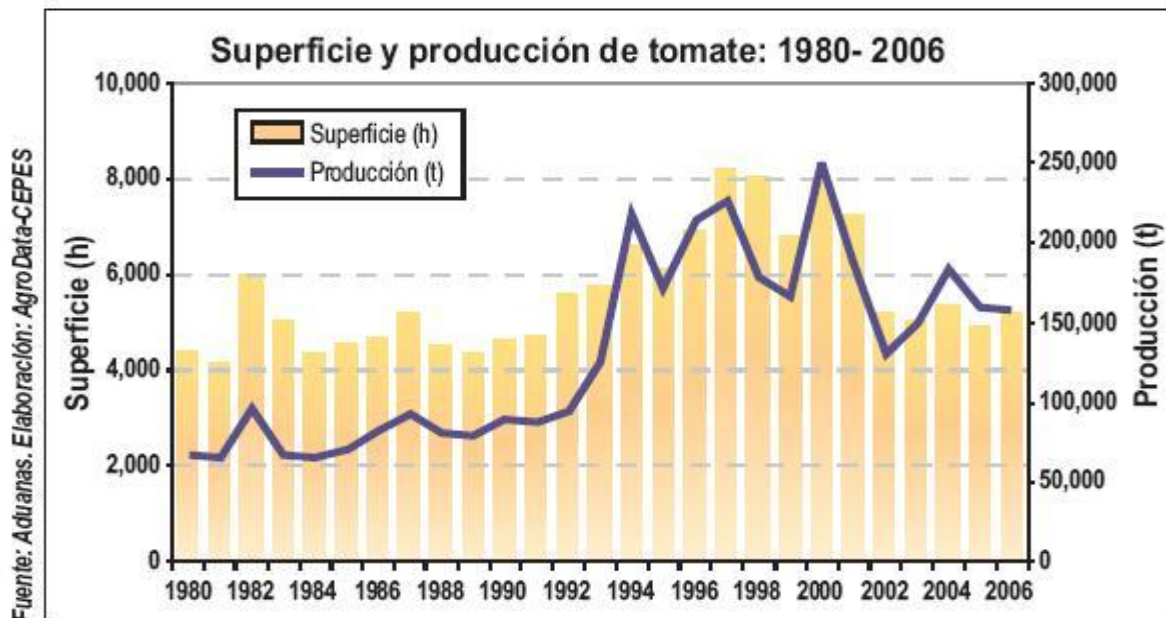
La producción de tomate nacional está en alrededor de 160 mil t, en una superficie de 5 mil ha (respecto al año 2000, éstas se han reducido en aproximadamente 35%). El rendimiento promedio nacional se mantiene en alrededor de 30 t/ha, pero varía mucho entre regiones: en Ica, por ejemplo, se alcanzan rendimientos de 80 t/ha (Ica y Lima concentran cerca del 70% de la producción de tomate).

Zonas de Producción: Lima (Rímac, Chillón, Lurín), La Libertad, Ica, Huaral-Chancay, Barranca, Huacho, Cañete, Arequipa, Lambayeque.

En el gráfico N° 1 se aprecia la evolución en el tiempo de la producción del tomate desde 1980 al año 2006, en el Perú.

GRÁFICO N° 1: EVOLUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN EN EL TIEMPO DEL TOMATE, EN EL PERÚ

Según Aduanas. Elaboración: AgroData-CEPES 2007 ¹



1.1.5 PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL TOMATE ⁴

1.1.5.1 PLAGAS:

Araña Roja (*Tetranychus urticae*, *T. turkestanii* y *T. ludeni*)

Se desarrolla en el envés de las hojas causando decoloraciones, punteaduras o manchas amarillentas que pueden apreciarse en el haz como primeros síntomas. Con mayores poblaciones se produce desecación o incluso defoliación. Los ataques más graves se producen en los primeros estados fenológicos. Las temperaturas elevadas y la escasa humedad relativa favorecen el desarrollo de la plaga.

Mosca Blanca (*Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci*)

Las partes jóvenes de las plantas son colonizadas por los adultos, realizando las puestas en el envés de las hojas. De estas emergen las primeras larvas, que son móviles. Tras fijarse en la planta pasan por tres estados larvarios y uno de pupa, este último característico de cada especie. Los daños directos (amarillamientos y debilitamiento de las plantas) son ocasionados por larvas y adultos al alimentarse, absorbiendo la savia de las hojas. Los daños indirectos se deben a la proliferación de negrilla sobre la melaza producida en la alimentación, manchando y depreciando los frutos y dificultando el normal desarrollo de las plantas.

Otro daño indirecto es el que tiene lugar por la transmisión de virus, como ejemplo; *Trialeurodes vaporariorum* es transmisora del virus del amarillamiento en cucurbitáceas. *Bemisia tabaci* es potencialmente transmisora de un mayor número de virus en cultivos hortícolas y en la actualidad actúa como transmisora del virus del rizado amarillo de tomate (TYLCV), conocido como "virus de la cuchara".

Pulgón (*Aphis gossypii* y *Myzus persicae*)

Son las especies de pulgón más comunes y abundantes en los invernaderos. Presentan polimorfismo, con hembras aladas y ápteras de reproducción vivípara. Las formas áptera del primero presentan sifones negros en el cuerpo verde o amarillento, mientras que las de *Myzus* son completamente verdes (en ocasiones pardas o rosadas). Forman colonias y se distribuyen en focos que se dispersan, principalmente en primavera y otoño, mediante las hembras aladas.

Trips (*Frankliniella occidentalis*)

Los adultos colonizan los cultivos realizando las puestas dentro de los tejidos vegetales en hojas, frutos y, preferentemente, en flores (son florícolas), donde se localizan los mayores niveles de población de adultos y larvas nacidas de las puestas. Los daños directos se producen por la alimentación de larvas y adultos, sobre todo en el envés de las hojas, dejando un aspecto plateado en los órganos afectados que luego se necrosan. Las puestas pueden observarse cuando aparecen en los frutos. El daño indirecto es el que acusa mayor importancia y se debe a la transmisión del virus del bronceado del tomate (TSWV).

Minadores de Hoja (*Liriomyza trifolii*, *Liriomyza bryoniae*, *Liriomyza strigata*, *Liriomyza huidobrensis*)

Las hembras adultas realizan las puestas dentro del tejido de las hojas jóvenes, donde comienza a desarrollarse una larva que se alimenta del parénquima, ocasionando las típicas galerías. Una vez finalizado el desarrollo larvario, las larvas salen de las hojas para pupar, en el suelo o en las hojas, para dar lugar posteriormente a los adultos.

Orugas (*Spodoptera exigua*, *Spodoptera littoralis*, *Heliothis armigera*, *Heliothis peltigera*, *Chrysodeisis chalcites*, *Autographa gamma*)

La biología de estas especies es bastante similar, pasando por estados de huevo, 5-6 estados larvarios y pupa. Los huevos son depositados en las hojas, preferentemente en el envés, en plastrones con un número elevado de especies del género *Spodoptera*, mientras que las demás lo hacen de forma aislada. Los daños son causados por las larvas al alimentarse. En *Spodoptera* y *Heliothis* la pupa se realiza en el suelo y en *Chrysodeixis chalcites* y *Autographa gamma*, en las hojas. Los adultos son polillas de hábitos nocturnos y crepusculares.

Los daños pueden clasificarse de la siguiente forma: daños ocasionados a la vegetación (*Spodoptera*, *Chrysodeixis*), daños ocasionados a los frutos (*Heliothis* y *Spodoptera*) y daños ocasionados en los tallos (*Heliothis* y *Ostrinia*) que pueden llegar a cegar las plantas.

Nemátodos (*Meloidogyne spp.*)

Afectan prácticamente a todos los cultivos hortícolas, produciendo los típicos nódulos en las raíces que le dan el nombre común de “batatilla”. Penetran en las raíces desde el suelo. Las hembras al ser fecundadas se llenan de huevos tomando un aspecto globoso dentro de las raíces. Esto unido a la hipertrofia que producen en los tejidos de las mismas, da lugar a la formación de los típicos “rosarios”. Estos daños producen la obstrucción de vasos e impiden la absorción por las raíces, traducándose en un menor desarrollo de la planta y la aparición de síntomas de marchitez en verde en las horas de más calor, clorosis y enanismo. Se distribuyen por rodales o líneas y se transmiten con facilidad por el agua de riego, con el calzado, con los aperos y con cualquier medio de transporte de tierra. Además, los nematodos interaccionan con otros organismos patógenos, bien de manera activa (como vectores de virus), bien de manera pasiva facilitando la entrada de bacterias y hongos por las heridas que han provocado.

Oidiopsis (*Leveillula taurica*)

Es un parásito de desarrollo semi-interno y los conidióforos salen al exterior a través de las estomas. Los síntomas que aparecen son manchas amarillas en el haz que se necrosan por el centro, observándose un fieltro blanquecino por el envés. En caso de fuerte ataque la hoja se seca y se desprende. Las solanáceas silvestres actúan como fuente de inóculo.

1.1.5.2 ENFERMEDADES:

Podredumbre blanca (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary)

Hongo polífago que ataca a la mayoría de las especies hortícolas. En plántulas produce damping-off. En planta produce una podredumbre blanda (no desprende mal olor) acuosa al principio que posteriormente se seca más o menos según la succulencia de los tejidos afectados, cubriéndose de un abundante micelio algodonoso blanco, observándose la presencia de numerosos esclerocios, blancos al principio y negros más tarde. Los ataques al tallo con frecuencia colapsan la planta, que muere con rapidez, observándose los esclerocios en el interior del tallo. La enfermedad comienza a partir de esclerocios del suelo procedentes de infecciones anteriores, que germinan en condiciones de humedad relativa alta y temperaturas suaves, produciendo un número variable de apotecios. El apotecio cuando está maduro descarga numerosas esporas, que afectan sobre todo a los pétalos. Cuando caen sobre tallos, ramas u hojas producen la infección secundaria.

Mildiu (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary)

Este hongo es el agente causal del mildiu del tomate, afectando a otras especies de la familia de las solanáceas. En tomate ataca a la parte aérea de la planta y en cualquier etapa de desarrollo. En hojas aparecen manchas irregulares de aspecto aceitoso al principio que rápidamente se necrosan e invaden casi todo el foliolo. Alrededor de la zona afectada se observa un pequeño margen que en presencia de humedad y en el envés aparece un fieltro

blancuzco poco patente. En tallo, aparecen manchas pardas que se van agrandando y que suelen circundarlo. Afecta a frutos inmaduros, manifestándose como grandes manchas pardas, vítreas y superficie y contorno irregular. Las infecciones suelen producirse a partir del cáliz, por lo que los síntomas cubren la mitad superior del fruto. La dispersión se realiza por lluvias y vientos, riegos por aspersión, rocíos y gotas de condensación.

Alternariosis (*Alternaria solani*)

Afecta principalmente a solanáceas y especialmente a tomate y patata. En plántulas produce un chancro negro en el tallo a nivel del suelo. En pleno cultivo las lesiones aparecen tanto en hojas como tallos, frutos y pecíolos. En hoja se producen manchas pequeñas circulares o angulares, con marcados anillos concéntricos. En tallo y pecíolo se producen lesiones negras alargadas, en las que se pueden observar a veces anillos concéntricos. Los frutos son atacados a partir de las cicatrices del cáliz, provocando lesiones pardo-oscuros ligeramente deprimidas y recubiertas de numerosas esporas del hongo. Fuentes de dispersión: solanáceas silvestres y cultivadas, semillas infectadas, restos de plantas enfermas. Las conidias pueden ser dispersadas por salpicaduras de agua, lluvia, etc. o el viento.

***Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Snyder & Hansen**

Comienza con la caída de pecíolos de hojas superiores. Las hojas inferiores amarillean avanzando hacia el ápice y terminan por morir. Puede manifestarse una marchitez en verde de la parte aérea, pudiendo ser reversible. Después se hace permanente y la planta muere. También puede ocurrir que se produzca un amarilleo que comienza en las hojas más bajas y que termina por secar la planta. Si se realiza un corte transversal al tallo se observa un oscurecimiento de los vasos. El hongo puede permanecer en el suelo durante años y penetrar a través de las raíces hasta el sistema vascular. La diseminación se realiza mediante semillas, viento, labores de suelo, plantas enfermas o herramientas contaminadas.

Mancha Negra del tomate (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young et al.)

Bacteriosis frecuente en los cultivos de tomate. Afecta a todos los órganos aéreos de la planta. En hojas, se forman manchas negras de pequeño tamaño (1-2 mm de diámetro) y rodeadas de halo amarillo, que pueden confluir, llegando incluso a secar el foliolo. En tallos, pecíolos y bordes de los sépalos, también aparecen manchas negras de borde y contorno irregular. Las inflorescencias afectadas se caen. Tan sólo son atacados los frutos verdes, en los que se observan pequeñas manchas deprimidas. Las principales fuentes de infección las constituyen: semillas contaminadas, restos vegetales contaminados y la rizosfera de numerosas plantas silvestres. El viento, la lluvia, las gotas de agua y riegos por aspersión diseminan la enfermedad que tiene como vía de penetración los estomas y las heridas de las plantas.

1.2 PLAGUICIDAS

Son sustancias químicas destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de seres vivos considerados plagas. Dentro de esta denominación se incluyen insectos, hierbas, aves, mamíferos, peces y microbios que compiten con los humanos para conseguir alimento, destruyen las siembras y propagan enfermedades. ⁶

Según la OMS, un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias de carácter orgánico o inorgánico que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que resultan perjudiciales para el hombre en su salud o en sus actividades económicas como la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o la comercialización de alimentos de tipo agrícola o animal. ⁷

1.2.1 CLASIFICACIÓN

1.2.1.1 Según la Especie a Combatir: (Ver Tabla N° 2)

TABLA N° 2: CLASIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS SEGÚN LA ESPECIE A COMBATIR
Según Guía de Seminarios de Toxicología y Química Legal del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Plata ⁷

INSECTICIDAS MINERALES	MINERALES	Compuestos Arsenicales Compuestos Fluorados Azufre Derivados del Selenio
	ORGANICOS DE SINTESIS	Organofosforados Organoclorados Carbamatos
	A BASE DE ACEITES MINERALES	Aceites Antracénicos Aceites de Petróleo
	DE ORIGEN VEGETAL	Nicotina Piretrina Rotenona
HERBICIDAS	MINERALES	Sales de NH_4^+ , Ca^{++} , Cu^{++} , Fe^{+++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ , en forma de Sulfatos, Nitratos, Cloruros, Cloratos.
	ORGANICOS	Fitohormonas Derivados de la Urea Triazinas y Diazinas Derivados de los fenil sustituidos y las quinoxalinas Derivados de la Oxiquinoleína Derivados de las tiadizinas y tiadiazoles
	OTROS	Parquat Diquat Piclorame

CONTINUACIÓN DE LA TABLA N° 2

FUNGUICIDAS	MINERALES	Sales de Cobre Compuestos Arsenicales Aceites Minerales
	ORGANOMETALICOS	Derivados Órganomercuriales
	ORGANICOS	Carbamatos y Ditiocarbamatos Derivados del Benceno Amicidas Benzonitrilos
RODENTICIDAS	DERIVADOS CUMARÍNICOS	Warfarinas
	INORGÁNICOS	Sales de Talio

1.2.1.2 Según la OMS (Según el Grado de Toxicidad)

Esta clasificación es según su grado de peligrosidad, entendiendo que es la capacidad de producir toxicidad aguda en la salud cuando se expone una o múltiples veces en un tiempo relativamente corto. Esta clasificación utiliza como medio de clasificación la Dosis Letal Media (DL50) por vía oral o dérmica en ratas albinas, expresadas en mg de sustancia por kilogramo de peso. ⁸

La clasificación es como sigue y se divide en cuatro clases: (Ver Tabla N° 3)

TABLA N° 3: CLASIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS SEGÚN GRADO DE TOXICIDAD
Según FAO. Guidelines on Good Labeling Practice for Pesticides, Roma 2000. ⁸

CLASE	ORAL		DERMICA	
	Sólidos*	Líquidos*	Sólidos*	Líquidos*
Ia: Extremadamente Peligroso	5 ó menos	20 ó menos	10 ó menos	40 ó menos
Ib: Altamente Peligroso	5 a 50	20 a 200	10 a 100	40 a 400
II: Moderadamente Peligroso	50 a 500	200 a 2000	100 a 1000	400 a 4000
III: Ligeramente Peligroso	500 a 2000	2000 a 3000	Más de 1000	Más de 4000
IV: Productos que normalmente no ofrecen peligro	Más de 2000	Más de 3000		

* Los términos sólidos o líquidos se refieren al estado físico del ingrediente o de la formulación.

Además de estas categorías existen otros tres grupos de plaguicidas: ⁹

Grupo V: Están aquellos productos que no implican un riesgo agudo cuando se usan normalmente. Tienen un DL50 oral mayor o igual a 3000 mg/Kg en el caso de los sólidos y mayor o igual a 3000 mg/Kg en el caso de los líquidos.

Grupo VI: Son aquellos productos a los que no se les asigna ninguna categoría por considerarlos obsoletos o descontinuados.

Grupo VII: Son fumigantes gaseosos o volátiles (acrilonitrilo, fosfinas, bromuro de metilo, etc.), los valores de DL50 oral y dérmica no deben emplearse como base de clasificación, siendo necesario, por lo tanto, utilizar otros criterios tales como los niveles de concentración en el aire.

En el Reino Unido se ha dispuesto una clasificación basada en la inhalación del producto por las ratas, durante cuatro horas de exposición, de la concentración letal media (DL50), para los plaguicidas que se presentan en forma de gas y de material particulado cuyo diámetro no exceda de 50 micras.⁸

TABLA N° 4: CLASIFICACIÓN PARA PLAGUICIDAS EN FORMA DE GAS

Según Pesticides Safety Precautions Scheme. London, United Kingdom, Ministry of Agriculture, 1997.¹⁰

Toxicidad	Concentración (mg/L aire)
Muy tóxico	≤ 0,5
Tóxico	> 0,5 a 2
Poco tóxico	> 2 a 20

1.2.2 EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS

Debido al alto uso de plaguicidas en nuestro país, es fácil deducir que hay muchas personas expuestas de manera accidental, eventual y permanentemente a concentraciones variables de estos plaguicidas, por lo que se han agrupado a las personas en dos categorías amplias: Los trabajadores expuestos según la ocupación que desempeñan y la población en general.⁸

Trabajadores

Desde el punto de vista laboral, existe una gran complejidad en los patrones de uso de los plaguicidas, a la vez que una gran variedad de formas e intensidades de exposición; sin embargo, es la población económicamente activa del sector agrario la que tiene una mayor exposición dado que allí se utiliza un 85% de los plaguicidas.

En el ámbito ocupacional, los trabajadores tienen exposición a plaguicidas:

- En la fabricación y formulación de estos productos.
- En su transporte, almacenamiento y expendio.
- En el sector agrario, durante la preparación, dilución, aplicación y cosecha de los cultivos.
- En actividades pecuarias.
- En la industria forestal.
- En campañas de salud pública.
- En campañas de fumigación (viviendas, carreteras, negocios, etc.)

Población General

La población en general comprende a todas aquellas personas que de manera eventual o circunstancial están en contacto con estos productos, estos son:

- Comunidades rurales que viven cerca de donde se hacen aplicaciones aéreas o terrestres.
- Familiares de trabajadores agrícolas, especialmente niños y mujeres embarazadas.
- Comunidades urbanas y rurales donde se hacen aplicaciones domésticas o campañas de salud pública.
- Toda la población que está expuesta a los alimentos y aguas contaminadas por residuos de plaguicidas en estos.

1.2.3 PLAGUICIDAS Y ALIMENTOS

Los plaguicidas y sus residuos tóxicos producen bioacumulación en la cadena alimentaria y permanecen en los alimentos durante largos periodos. Los consumidores al comer estos alimentos contaminados se están exponiendo de manera inconsciente a cantidades variables de estos tóxicos.

Las formas de contaminación de los alimentos se puede dar por:

- El uso excesivo de plaguicidas en el sector agropecuario.
- La recolección de los productos agrícolas sin esperar el intervalo de seguridad (período de carencia).
- La contaminación durante el almacenamiento, transporte, expendio o la preparación de los alimentos.

La contaminación se presenta especialmente en las etapas finales del desarrollo de los cultivos y durante su almacenamiento.

El tipo de plaguicida, la frecuencia en la aplicación a los cultivos y la cantidad utilizada, son factores que determinan el grado de contaminación de los productos cosechados. La frecuencia ha variado desde dos aplicaciones para el control de plagas en climas templados hasta cerca de cincuenta aplicaciones en regiones calurosas y húmedas.

Así mismo se ha observado que bajo condiciones climáticas de sequedad y calor se pueden encontrar altos niveles de residuos de productos de transformación de ciertos plaguicidas no persistentes, como por ejemplo el paraoxón que se encontró en plantaciones donde se había aplicado paratión 28 días antes.

La cantidad de plaguicida que permanece en los productos de cosecha dependen del tipo de plaguicida, de la cantidad y frecuencia de las aplicaciones, de la recolección, de la pluviosidad local y la radiación solar, que favorecen el arrastre y los diferentes procesos de degradación del ingrediente activo de cada plaguicida. ⁸

Se puede afirmar que en la actualidad es frecuente identificar residuos de plaguicidas en los alimentos y en muchos casos se detectan concentraciones de estos por encima de los límites de tolerancia recomendados por la FAO/OMS. ^{11 12 13}

Por lo tanto es necesario conocer ciertos puntos de control de estos residuos como los límites recomendados por el *Codex Alimentarius*.

El **Codex Alimentarius**, es una comisión de trabajo del Programa Conjunto de la FAO/OMS, sobre normas alimentarias, creada en 1963. Su función es la de emitir normas alimentarias y reglamentos orientadas a la protección de la salud de los consumidores. ¹⁴

FAO: Siglas de la Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

OMS: Siglas de la Organización Mundial de la Salud.

En el Codex se establecen las siguientes definiciones y puntos de control: ¹⁵

1.2.3.1 Ingestión Diaria Admisible (IDA)

La "IDA" de una sustancia química es la dosis diaria que ingerida durante todo el período vital, parece no entrañar riesgos apreciables para la salud del consumidor, sobre la base de todos los hechos conocidos en el momento de la evaluación de la sustancia química por la reunión conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas. Se expresa en miligramos de sustancia química por kilogramo de peso corporal (mg/Kg).

1.2.3.2 Límite Máximo para Residuos Extraños (LMRE)

El "LMRE" se aplica a residuos de plaguicidas o contaminantes de procedencia ambiental (incluidos usos agrícolas anteriores) distinta del uso de una sustancia plaguicida o contaminante directa o indirectamente en el producto.

Es la concentración máxima de residuos de un plaguicida o contaminante que la comisión del *Codex Alimentarius* recomienda que se permita legalmente o se reconozca como aceptable en o sobre un alimento, producto agrícola o alimento para animales. La concentración se expresa en miligramos de residuos de plaguicida o contaminante por kilogramo del producto.

1.2.3.3 Buenas Prácticas Agrícolas en el Uso de Plaguicidas (BPA)

Con "BPA" se entiende los usos inocuos autorizados a nivel nacional, en las condiciones existentes, de los plaguicidas necesarios para un control eficaz y fiable de las plagas. Comprende una gama de niveles de aplicaciones de plaguicidas hasta la concentración de uso autorizado más elevada, de forma que quede la concentración mínima posible del residuo.

Los usos inocuos autorizados se determinan a nivel nacional y prevén usos registrados o recomendados en el país que tiene en cuenta las consideraciones de salud pública y profesional, así como la seguridad del medio ambiente. Las condiciones existentes comprenden cualquier fase de la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos para consumo humano y piensos.

1.2.3.4 Límite Máximo para Residuos de Plaguicida (LMR)

"LMR" es la *concentración máxima de residuos de un plaguicida (expresada en mg/kg)*, recomendada por la Comisión del *Codex Alimentarius*, para que se permita legalmente su uso en la superficie o la parte interna de productos alimenticios para consumo humano y de piensos. Los LMR se basan en datos de BPA y tienen por objeto lograr que los alimentos derivados de productos básicos que se ajustan a los respectivos LMR sean toxicológicamente aceptables.

1.2.3.5 Residuo de Plaguicida

Por "residuo de plaguicida" se entiende cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, como productos de conversión, metabolitos y productos de reacción, y las impurezas consideradas de importancia toxicológica. (Nota: el término "residuo de plaguicida" incluye tanto los residuos de procedencias desconocidas o inevitables (por ejemplo, ambientales), como los derivados de usos conocidos de la sustancia química).

1.2.3.6 Base para el Establecimiento de Límites Máximos del Codex para Plaguicidas

Los límites máximos del Codex para residuos se recomiendan teniendo en cuenta datos apropiados sobre residuos, obtenidos principalmente de ensayos supervisados. Los datos sobre residuos obtenidos de ese modo reflejan las modalidades de empleo registradas o aprobadas del plaguicida, de conformidad con las "buenas prácticas agrícolas". Estas pueden variar considerablemente de una región a otra debido a las diferentes necesidades de control de plagas de cada lugar, necesidades motivadas por muy diversas razones.

Por consiguiente, también pueden variar los residuos presentes en los alimentos, particularmente en proximidad de la recolección. Al establecer los LMR del Codex, se tienen en cuenta, en la medida de lo posible y según los datos disponibles, esas variaciones de los residuos debidas a diferencias en las "buenas prácticas agrícolas".

Como los LMR del Codex abarcan una amplia gama de modalidades de uso y "buenas prácticas agrícolas" y tienen que reflejar los niveles de residuos inmediatamente después de la cosecha, en algunas ocasiones pueden ser superiores a los niveles de residuos que se encuentran en las actividades nacionales de vigilancia. Puede ocurrir eso especialmente con los plaguicidas fácilmente degradables y cuando se efectúa el análisis en un punto de la cadena de distribución que queda muy lejos de la última aplicación del plaguicida.

Se establecen LMR del Codex sólo cuando se cuenta con pruebas de inocuidad, para los seres humanos, de los residuos resultantes determinadas por la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas, lo que significa que los Límites Máximos del Codex para Residuos representan niveles de residuos que son toxicológicamente aceptables.

El LMR y LMRE del Codex sirven para asegurar que se aplique al alimento solamente la cantidad mínima de plaguicida que realmente hace falta para combatir una plaga. La aceptabilidad de los LMR del Codex se establece comparando la dosis de ingestión diaria admisible (IDA) con la dosis de ingestión diaria estimada, determinada mediante estudios de ingestión adecuados. Comparando los datos de ingestión obtenidos mediante tales estudios con las dosis de ingestión diaria admisible se determina la inocuidad de los alimentos en lo que respecta a su contenido de residuos de plaguicidas.

1.2.4 IMPACTO AMBIENTAL DE LOS PLAGUICIDAS

Entendemos por impacto ambiental al conjunto de fenómenos naturales o antropogénicos capaces de ocasionar modificaciones sobre el ambiente o sus componentes bióticos. En el caso de los plaguicidas, en general, estos efectos son negativos y percibidos en la calidad de los componentes ambientales y sobre la salud y el bienestar de las poblaciones.

Entre las propiedades de los plaguicidas que hacen se les considere contaminantes ambientales están la toxicidad, la estabilidad y la persistencia.

Estas propiedades son las que facilitan la contaminación del agua, suelo y aire, unida a otros factores como los propiciados por el hombre en su afán de dominio de la naturaleza e industrialización, tal como ocurre en las siguientes formas de contaminación: ⁸

1.2.4.1 Contaminación del Agua

La contaminación de cursos y masas de agua por plaguicidas ocurre por la descarga de residuos industriales y sobrantes de agua del lavado de equipos, por su aplicación directa al agua, por el desplazamiento de plaguicidas arrastrados por las lluvias hacia los cauces, por las aplicaciones aéreas cercanas a los ríos y lagos, y por el uso indebido de estos productos como instrumentos de pesca, para mencionar sólo las formas más comunes de contaminar las aguas.

1.2.4.2 Contaminación del Suelo

La evaluación del grado de contaminación del suelo por plaguicidas es de particular importancia, debido a la transferencia de estos contaminantes a los alimentos. En el caso de la ganadería, los residuos de plaguicidas órganoclorados pasan del suelo al forraje y finalmente son absorbidos por los animales, depositándose en su grasa, aumentando así las concentraciones de residuos en la carne y la leche.

1.2.4.3 Contaminación del Aire

Los plaguicidas que tienen alta tensión de vapor, se volatilizan con facilidad durante la operación o inmediatamente después de ella. La aplicación aérea no controlada puede ocasionar la contaminación del aire de poblados próximos a zonas agrícolas y causar intoxicaciones en las poblaciones expuestas.

1.2.5 ETIQUETADO Y MANEJO DE PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son tóxicos en cada una de las etapas de su utilización, razón por la cual se debe tener especial atención a su presentación, envasado y etiquetado ya que en este se expresan las instrucciones, grado de toxicidad, forma de utilización e implementos a usar durante su uso para evitar intoxicaciones.

En estas deben estar plasmados los símbolos y pictogramas que indiquen el grado de peligrosidad. (Ver Modelo N° 1)

MODELO N° 1: MODELOS DE ETIQUETAS PARA PLAGUICIDAS

Según el Grado de Toxicidad de la OMS. ⁸

CATEGORÍA TOXICOLÓGICA	Símbolo pictográfico para cada categoría	DL50 aguda (rata): mg de formulación por kg de peso corporal			
		Por vía oral		Por vía cutánea	
		Sólido	Líquido	Sólido	Líquido
Ia EXTREMADAMENTE PELIGROSOS	 MUY TÓXICO	5 ó menos	20 ó menos	10 ó menos	40 ó menos
Ib ALTAMENTE PELIGROSOS	 TÓXICO	5-50	20-200	10-100	40-400
II MODERADAMENTE PELIGROSOS	 DAÑINO	50-500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III LIGERAMENTE PELIGROSOS	CUIDADO	500 - 2000	2000 - 3000	Más de 1000	Más de 4000
IV	PRECAUCIÓN	Más de 2000	Más de 3000		

El empleo masivo de plaguicidas químicos se acompaña de otro problema importante, el cómo efectuar la disposición adecuada de los residuos de plaguicidas y recipientes. Antes de seleccionar la mejor forma de atender esta situación es necesario precisar el tipo, cantidad y toxicidad de los desechos que se manejan.

Idealmente los plaguicidas se deberían usar para los fines que fueron elaborados pero, desafortunadamente, en la mayor parte de situaciones quedan remanentes o recipientes contaminados que hacen necesario pensar en la disposición correcta de los mismos.

La gran mayoría de plaguicidas se envasan en recipientes no retornables que se convierten en propiedad y, a la vez, en responsabilidad del comprador. Cuando estos recipientes se emplean para almacenar agua, alimentos o como utensilios de cocina, surgen problemas de intoxicación que podrían haberse evitado.

La eliminación de los plaguicidas sobrantes presenta problemas aún mayores. Se pueden evitar excedentes de plaguicidas al comprar y utilizar paquetes del tamaño óptimo para una operación de control de plagas en particular y mezclando justamente la cantidad requerida para esa aplicación.

Las opciones más importantes que se ofrecen para la disposición adecuada de los remanentes de plaguicidas son: ⁸

- **Considerar**, si el plaguicida puede utilizarse para otro de sus usos recomendados.
- **Devolverlos al Proveedor o Casa Productora:** Esta solución es aplicable a todos los tipos de plaguicidas sin discriminación de cantidades.
- **Biodegradación en el Suelo:** Algunos plaguicidas son biodegradables a través de la acción de microorganismos y procesos fisicoquímicos naturales. Se da en condiciones aerobias o anaerobias. (Ver Tabla N° 5)
- **Entierro:** Es una opción práctica y recomendable cuando se manejan pequeñas cantidades de plaguicidas sólidos. Se deben tomar todas las medidas necesarias para evitar la contaminación de los mantos freáticos. (Ver Tabla N° 5)
- **Incineración:** Es muy útil para grandes cantidades de plaguicidas. Un incinerador de alta temperatura debe tener en la llama de 900 a 1200°C, garantizar un tiempo de retención de mínimo 10 segundos y un sistema de control de la contaminación. La quema abierta de plaguicidas no es recomendada, pues la temperatura alcanza (500 a 700° C), no es suficiente para la destrucción de estas sustancias y pueden producirse sustancias aún más tóxicas. (Ver Tabla N° 5)
- **Tratamiento Químico:** Se transforma el plaguicida a una sustancia menos tóxica, para luego darle una disposición más segura. El tratamiento con álcalis como el óxido de calcio o hidróxido de sodio, es recomendado para pequeñas cantidades de plaguicidas. (Ver Tabla N° 5)

TABLA N° 5: DISPOSICIÓN DE DESECHOS DE PLAGUICIDAS
 Según Guidelines for treatment and disposal of small quantities of pesticide ⁸

PLAGUICIDA	DISPOSICIÓN DE DESECHOS
Aldicarb Carbofurán Paratión	Biodegradación Aerobia
Endrin Glifosato Maneb	Biodegradación Anaerobia
Paraquat DDT Malation Carbaril Zineb Clorinados	Incineración a: 592 – 613 ° C 500 – 850 ° C 650 – 715 ° C 678 – 724 ° C 690 – 840 ° C 900 – 1100 ° C
Carbaril Carbofurán Fenitrotión Kepone	Alcalinización con óxido de calcio o hidróxido de sodio
Methamidophos	Acidificación con ácido muriático
Clorpirifos	Oxidación con hipoclorito de sodio o hipoclorito de calcio
Aldrín (pequeñas cantidades) Cipermetrina (pequeñas cantidades)	Entierro

1.3 INSECTICIDAS ÓRGANOFOSFORADOS

Bajo esta denominación se incluyen a más de 200 sustancias químicas que se emplean principalmente como insecticidas y nematocidas. Sin embargo, algunas de ellas se utilizan como herbicidas, fungicidas, plastificantes y hasta como armas químicas en la guerra (Gases nerviosos: Sarín, Tabun. Soman).

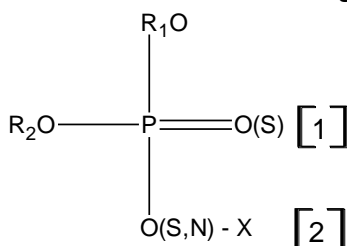
Químicamente los organofosforados son ésteres del ácido fosfórico (fósforo pentavalente) con una variedad de alcoholes, generalmente liposolubles.

Son sustancias biodegradables, poco persistentes en el medio ambiente. Son liposolubles lo que favorece su penetración al organismo, poseen baja tensión de vapor lo que los hace poco volátiles, la principal forma de degradación en el ambiente es la hidrólisis, especialmente bajo condiciones alcalinas, lo que tiene especial importancia en el proceso de destrucción del insecticida. Son altamente tóxicos para los seres humanos, lo que los hace un importante problema para la salud pública.

1.3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN

La fórmula general para estos compuestos es la siguiente: (Ver Modelo N° 2)

MODELO N° 2: Estructura General de los Órganofosforados. ¹⁶



En la que R1 y R2 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 y biológicas. ¹⁶

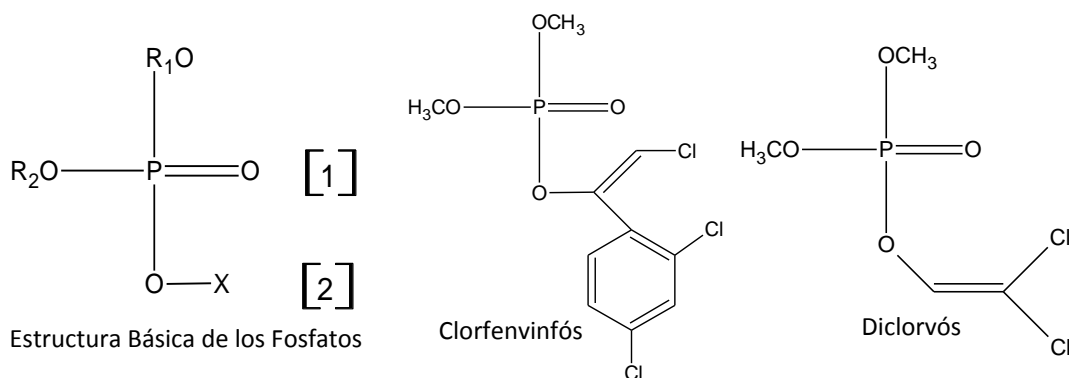
Cuando el átomo que se une al fósforo es el oxígeno en la posición [1], el compuesto se denomina OXON, y es un potente inhibidor de la enzima colinesterasa y de otras esterasas. Sin embargo, con el oxígeno en esta posición, también se favorece la hidrólisis del compuesto, en condiciones alcalinas. Para hacer estos compuestos más resistentes a la hidrólisis y por ende prolongar su vida media en el ambiente, muchos organofosforados presentan un átomo de azufre en vez del átomo de oxígeno, estos organofosforados se denominan TIONES, los tiones son inhibidores pobres de la acetilcolinesterasa, pero penetran las membranas biológicas más rápido que los oxones.

En el ambiente, los tiones se convierten en oxones por acción del oxígeno y la luz solar y en el organismo, por acción de las enzimas microsomaes del hígado. En resumen los tiones son altamente tóxicas por la habilidad de atravesar membranas y su facilidad de convertirse en oxones dentro del organismo. ⁸

Los organofosforados se pueden dividir en 14 grupos, dependiendo del elemento y la posición que ocupe en la molécula, entre los cuales los más importantes son: ¹⁷

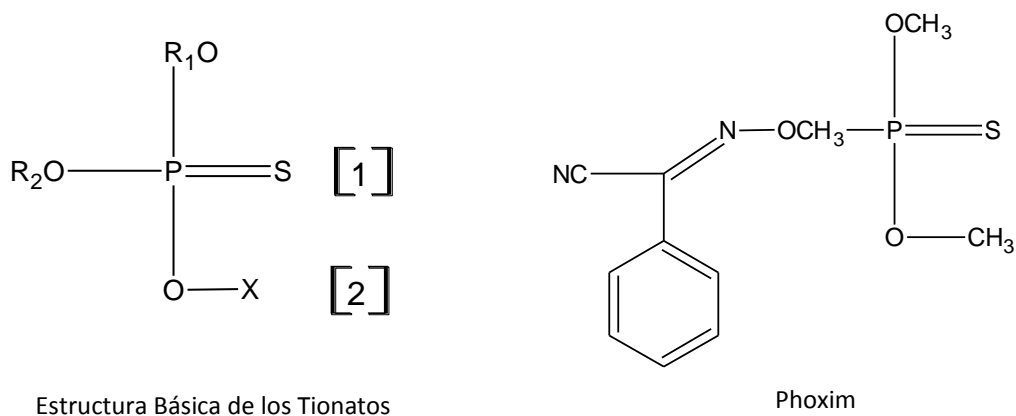
Fosfatos: Si un oxígeno (O) se ubica en las posiciones [1] y [2]. Ejemplos: Clorfenvinfós, Diclurvós. (Ver Modelo N° 3)

MODELO N° 3: Fosfatos



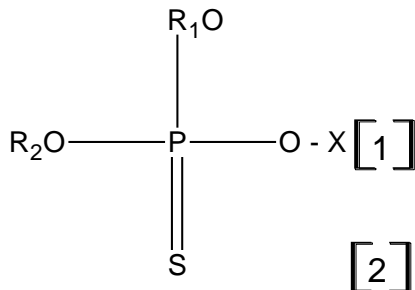
O - Fosfortioatos (Tionatos): Con un azufre (S) en [1] y un oxígeno (O) en [2]. Ejemplo: Phoxim. (Ver Modelo N° 4)

MODELO N° 4: Tionatos

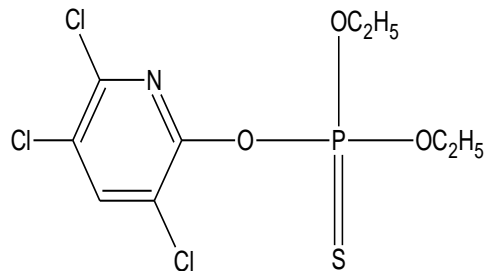


S – Fosfortioatos (Tiolatos): Con un azufre en [2] y un oxígeno en [1]. Ejemplo: Clorpyrifos, Fenthión. (Ver Modelo N° 5)

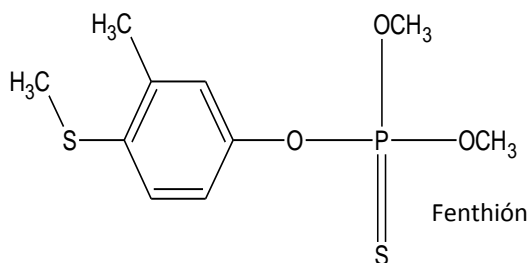
MODELO N° 5: Tiolatos



Estructura Básica de los Tiolatos



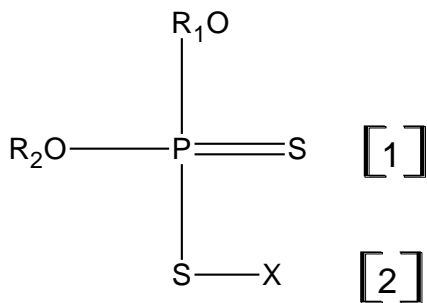
Clorpyrifos



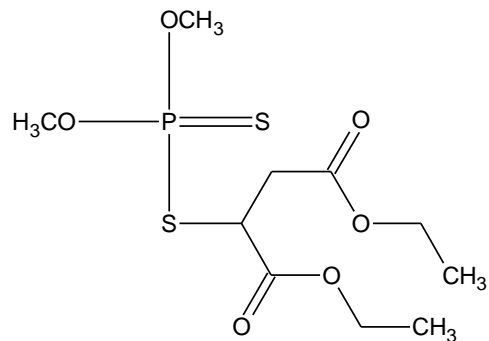
Fenthión

Fosforoditioatos (Tiolotioatos): Con un azufre en [1] y en [2]. Ejemplos: Malathion. (Ver Modelo N° 6)

MODELO N° 6: Fosforoditioatos



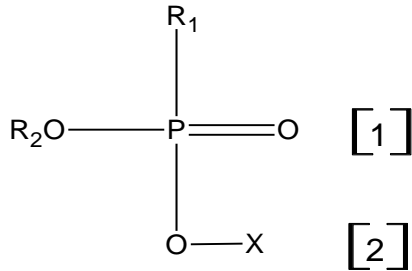
Estructura Básica de los Fosforoditioatos



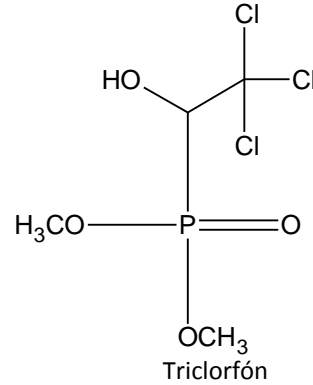
Malathion

Fosfonatos: Con R_1 (en lugar de R_1O), oxígeno o azufre en [1] y oxígeno en [2]. Ejemplos: Triclorfón. (Ver Modelo N° 7)

MODELO N° 7: Fosfonatos

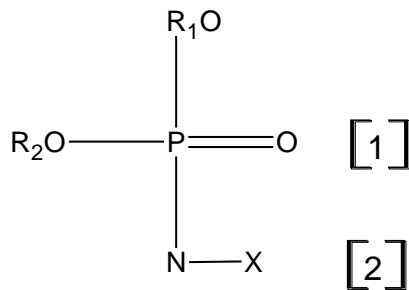


Estructura Básica de los Fosfonatos

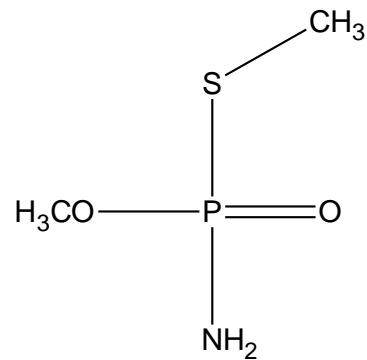


Fosforoamidatos: Con un oxígeno en [1] y un nitrógeno (N) en [2]. Ejemplo: Methamidophos. (Ver Modelo N° 8)

MODELO N° 8: Fosforoamidatos



Estructura Básica de los Fosforoamidatos



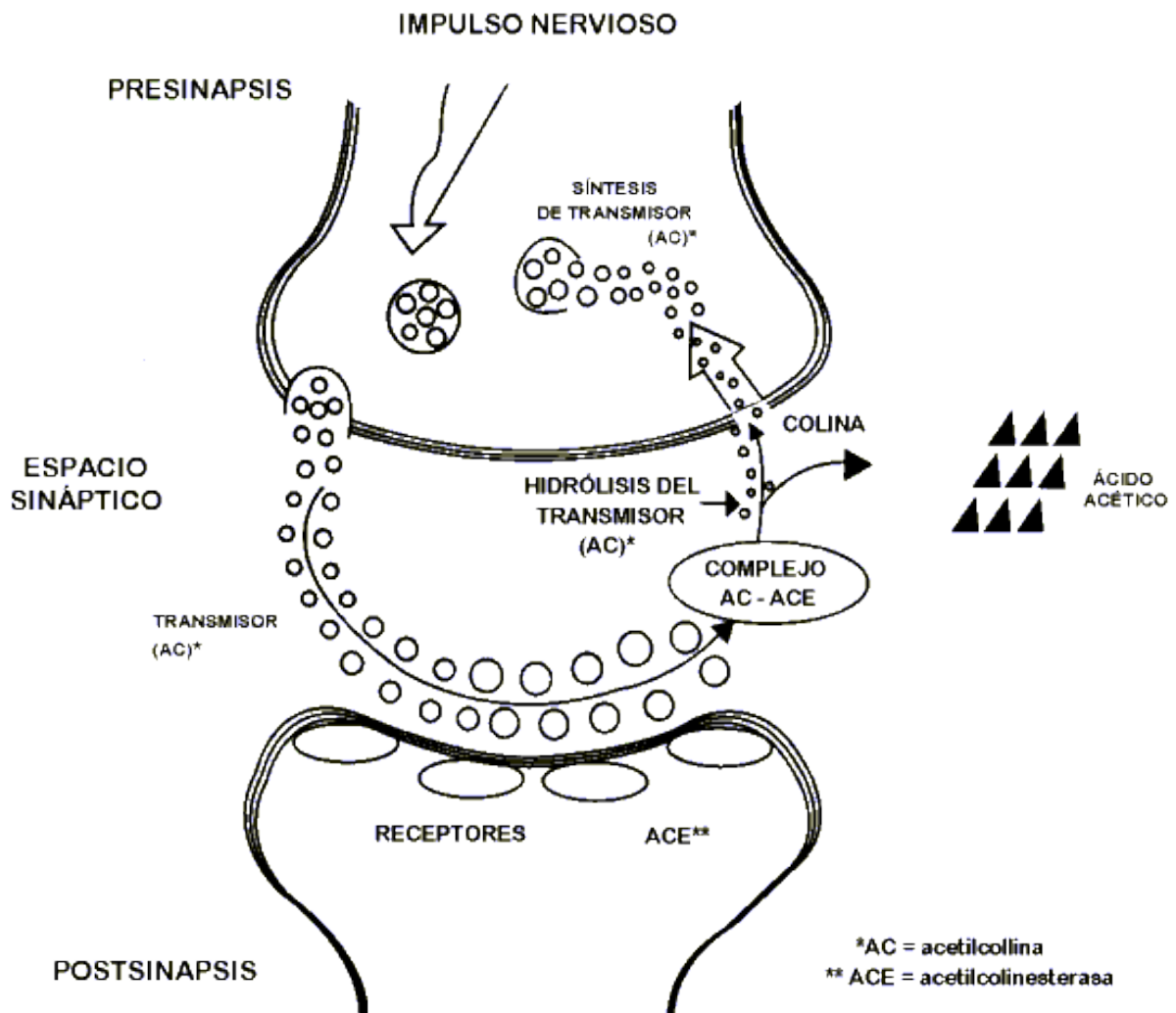
Methamidophos

1.3.2 TOXICIDAD DE LOS ÓRGANOFOSFORADOS

Los organofosforados actúan combinándose con gran afinidad con cierto tipo de esterasas (Acetilcolinesterasa), teniendo como consecuencia su inactivación, Esta reacción, en el contexto de la fisiología de sus funciones es irreversible.

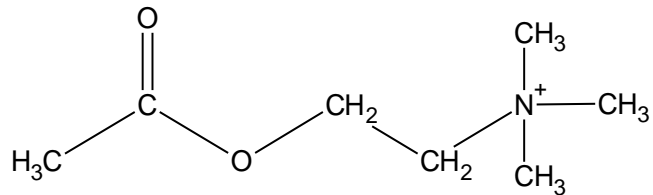
La Acetilcolinesterasa, pertenece a un tipo de proteínas especializadas conocidas como enzimas, y su función principal es la hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina sobrante en los espacios sinápticos, reacción necesaria para permitir que la neurona colinérgica retorne a su estado de reposo luego de la activación, evitando así una transmisión excesiva de acetilcolina, que produciría una sobre estimulación del músculo teniendo como consecuencia debilidad o cansancio. ¹⁸ (Ver Modelo N° 9)

MODELO N° 9: Transmisión del Impulso Nervioso en la Sinapsis Colinérgica. ¹⁹

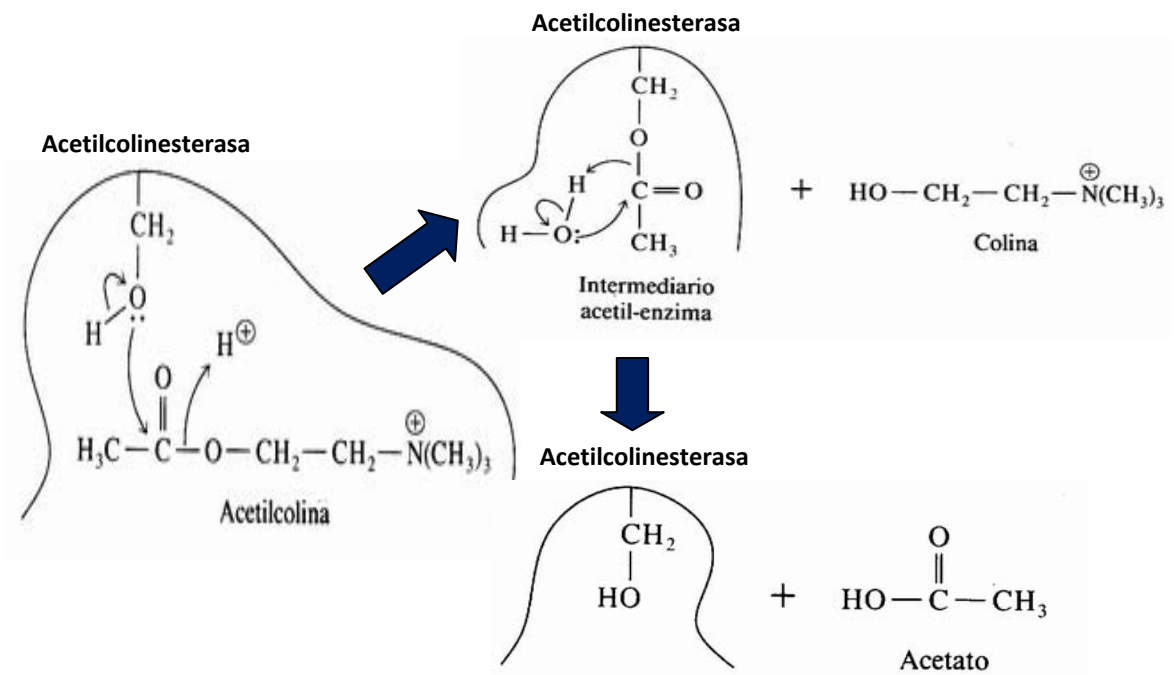


La acetilcolina es un neurotransmisor endógeno, a nivel de la sinapsis y las uniones neuronales colinérgicas en los sistemas nerviosos centrales y periféricos. La acetilcolina media el cambio de potencial de membrana para la transmisión de impulsos nerviosos, como es rápidamente hidrolizada su acción debe ser muy rápida cerca de 1/1500 segundos. La acetilcolina se hidroliza a colina y ácido acético. La colina es reciclada al interior de la neurona presináptica para volver a sintetizar acetilcolina. ¹⁹ (Ver Modelos N° 10 y N° 11)

MODELO N° 10: Neurotransmisor Acetilcolina



MODELO N° 11: Hidrólisis de la Acetilcolina por Acción de la Acetilcolinesterasa.



Hay dos tipos de enzima acetilcolinesterasa: ¹⁸

La Colinesterasa Verdadera o de tipo E: Se encuentra unida a las membranas de las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos donde no se le conoce acción fisiológica pero constituye un antígeno celular llamado Yt.

La Pseudocolinesterasa o de tipo S: También llamada butirilcolinesterasa, está presente en forma soluble en casi todos los tejidos principalmente en hígado y plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico.

Ambas enzimas son inhibidas por los organofosforados, pero la eritrocitaria es la que mejor refleja el estado de inhibición de la colinesterasa del sistema nervioso, por lo que se utiliza para evaluar el estado de intoxicación aguda de un paciente. Por otro lado, la colinesterasa plasmática o pseudocolinesterasa es la que más tarda en regenerarse, por lo que se utiliza en la evaluación de la exposición crónica.

1.3.3 TOXICOCINÉTICA DE LOS ÓRGANOFOSFORADOS

1.3.3.1 Vías De Absorción

Los organofosforados ingresan al organismo por la vía cutánea, respiratoria y digestiva.

Las dos primeras constituyen las rutas más comunes de penetración en intoxicaciones laborales, el ingreso por vía oral ocurre mediante ingestión involuntaria o accidental, la causa principal es el consumo de alimentos que hayan sido excesivamente expuestos a estos plaguicidas o intentos suicidas.

Las propiedades liposolubles de estas sustancias facilitan la penetración por las vías cutánea y mucosa respiratoria, estas ocurren en el proceso de formulación, mezclado, aplicación o almacenamiento de los plaguicidas.⁸

La toxicidad real por la vía dérmica depende de la rapidez con la que el ingrediente activo sea capaz de alcanzar la circulación general. La absorción a través de la piel no es uniforme en toda la superficie corporal para un determinado compuesto. En el caso del paratión, la absorción dérmica en distintas zonas del cuerpo humano varía desde el 0% en el arco plantar, hasta el 100% en el escroto. Entre ambas cifras están; 8.6% en la cara interna del brazo, alrededor del 33% en distintos puntos de la cara y el 63% en las axilas. ¹⁷

La temperatura ambiental elevada también favorece a la absorción cutánea, a consecuencia de un aumento de la circulación periférica en estas condiciones.

1.3.3.2 Distribución

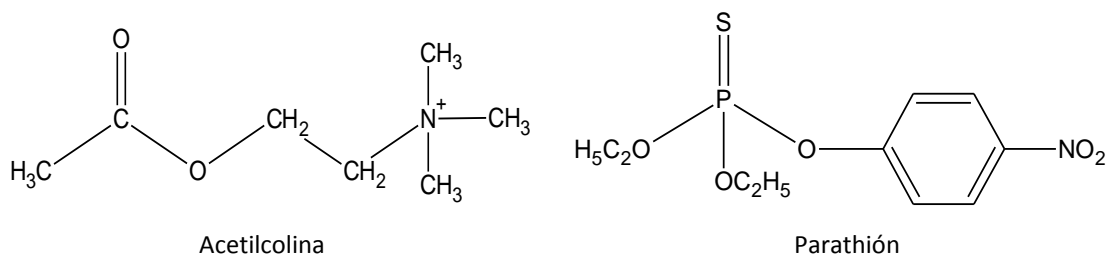
Una vez absorbidos, los organofosforados y sus metabolitos se distribuyen rápidamente por todo los órganos y tejidos, aunque las concentraciones más elevadas se alcanzan en el hígado y los riñones, antes de ser eliminados de manera prácticamente total por la orina y las heces. Poseen una corta vida media en el plasma y un elevado volumen de distribución.

No obstante, los compuestos más lipofílicos pueden almacenarse en pequeña proporción en los tejidos grasos y el tejido nervioso, dada su riqueza en lípidos, de donde pueden ser posteriormente liberados, produciendo toxicidad crónica por bioacumulación. ¹⁷

1.3.3.3 Mecanismo de Acción

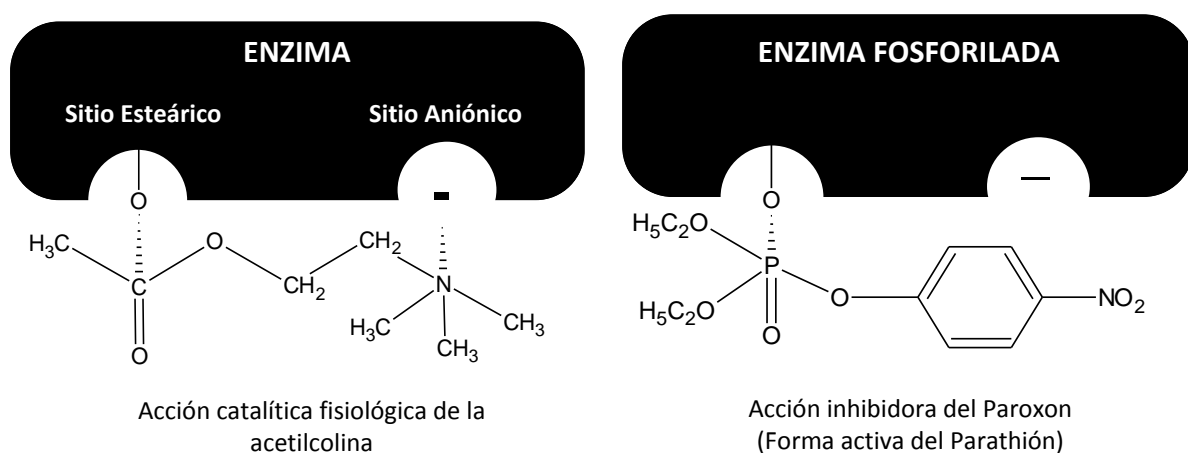
La enzima colinesterasa posee un centro activo con dos sitios reactivos: Un sitio **aniónico** (que sirve para fijar a la molécula de acetilcolina a través del catión N) y un sitio **esteárico** (responsable de la hidrólisis de la acetilcolina, así como el sitio de reacción de los órganofosforados). Ver Modelo N° 12.

MODELO N° 12: Similitudes Estructurales entre la Acetilcolina y el Parathión.



Los órganofosforados o sus metabolitos interactúan con el grupo OH de la SER (resto del aminoácido serina) del sitio activo esteárico. Se forma un intermediario de la enzima fosforilada y es la salida de estos grupos del sitio activo de la enzima lo que limita la velocidad del proceso y el consiguiente efecto tóxico. Los enlaces P-O no pueden ser hidrolizados por H₂O. ²⁵ (Ver Modelo N° 13)

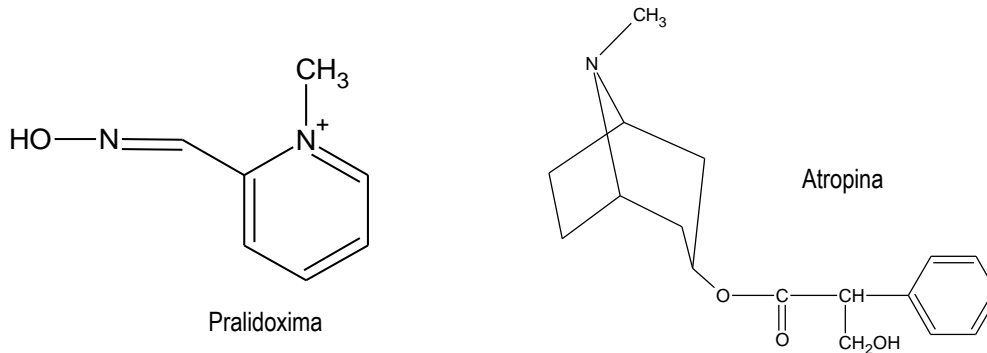
MODELO N° 13: Sitios de Acción de los Órganofosforados. ²⁰



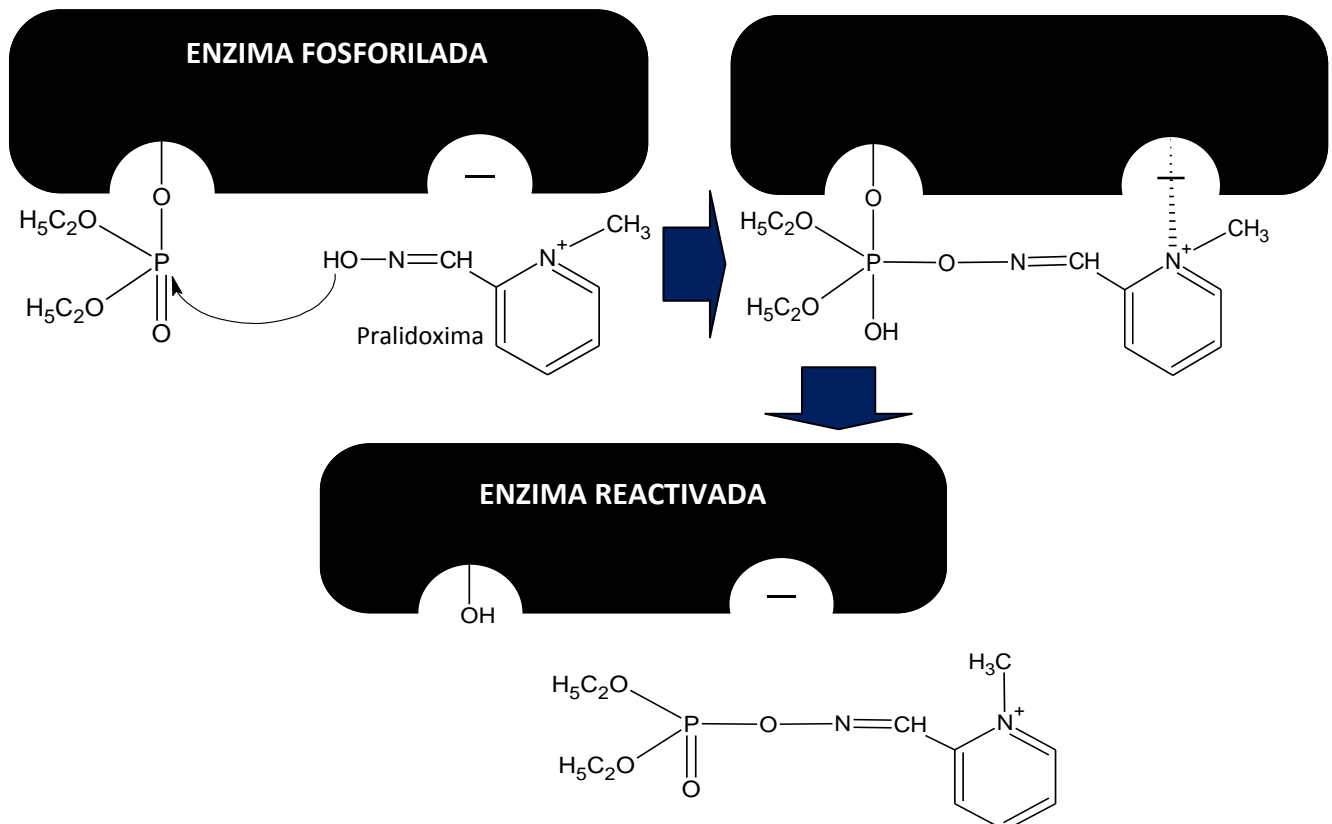
Esta unión del organofosforado con la enzima por ser un enlace covalente puede durar desde 1 hora a semanas en deshacerse, para fines fisiológicos la inactivación de una enzima por más de 24 horas ya se considera irreversible. Este proceso se llama “envejecimiento de la enzima” lo cual hace más estable la unión del organofosforado con la enzima. ²¹

Aunque el enlace de la enzima con el organofosforado es fuerte, es susceptible de ser reactivada tras la administración temprana de fármacos llamados oximas. Las enzimas pueden ser reactivadas por tratamiento con hidroxilamina o con yoduro de aldoxima de metilpiridina (PAM), que también tiene un grupo hidroxilamina. El tratamiento farmacológico se hace con atropina o con pralidoxima. ²¹ (Ver Modelos N° 14 y N° 15)

MODELO N° 14: Oximas



MODELO N° 15: Reactivación de la Acetilcolinesterasa ²¹



1.3.3.4 Metabolismo y Eliminación

Los órganofosforados son atacados por una serie de enzimas (esterasas, enzimas microsomales, transferasas) fundamentalmente en el hígado, sufriendo transformaciones químicas en pos de su eliminación.

Las esterasas son enzimas que catalizan reacciones de hidrólisis de ésteres carboxílicos (carboxiesterasas), amidas (amidases), ésteres de fosfato (fosfatasas). etc. Las esterasas A contienen un residuo de CYS en el centro activo y las B contienen un residuo de SER (la colinesterasa es de este tipo).

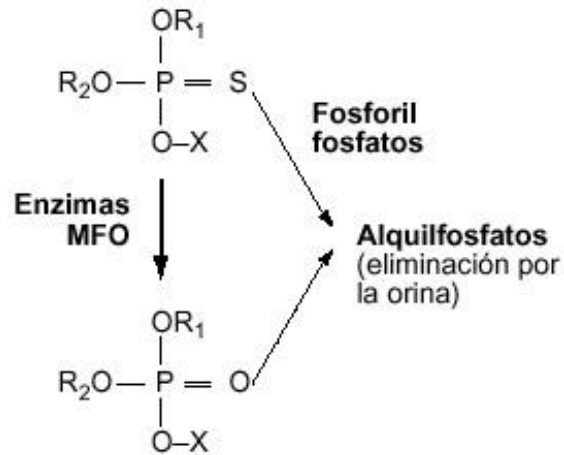
En las esterasas A, los órganofosforados interaccionan con el grupo funcional -SH del residuo de CYS del centro activo y forman un enlace P-S que es fácilmente hidrolizado por H₂O y la reacción continua, lo que las hace buenas detoxificadoras para el organismo. ²⁰

El catabolismo de los órganofosforados sigue las dos fases habituales de detoxificación de los xenobióticos en el organismo en general, las denominadas fase I y fase II.

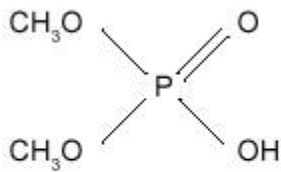
Paradójicamente, en ocasiones, el órganofosforado requiere que se metabolice antes de convertirse en un compuesto biológicamente activo, y por tanto nocivo, en el organismo. El metabolismo de estos compuestos transcurre principalmente en el hígado, y como resultado final de la transformación de la molécula se originan los “grupos salientes” que son característicos de cada órganofosforado en particular (por acción de citocromos P-450), y un total de hasta 8 alquilfosfatos diferentes (por acción de las esterasas A), que son comunes para el conjunto de los órganofosforados. (Ver Modelo N° 16)

De estos últimos, los 6 más frecuentes son los siguientes: el dimetilfosfato (DMP), dietilfosfato (DEP), dimetiltiofosfato (DMTP), dietiltiofosfato (DETP) dimetilditiofosfato (DMDTP), dietilditiofosfato (DEDTP); el dimetilfosforotiolato (DMPTh), y el dietilfosforotiolato (DEPTh) son menos frecuentes. Todos estos compuestos resultantes son solubles en agua y se eliminan por la orina y las heces.¹⁷ (Ver Modelo N° 17)

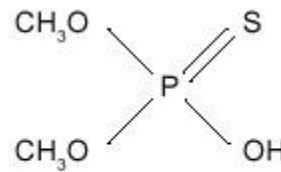
MODELO N° 16: Esquema Elemental del Metabolismo de los Órganofosforados.
MFO (Mixed Function Oxidasa)¹⁷



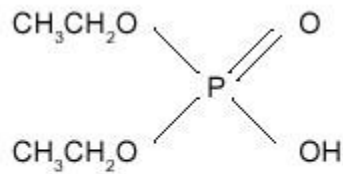
MODELO N° 17: Estructura de los Alquilfosfatos Resultantes del Metabolismo.¹⁷



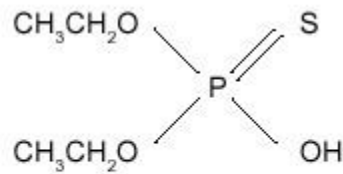
Dimetilfosfato
(DMP)



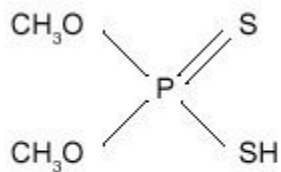
Dimiltiofosfato
(DMTP)



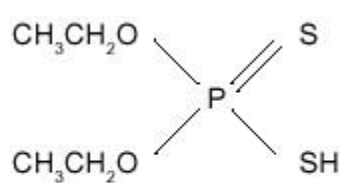
Dietilfosfato
(DEP)



Dietiltiofosfato
(DETP)



Dimiltiditiofosfato
(DMDTP)



Dietilditiofosfato
(DEDTP)

1.3.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los organofosforados pueden producir cuatro efectos tóxicos: ¹⁸

- Inhibición de la enzima colinesterasa; produciendo una sobre estimulación colinérgica, que será la que dominara el cuadro.
- Acción tóxica directa sobre distintos parénquimas, como cualquier otro tóxico xenobiótico.
- Disfunción de la placa mioneural postsináptica, dando lugar al llamado “*Síndrome Intermedio*”
- Inhibición de la enzima enterasa neurotóxica (ENT), produciendo una *Neuropatía Retardada*.

Dependiendo de la actividad de los organofosforados, los signos y síntomas pueden agruparse en tres síndromes de base colinérgica, a saber: El muscarínico, el nicotínico y el del sistema nervioso central. La distribución y severidad de los síntomas y signos varían con el grado de intoxicación, estas constituyen las que comúnmente se les denomina intoxicaciones agudas.

A continuación se presentan las siguientes tablas con los principales signos y síntomas producidos por una intoxicación con organofosforados: ^{8, 17, 19, 21} (Ver Tablas N° 6, 7 y 8)

TABLA 6: Signos y Síntomas del Síndrome Nicotínico.

SÍNDROME NICOTÍNICO	
Sinapsis ganglionares	<ul style="list-style-type: none">• Cefalea• Hipertensión pasajera• Mareo• Palidez• Taquicardia
Músculo esquelético (Placa Motora)	<ul style="list-style-type: none">• Calambres• Debilidad generalizada (incluido músculos respiratorios)• Fasciculaciones (pequeñas e involuntarias contracciones musculares visibles bajo la piel pero que no produce movimiento de miembros)• Mialgias• Parálisis flácida

TABLA N° 7: Signos y Síntomas del Síndrome Muscarínico.

SÍNDROME MUSCARÍNICO (Receptores muscarínicos principalmente en músculo liso, corazón y glándulas exocrinas)	
Ojos	<ul style="list-style-type: none"> • Dificultad de acomodación del cuerpo ciliar • Epífora (abundante secreción lagrimal) • Hiperemia conjuntival • Miosis • Visión borrosa
Membranas Mucosas	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperemia • Rinorrea
Pulmón – Bronquios	<ul style="list-style-type: none"> • Broncorrea • Cianosis • Disnea • Dolor Torácico • Espiración difícil por bronco-constricción y broncorrea • Tos
Tracto Digestivo	<ul style="list-style-type: none"> • Anorexia • Cólico • Incontinencia fecal • Diarrea • Náuseas • Sialorrea (excesiva producción de saliva) • Tenesmo • Vómito
Corazón - Vasos	<ul style="list-style-type: none"> • Bloqueo cardíaco • Bradicardia • Arritmias • Hipotensión
Vejiga	<ul style="list-style-type: none"> • Disuria (dificultad para orinar, acompañado con dolor) • Micción involuntaria
Piel	<ul style="list-style-type: none"> • Diaforesis (sudoración excesiva)
Glándulas Exocrinas	<ul style="list-style-type: none"> • Hipersecreción • Sudoración

TABLA N° 8: Signos y Síntomas del Síndrome del Sistema Nervioso Central.

SÍNDROME DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	
Sistema Nervioso Central	<ul style="list-style-type: none"> • Ansiedad • Ataxia (descoordinación de movimientos) • Babinski (Es un reflejo que ocurre cuando el dedo gordo del pie se mueve hacia la parte superior del pie y los otros dedos se abren en abanico después de que la planta del pie haya sido frotada firmemente) • Cefalea • Coma con ausencia de reflejos • Confusión • Convulsiones • Depresión • Depresión de centros respiratorio y circulatorio • Perturbación mental • Irritabilidad • Somnolencia

1.3.5 TIPOS DE INTOXICACIÓN POR ÓRGANOFOSFORADOS

1.3.5.1 Intoxicación Aguda

Son de inicio rápido, depende de la vía de absorción, la cantidad y el tipo de producto.

En una intoxicación leve: Presenta los siguientes síntomas: Debilidad, intranquilidad, mareo, cefalea, visión borrosa, epifora, miosis, sialorrea, náuseas, vómito, pérdida del apetito, dolor abdominal, espasmo bronquial moderado.

En una intoxicación moderada: Debilidad generalizada de aparición súbita sudoración, cefalea, miosis, nistagmus(movimientos involuntarios e incontrolados de los ojos, afectando ambos ojos manifestándose con una mirada fija en una determinada dirección), visión borrosa, contractura de músculos faciales, temblor de manos y otras partes del cuerpo, fasciculaciones, excitación, trastornos en la marcha y sensación de dificultad respiratoria, broncorrea, broncoconstricción, estertores crepitantes, cianosis, bradicardia, sialorrea, dolor abdominal, diarrea.

En una intoxicación severa: Temblor súbito, convulsiones tonicoclónicas generalizadas, trastornos psíquicos, intensa cianosis de las mucosas, hipersecreción bronquial, incontinencia de esfínteres, midriasis (si el paciente está hipóxico), edema pulmonar no cardiogénico, coma, muerte por falla cardíaca o respiratoria

Pronóstico de recuperación: La recuperación dependerá del grado de intoxicación y manejo temprano del paciente. Según el tipo de organofosforado pueden aparecer efectos tardíos. ⁸

1.3.5.2 Neurotoxicidad Intermedia o Síndrome Intermedio

Se inicia súbitamente 24 a 96 horas después de la intoxicación aguda.

Se presenta con debilidad y parálisis de nervios craneales. Debilidad de músculos proximales de extremidades y flexores del cuello. Debilidad y parálisis de músculos respiratorios.

Pronóstico: Recuperación en 5 a 20 días, dependiendo del manejo temprano adecuado generalmente no debería dejar secuelas. ⁸

1.3.5.3 Neuropatía Retardada

La neuropatía retardada aparece 1 a 4 semanas después de la exposición, con o sin el cuadro previo de intoxicación aguda.

Esta se debe a la fosforilación de una enzima denominada Enterasa Neurotóxica (ENT), sumada al incremento de calcio intracelular por alteración de la enzima calcio-modulina-quinasa II, parecen constituir el mecanismo de la neuropatía caracterizado por la desmielinización y degeneración axónica, evoluciona de forma retrograda y ascendente pudiendo llegar a afectar al sistema nervioso central. ²²

Se presentan calambres, sensación de quemadura y dolor sordo o punzante simétrico en pantorrillas y menos frecuente en tobillos y pies; parestesias en pies y piernas. Luego, debilidad de músculos peroneos, con caída del pie, seguida de disminución de sensibilidad al tacto, al dolor y a la temperatura en extremidades inferiores y en menor grado, en extremidades superiores y atrofia muscular.

Signo de Romberg; pérdida de reflejos aquilianos y de contractura de tobillo. Finalmente, se instala parálisis que afecta miembros inferiores, pero también puede alcanzar los superiores.

Pronóstico: Después de un adecuado tratamiento de sostén, la recuperación se puede presentar entre 6 a 18 meses, luego del inicio del déficit neurológico. En casos severos puede quedar algún tipo de secuelas ⁸

1.4 METHAMIDOPHOS

El Methamidophos es un insecticida, acaricida órganofosforado ubicado en la clasificación de la OMS como Altamente Peligroso (Ib), por lo que debe llevar las señales de Peligro – Tóxico en las etiquetas de todas sus presentaciones comerciales. Los insecticidas ubicados en esta clasificación son de uso restringido. ²³

El Methamidophos es altamente tóxico por vía oral, dérmica e inhalación. Los resultados de investigaciones en animales de prueba, por vía oral, arrojan los siguientes valores de DL50: 21 a 16mg/kg de peso para ratas albinas machos y hembras respectivamente, 30 - 50 mg/kg de peso para cerdos y 10 – 30 mg/kg de peso en conejos. Para la vía dérmica en ratas albinas los valores son de 50 mg/kg de peso. Por vía inhalatoria son de 9 mg/kg de peso en ratas.

El Límite Máximo para Residuos de Plaguicidas (LMR) para el Methamidophos en productos agrícolas crudos y de consumo directo varían, según el Codex Alimentarius, desde 0.5 ppm en el caso de los melones a 1.0 ppm en el caso del brócoli y los tomates.

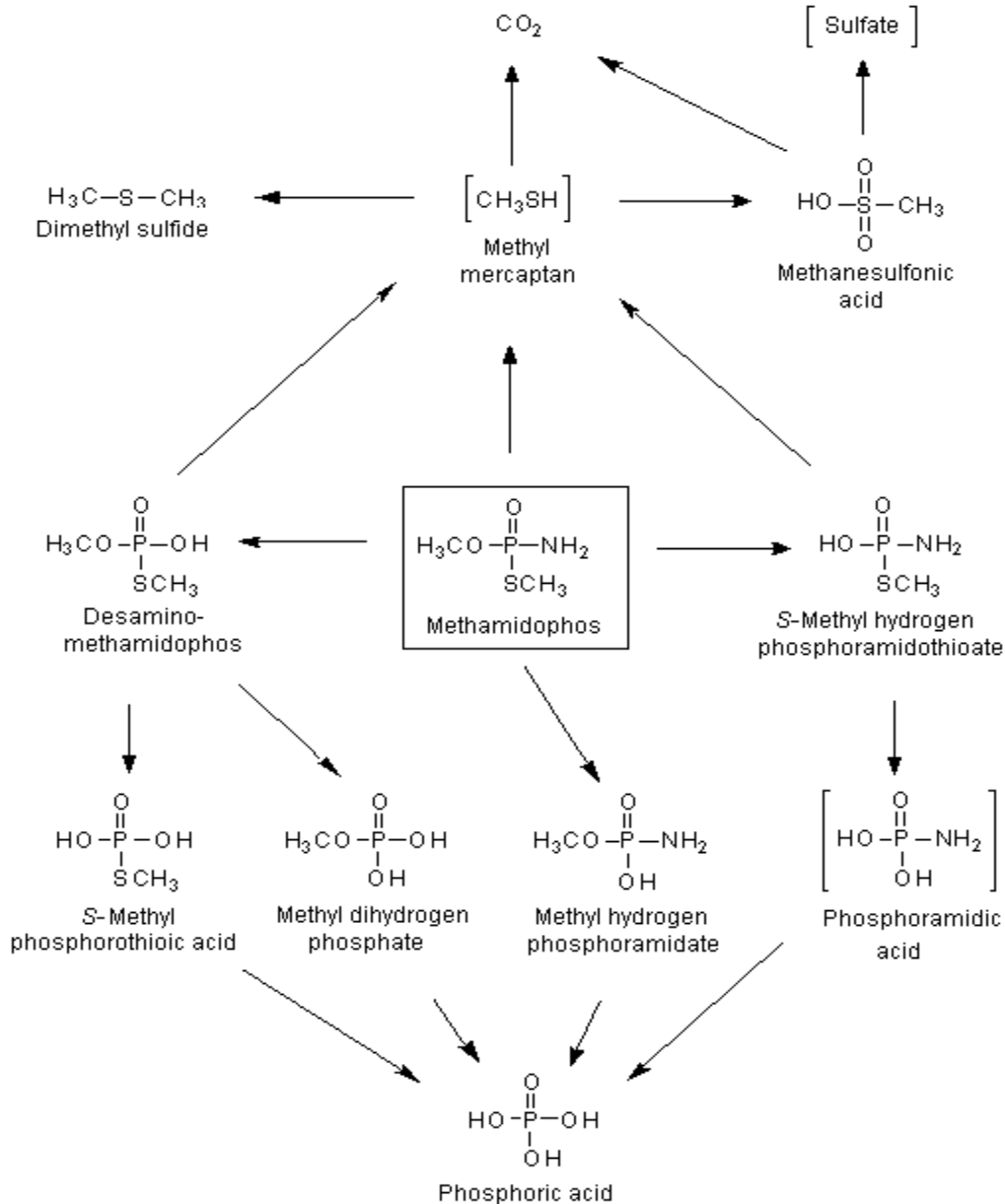
El mecanismo de acción, como todo órganofosforado, es inhibiendo a la enzima colinesterasa enzima esencial en la transmisión nerviosa.

En los organismos es rápidamente metabolizado en los sistemas microsomales, las cuales rompen los enlaces P–N transformándolo en O, S-dimetil fosforotioato y amoniaco. Luego ocurren las desmetilaciones primero en el enlace P-S y luego en el enlace P-O para finalmente liberar ácido fosfórico. En el Modelo N° 18 se muestra las rutas metabólicas para el Methamidophos y sus metabolitos.²⁵

Las formulaciones disponibles en el comercio incluyen el concentrado soluble, concentrado emulsivo, polvo mojable, gránulos, aerosol de aplicación directa (baja concentración) y aerosol concentrado miscible en agua (para dilución). ²³

Todos los desechos y materiales contaminados asociados con esta sustancia química se consideraran “*desechos peligrosos*”. Los materiales deberán eliminarse mediante incineración en una instalación especial a altas temperaturas, los sobrantes de insecticida deberán acidificarse con ácido muriático para su posterior incineración, esta sustancia se descompone en gases tóxicos e irritantes que incluyen a los óxidos de nitrógeno, óxidos de azufre y óxidos de fósforo. (Ver Tabla N° 5)

MODELO N° 18: Ruta Metabólica del Methamidophos y sus Metabolitos ²⁵



Es compatible con muchos otros pesticidas, pero no se utiliza con materiales alcalinos. Es ligeramente corrosivo al acero y a las aleaciones de cobre. Este compuesto es altamente tóxico para mamíferos, aves y abejas.

No se debe utilizar las aéreas tratadas para consumo del ganado, y por seguridad utilizar la ropa protectora impermeable además los siguientes implementos: respiradores, anteojos de seguridad y guantes de goma, recomendados en *Las directrices para la protección de las personas que manipulan plaguicidas en climas tropicales* (FAO-1990) ²⁴

1.4.1 BIODEGRADACIÓN AMBIENTAL

Cuando el Methamidophos es liberado en la atmósfera puede encontrarse como vapor o unido a partículas. El vapor es degradado mediante reacciones con radicales libres (vida media de 12 horas), mientras que las partículas se depositan con la lluvia y el polvo.

Es poco persistente en el ambiente. Su vida media en los suelos varía según el tipo en la que se encuentra así tenemos un valor de 1.9 días en limo (mezcla de arcilla y arena fina, sedimento transportado por los ríos), 4.8 días en suelo franco (suelo arcilloso), 6.1 días en arena y 10 a 12 días en suelo franco arenoso. Es altamente móvil en los suelos, sobre todo en los arenosos y por ello puede lixiviar hasta aguas subterráneas, pero no se acumula en ellos aún después de aplicaciones repetidas. Los productos de degradación en el suelo son el CO₂, mercaptán, sulfuro de dimetilo y disulfuro de dimetilo. ²³

Por su parte, su vida media en aguas alcalinas (pH 9) es de 3 días, pero puede prolongarse a 27 días en aguas neutras (pH 7) y 309 días en aguas medianamente ácidas (pH 5). Es susceptible a la fotólisis directa en suelo y agua, pero en este último medio suele ser lenta (vida media de 87 días). Debido a su baja persistencia, su potencial de bioacumulación es bajo. Las plantas pueden absorber este compuesto a través de sus raíces y hojas. ²³

Su biodegradación se ve acelerada en presencia de radiación solar, un ejemplo de ello es la reducción de la vida media en el agua a pH 5 de 309 días a solamente 90 días.

1.4.2 BIOACUMULACIÓN EN ALIMENTOS

El Methamidophos tiende tendencia a acumularse en raíces, hojas y frutos, pero son degradados por las bacterias presentes en el suelo, en las hojas y la superficie de los frutos, así como los sistemas enzimáticos propios de la planta mediante de hidrólisis con la pérdida del grupo amino, S-metil y el grupo O-metil.

En la planta del tomate se acumula principalmente en los frutos y hojas teniendo una vida media de 4.8 a 5.1 días y 5.5 a 5.9 días respectivamente. ²³

1.4.3 ECOTOXICIDAD

A continuación se detallan los efectos en algunos organismos: ²³

El Methamidophos es moderadamente tóxico en organismos acuáticos, las concentraciones letales medias (CL50) en agua van desde los siguientes rangos:

- Trucha arco iris: 25 – 51 mg/L
- Pez Rojo: 46 mg/L
- Carpa: 100 mg/L

- Pez Dorado: 100 mg/L
- Los Crustáceos marinos y de río son extremadamente sensibles al Methamidophos, concentraciones por debajo de 0.22 ng/L son letales para sus larvas.
- En Algas: 86 mg/L

Altamente tóxica en aves:

- Codorniz: 8 – 11mg/Kg
- Gallina: 29.5 – 10.25 mg/kg

Es altamente tóxica en abejas, un estudio de campo de los efectos del Methamidophos en abejas durante la polinización de la alfalfa demostró que el químico reduce severamente la actividad de las abejas por un prolongado periodo de tiempo luego de la aplicación.

1.4.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS ²³

- **Aspecto:** Solido cristalino, con color amarillento y olor acre.
- **Nombre Químico:** O, S-Dimetil-Fosfamidoato.
- **Peso Molecular:** 141.12
- **Solubilidad en agua:** 90 g/L a 20°C
- **Solubilidad en otros solventes:** Sumamente soluble en alcoholes (isopropanol) y cetonas, soluble en éter, éter de petróleo, diclorometano, hexano y tolueno.
- **Punto de Fusión:** 112 °F; 44,5 °C
- **Presión de Vapor:** 4 mmHg a 30°C

1.4.5 NOMBRES COMERCIALES

Monofós
Monitor
Tamaron
Filitox
Tamanox
Aniquilador 600
Metamido Glex
Thodoron
S-Kemata 600
Medfos 60

Metamidofos Estrella
Methamidophos 60 WSC
Methedrin 60
Morithion
Red Star Alloran
Sherman
Matador
Q'Mata 600
Mhetacross 600 SL

1.4.6 USOS

La concentración común para Methamidophos en los productos comerciales es de 600 g/L. Se procede a preparar agregando agua hasta la mitad del tanque de la mezcla o del depósito del equipo con los agitadores encendidos y luego aplicar la cantidad indicada de Methamidophos para cada plantación y la plaga a combatir según la tabla N° 9. Se vuelve a repetir la aplicación en cuanto se evidencie la reaparición de la plaga.

Solo se podrá ingresar a las áreas tratadas pasadas las 24 horas de la aplicación. Los periodos de carencia, en días, varían dependiendo del tipo de cultivo y están indicadas entre paréntesis, siendo estos los días entre la última aplicación y la cosecha asegurando que los niveles de Methamidophos y sus residuos sean los más bajos posibles a la hora de la comercialización y consumo.

TABLA N° 9: Principales Usos y Plagas Controladas por Methamidophos.

CULTIVO	PLAGA	DOSIS L/Ha
Algodonero (50)	Chinche lygus <i>Lygus</i> spp. Chinche rápida <i>Creontiades</i> spp . Pulga saltona negra <i>Spanagonicus albofasciatus</i> Chinche manchadora <i>Dysdercus</i> spp. Conchuela <i>Chlorochroa ligata</i> Conchuela verde <i>Nezara viridula</i> Conchuela café <i>Euschistus servus</i>	1.0
	Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano medidor del algodón <i>Alabama argillacea</i> Gusano Peludo <i>Estigmene acrea</i>	1.0 – 1.5
	Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci</i> y <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	1.0
	Trips <i>Frankliniella</i> spp. Pulgón <i>Aphis gossypii</i>	0.75
	Araña roja <i>Tetranychus</i> sp.	1.0 – 2.0
Berenjena (14)	Pulgón myzus <i>Myzus persicae</i>	1.0
	Gusano del fruto <i>Helicoverpa zea</i>	1.0 – 1.5
	Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i>	1.0

CONTINUACIÓN DE LA TABLA N° 9

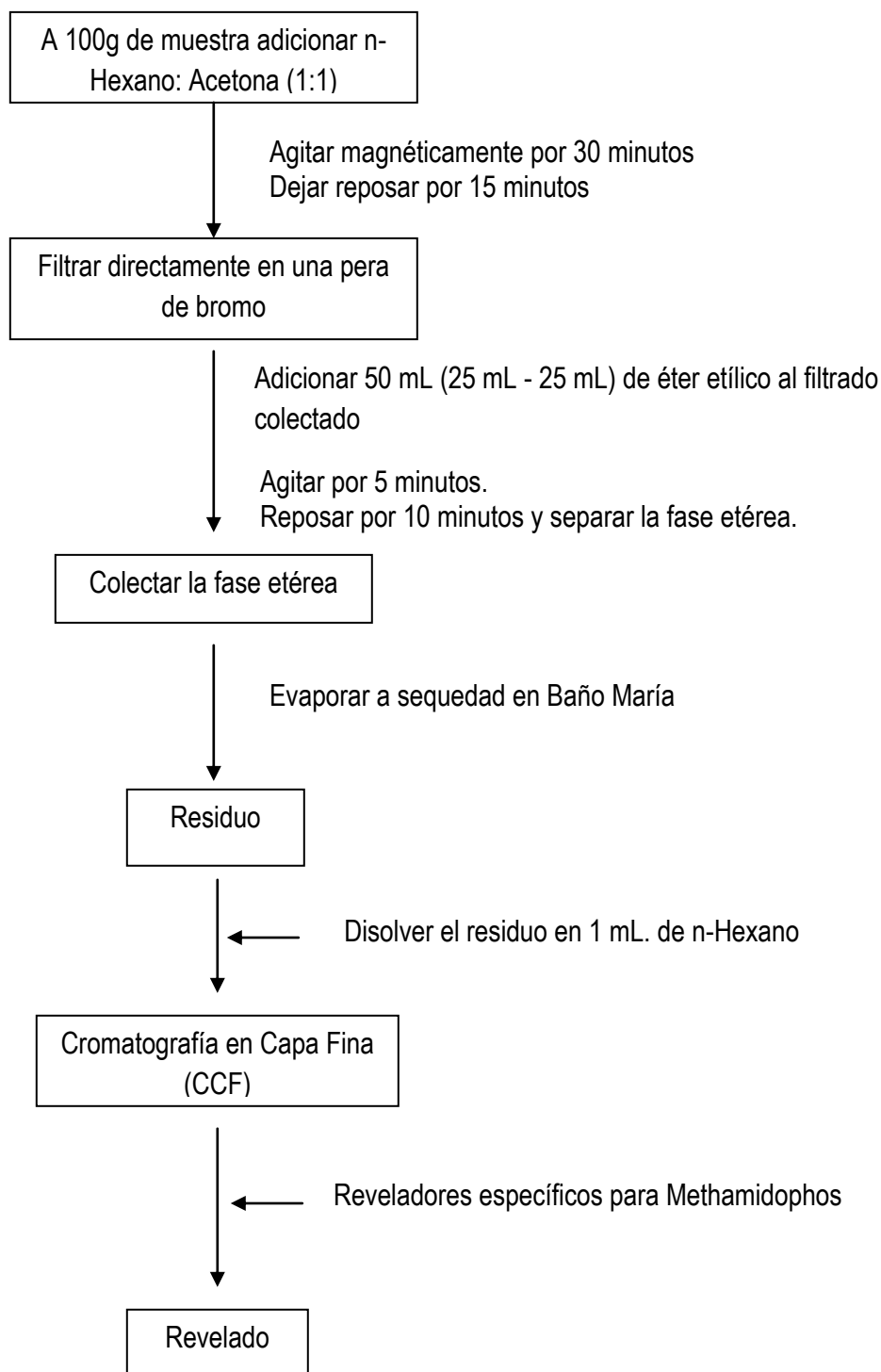
Brócoli (14)	Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano del corazón de la col <i>Copitarsia consueta</i> Palomilla dorso de diamante <i>Plutella xylostella</i> Chinche arlequín <i>Murgantia histrionica</i>	1.0 – 1.5
	Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Pulgón de la col <i>Brevicoryne brassicae</i> Pulga saltona <i>Phyllotreta</i> spp.	1.0 – 1-5
	Mariposa blanca de la col <i>Artogeia rapae</i> , <i>Leptophobia aripa</i>	1.5
Col (35)	Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Pulgón de la col <i>Brevicoryne brassicae</i> Mariposa blanca de la col <i>Artogeia rapae</i> , <i>Leptophobia aripa</i>	1.0 – 1.5
Col de Bruselas (14)	Gusano del corazón de la col <i>Copitarsia consueta</i> Palomilla dorso de diamante <i>Plutella xylostella</i> Chinche arlequín <i>Murgantia histrionica</i>	1.0
Coliflor (28)		
Duraznos (14)		
Cerezas (14)	Pulgón verde del duraznero <i>Myzus persicae</i>	3.0
Tomate (10)	Minador de la hoja <i>Liriomyza munda</i> Pulga saltona <i>Epitrix</i> spp. Chinche pequeña del tomate <i>Cyrtopeltis notatus</i> Pulga negra <i>Halticus</i> spp. Arañuela Roja Comun <i>Tetranychus urticae</i> Trips <i>Caliothrips phaseoli</i> <i>Frankliniella</i> spp.	1.0 – 1.5
	Gusano del fruto <i>Helicoverpa zea</i> Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano del cuerno <i>Manduca quinquemaculata</i> <i>M. sexta</i> Pulgón amarillo <i>Myzus persicae</i>	1.0
	Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci</i> y <i>Trialeurodes vaporariorum</i> Pulgones <i>Aphis</i> spp.	0.75
Lechuga (14)	Pulgón myzus <i>Myzus persicae</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i>	1.0
	Pulgones <i>Aphis</i> spp.	0.75

CONTINUACIÓN DE LA TABLA N° 9

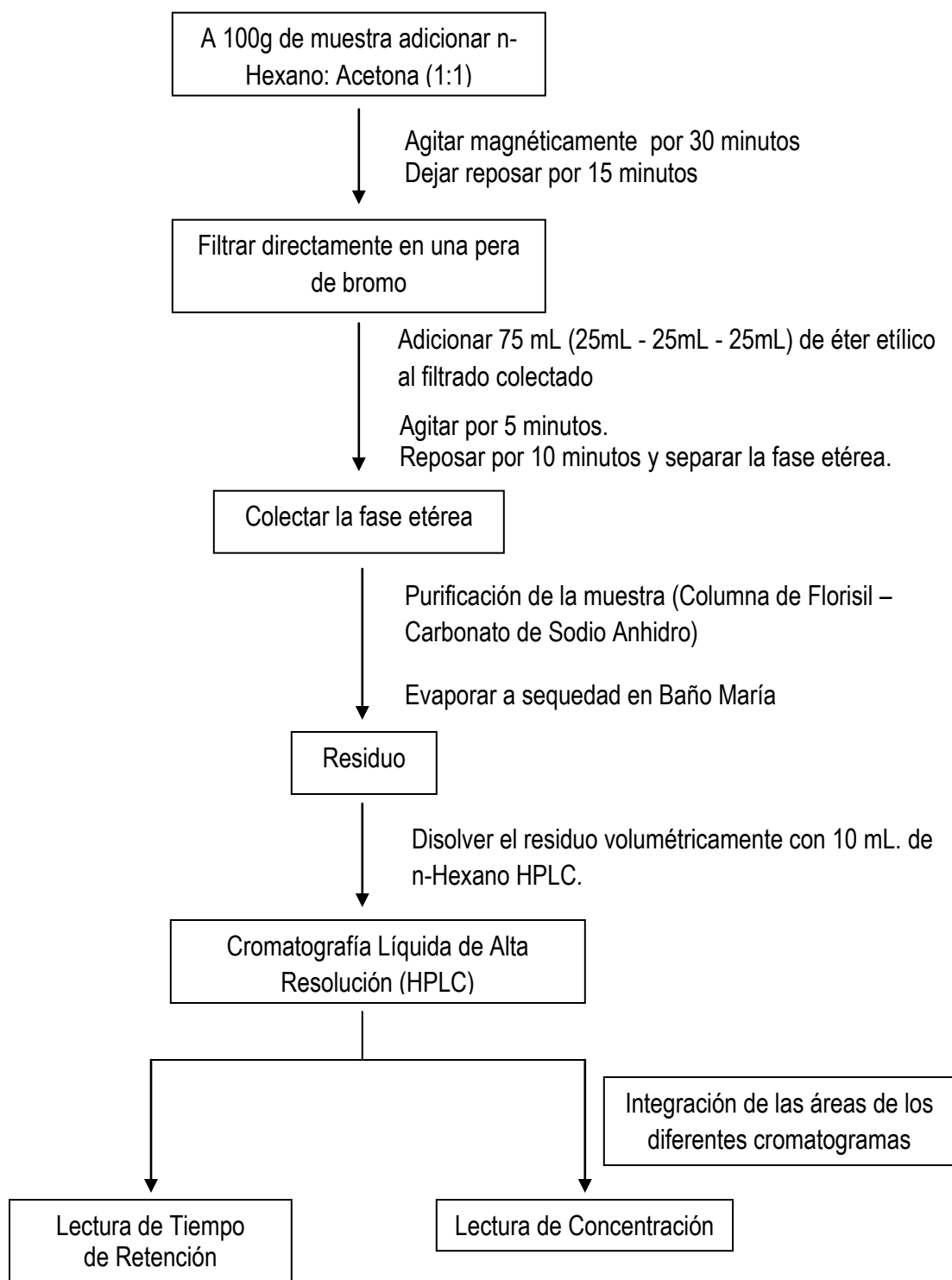
<p>Melón (7)</p>	<p>Minador de la hoja <i>Liriomyza</i> sp. Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci Trialeurodes vaporariorum</i> Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano peludo <i>Estigmene acrea</i> Pulgón del melón <i>Aphis gossypii</i> Diabrotica <i>Diabrotica</i> spp Barrenador del fruto <i>Diaphania nitidalis</i> Gusano del fruto <i>Helicoverpa zea</i> Pulga saltona <i>Epitrix</i> spp.</p>	<p>1.0</p>
<p>Papa (14)</p>	<p>Pulgón myzus <i>Myzus persicae</i> Palomilla de la papa <i>Phthorimaea operculella</i> Catarinita de la papa <i>Leptinotarsa undecemlineata</i> Mosquita blanca <i>Trialeurodes vaporariorum</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i></p>	<p>1.0 – 1.5</p>
	<p>Pulgón <i>Macrosiphum solanifolii</i></p>	<p>1.0</p>
<p>Pepino (7)</p>	<p>Minador de la hoja <i>Liriomyza</i> sp Gusano peludo <i>Estigmene acrea</i> Pulgón del melón <i>Aphis gossypii</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Pulga saltona <i>Epitrix</i> spp</p>	<p>1.0 – 1.5</p>
	<p>Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Barrenador del fruto <i>Diaphania hyalinata</i> Gusano del fruto <i>Helicoverpa zea</i></p>	<p>1.0</p>
	<p>Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci</i> y <i>Trialeurodes vaporariorum</i></p>	<p>1.5</p>
<p>Sandia (7)</p>	<p>Minador de la hoja <i>Liriomyza</i> sp Mosquita blanca <i>Bemisia tabaci Trialeurodes vaporariorum</i> Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano soldado <i>Spodoptera exigua</i> Barrenador del fruto <i>Diaphania nitidalis</i> D. <i>hyalinata</i></p>	<p>1.0</p>
	<p>Pulgón del melón <i>Aphis gossypii</i></p>	<p>0.75</p>
<p>Soja (30)</p>	<p>Isoca Medidora <i>Rachiplusia nu</i></p>	<p>0.8</p>
	<p>Barrenador del brote <i>Epinotia aporema</i></p>	<p>1.0 – 1.4</p>
	<p>Chinche verde <i>Nezara viridula</i></p>	<p>0.8</p>
<p>Ornamentales (Sin Limite)</p>	<p>Mosquita blanca <i>Bemisia</i> spp Gusano falso medidor <i>Trichoplusia ni</i> Gusano soldado <i>Spodoptera</i> spp</p>	<p>125 ml.</p>

II. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO REALIZADO PARA LA DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE RESIDUOS DE METHAMIDOPHOS EN TOMATES



2.2 ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO REALIZADO PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE RESIDUOS DE METHAMIDOPHOS EN TOMATES



2.3 TOMA DE MUESTRA

- La toma de muestra se realizó el día 02 de julio del 2009
- Las muestras fueron tomadas de forma aleatoria.
- Se tomaron un total de 25 muestras de tomates que estaban a la venta en los mercados mayoristas: La Parada, Manzanilla y Tres de Febrero y minoristas: Mercado N° 1- SJL y Mercado Ceres- Ate; de la ciudad de Lima.
- Se tomaron 5 muestras de cada mercado, cada una de 1,0 Kg. de peso, correspondiente a 5 puntos de venta diferentes en cada mercado.
- Se envasaron en bolsas de polietileno y se transportaron al laboratorio para los análisis.

2.4 MÉTODOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE METHAMIDOPHOS

- Determinación Cualitativa de METHAMIDOPHOS por Cromatografía en Capa Fina (CCF) ^{11 12 26}
- Determinación Cuantitativa de METHAMIDOPHOS por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) ²⁶

2.4.1 DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE METHAMIDOPHOS POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF) ^{11 12 26}

2.4.1.1 METODOLOGIA

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los insecticidas órganofosforados se separan y desplazan en una dirección predeterminada por medio de un material sólido insoluble inorgánico: silicagel G 60 como fase estacionaria y como fase móvil la mezcla de n-hexano: acetona: alcohol isopropílico los cuales van a migrar a través de la superficie de la placa.

La fase móvil va arrastrar a los insecticidas órganofosforados por un proceso de reparto múltiple que se da en toda sustancia de mediana o baja polaridad como es el caso de los insecticidas organofosforados.

La sensibilidad del método de cromatografía de capa fina (CCF) es de 0.5 microgramos. ¹²

2.4.1.2 MATERIALES, EQUIPOS, ESTÁNDAR Y REACTIVOS

MATERIALES DE LABORATORIO

- Beaker de 50, 100 mL.
- Pipetas de 2, 4, 5, 10 mL.
- Cronómetro
- Pera de bromo de 250 mL. y 500 mL.
- Rayador
- Matraz de vidrio con tapa esmerilada de 250 mL.
- Embudo de vidrio
- Probetas de 50 mL., 100 mL.
- Capilares de vidrio para CCF
- Papel filtro Wathman N° 2 de 12 cm. x 12 cm.
- Placas cromatográficas de silicagel G -60 Merck de 20 x 20 cm.
- Cuba cromatográfica
- Baguetas
- Atomizador

EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza marca Mettler Toledo, modelo XS
- Baño María
- Campana extractora
- Refrigerador

ESTÁNDAR SECUNDARIO

- Methamidophos (Monofós 60g/dL)

REACTIVOS

- Acetona p.a.
- n - Hexano p.a.
- Éter etílico p.a.
- Bicloruro de Paladio p.a.
- Alcohol Isopropílico p.a.
- Verde brillante Q.P.
- Acido Clorhídrico 2N
- Fast Blue p.a.
- Hígado de vaca
- Tricloruro de fierro
- Agua desionizada

PREPARACIÓN DE REACTIVOS REVELADORES ²⁶

- *Bicloruro de Paladio*: Pesar 250mg de bicloruro de paladio (PdCl₂) colocar en una fiola de 50 mL y enrasar con agua, agregando de II – IV gotas de HCl 2N. Agitar para disolver a fuego lento.
- *Verde brillante*: Pesar 500 mg de verde brillante, trasvasarlos a una fiola de 100 mL y enrasar con acetona.
- *Reactivo bioquímico*: Tomar 100g de hígado de vaca, llevarlo a un beaker de 250 mL, triturar el hígado con una bagueta en 200 mL de agua destilada hasta obtener una solución.
- *Mezcla de tricloruro de fierro al 0.1 %* en etanol

2.4.1.3 MÉTODO OPERATORIO

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: Se procedió a triturar los tomates previamente lavados, se pesó aproximadamente 0,1 Kg de la muestra triturada, sin registrar los pesos.

EXTRACCIÓN: Se llevó la muestra pesada a un matraz de tapa esmerilada de 250 mL adicionando 100 mL de la mezcla n-hexano: acetona en una proporción de 1:1; las muestras se agitan magnéticamente durante 30 minutos y se deja en reposo por 15 minutos. Luego se filtra directamente sobre una pera de bromo de 250 mL con ayuda de embudo y papel Whatman N° 2 de 12 cm x 12 cm. Inmediatamente se adiciona 25 mL de éter etílico a la pera de bromo, se tapa y agita por 5 minutos se deja en reposo por 10 minutos y se colecta la fase etérea en un beaker de 100 mL, se repite la extracción con otros 25 mL de éter etílico.

CONCENTRACIÓN: La fase etérea colectada se evapora a sequedad en baño María a 50 °C, hasta obtener un residuo.

Se disuelve el residuo con 1,0 mL de n-hexano, el cual es sembrado con la ayuda de un capilar de vidrio en la placa de silicagel.

PREPARACIÓN DEL ESTANDAR: Se hace una extracción de forma similar al de la muestra a 5,0 mL de Monofós 60 g/dL (Methamidophos) y al residuo se disuelve con 10 mL de n-hexano. Se procede a realizar la siembra en la placa de silicagel.

FASE ESTACIONARIA ²⁶

Se emplearon placas cromatográficas de silicagel G-60 Merck de 20 x 20 cm

FASE MÓVIL

n-hexano: acetona: alcohol isopropílico (5 : 3 : 0,5)

REVELADORES

- Biclouro de Paladio al 1%
- Verde brillante
- Mezcla de tricloruro de Fe al 0.1% en etanol
- Prueba Bioquímica: Extracto de hígado de vaca con fast blue.

2.4.1.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los reactivos reveladores atomizados sobre la placa generan manchas claramente diferenciadas tanto como para el estándar y las muestras sembradas. (Ver Cuadro N° 1)

Los resultados se expresan en términos de presencia (Positivo) o ausencia (Negativo) para Methamidophos; se comparan las manchas y los valores de Rf de las muestras frente al estándar analizado, dando positivo para las 25 muestras analizadas. (Ver Cuadro N° 2)

2.4.2 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE METHAMIDOPHOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) ²⁶

2.4.2.1 METODOLOGÍA:

FUNDAMENTO

La separación del analito a cuantificar se da por su afinidad a la fase móvil o a la fase estacionaria (columna cromatográfica), detectado a una determinada longitud de onda (210 nm) ²⁶

2.4.2.2 MATERIALES, EQUIPOS, ESTÁNDARES Y REACTIVOS

MATERIALES DE LABORATORIO

- Beaker de 50, 100, 200 mL.
- Pipetas de 2, 4, 5, 10, 15 mL.
- Cronómetro
- Pera de bromo de 250 mL
- Rayador
- Matraz de vidrio con tapa esmerilada de 250 mL.
- Embudo de vidrio
- Probetas de 50 mL., 100 mL.
- Papel filtro Whatman N° 2 de 12 cm. x 12 cm.
- Baguetas
- Columna para purificar (Florisil)
- Filtros PVDF (0,45 µm)

EQUIPO DE LABORATORIO

- Equipo HPLC marca LACHROM-HITACHI, modelo ELITE de Merck S.A.
- Columna Cromatográfica, Lichrospher 100 RP-8 MERCK (125 x 4.6 mm)
- Balanza Analítica, METTLER TOLEDO de 0,01 mg. de sensibilidad
- Campana extractora
- Refrigerador
- Baño María

ESTÁNDAR SECUNDARIO

- Methamidophos (Monofós 60g/dL)

REACTIVOS

- n-Hexano p.a.
- n-Hexano HPLC
- Acetona p.a.
- Éter etílico p.a.
- Agua purificada
- Acetonitrilo HPLC

2.4.2.3 MÉTODO OPERATORIO

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR:

Dentro de la campana extractora se toma cuantitativamente 4 mL de Monofós al 60g/dL (Methamidophos), se lava la fiola de 100 mL. y se enraza con agua purificada. Agitar mecánicamente por 5 minutos, luego tomar 10 mL y llevar hacia un beaker de 50 mL; adicionar 10 de la mezcla n-hexano : acetona (1:1), agitar magnéticamente por 20 minutos y filtrar hacia una pera de bromo de 150 mL con ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro Whatman N° 2, lavar el beaker y papel con 10 mL de la mezcla n-hexano : acetona. Realizar 3 extracciones sucesivas con 25 mL de éter etílico y colectar la fase etérea en un beaker de 100 mL.

Purificación del Estándar: La fase etérea colectada se hace pasar por una columna de carbonato de sodio anhidro seguido de una columna de florisil y por ultimo otra columna de carbonato de sodio anhidro (4, 5 y 4 cm. respectivamente) hacia un beaker de 150 mL y se lava la columna con 50 mL de n-hexano. La solución purificada se evapora a sequedad a 60° C en Baño María. El residuo se reconstituye cuantitativamente con 10 mL de n-hexano HPLC, se sonica por 5 segundos y se agita por 5 segundos más; se toma 5 mL de la solución y se lleva a fiola de 50 mL con n-hexano HPLC, se homogeniza y se realiza otra dilución de 5 en 50 mL con n-hexano HPLC. Se homogeniza y se filtra por filtros PVDF en viales de HPLC, se tapan los viales herméticamente y se inyectan al HPLC.

Factor de dilución del estándar: $100 \times \frac{50}{5} \times \frac{50}{5} = 10\ 000$

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

Se procede de la misma forma como para la determinación cualitativa, señalado en el punto 2.4.1.3 (Preparación de la muestra: Extracción), excepto que ahora se realiza 3 extracciones con 25 mL de éter etílico c/u, colectando la fase etérea en un beaker de 100 mL (en este punto es importante tener el peso exacto de cada muestra para los cálculos finales, Ver Anexo 12: Voucher de pesos).

Purificación de la Muestra: La fase etérea colectada se hace pasar por una columna de carbonato de sodio anhidro seguido de florisil y por ultimo de columna de carbonato de sodio anhidro (4, 5 y 4 cm. respectivamente) hacia un beaker de 200 mL y se lava la columna con 50 mL de n-hexano. La solución purificada se evapora a sequedad a 60°C en Baño María. El residuo se reconstituye cuantitativamente con 10 mL de n-hexano HPLC; se sonica por 5 segundos, se agita por 5 segundos más y filtramos por filtros PVDF hacia viales de HPLC, se tapan los viales herméticamente e inyectar al HPLC

Factor de dilución de la muestra: 10

2.4.2.4 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Fase Móvil : ACN: H₂O (60: 40)
Flujo de FM : 1 mL/minuto
Longitud de Onda : 210 nm
Detector : UV (Ultravioleta)
Volumen de Inyección : 80 uL
Temperatura : 25°C
Columna Cromatográfica : Lichrospher 100 RP-8 MERCK (125 x 4,6 mm)

2.4.2.5 FÓRMULA DE CUANTIFICACIÓN:

$$\text{Methamidophos: (ppm)} = \frac{\text{Amp}}{\text{Ast}} \times \frac{\text{Vst}}{\text{Fdst}} \times \frac{\text{Fdmp}}{\text{Wmp}} \times \text{Pot.st.}$$

Donde:

Amp : Área de la muestra
Ast : Área del estándar
Vst : Volumen del estándar (4 mL)
Fdst : Factor de dilución del estándar (10 000)
Fdmp : Factor de dilución de la muestra (10)
Wmp : Peso de la muestra en Kg
Pot.st : Potencia del estándar (600 mg/ mL)

Realizamos la integración de los picos tanto en el cromatograma del estándar y las muestras mediante el integrador de superficie en el HPLC e ingresamos todos los factores de multiplicación, incluido los pesos de cada muestra según la fórmula de cuantificación, inmediatamente obtenemos los resultados en ppm. (Ver Cuadro N°3)

III. RESULTADOS

CUADRO N° 1: REACCIONES POSITIVAS CON LOS DIFERENTES REVELADORES PARA EL METHAMIDOPHOS EN CCF.

		MUESTRA	ESTÁNDAR
FORMA DE LA MANCHA		Redonda	Redonda
REVELADORES	Bicloruro de Paladio	Amarillo anaranjado	Amarillo anaranjado
	Verde Brillante	Crema amarillento	Crema amarillento
	Reactivo Bioquímico	Rosado intenso	Rosado intenso
	Tricloruro de Fierro	Manchas blancas sobre fondo malva	Manchas blancas sobre fondo malva

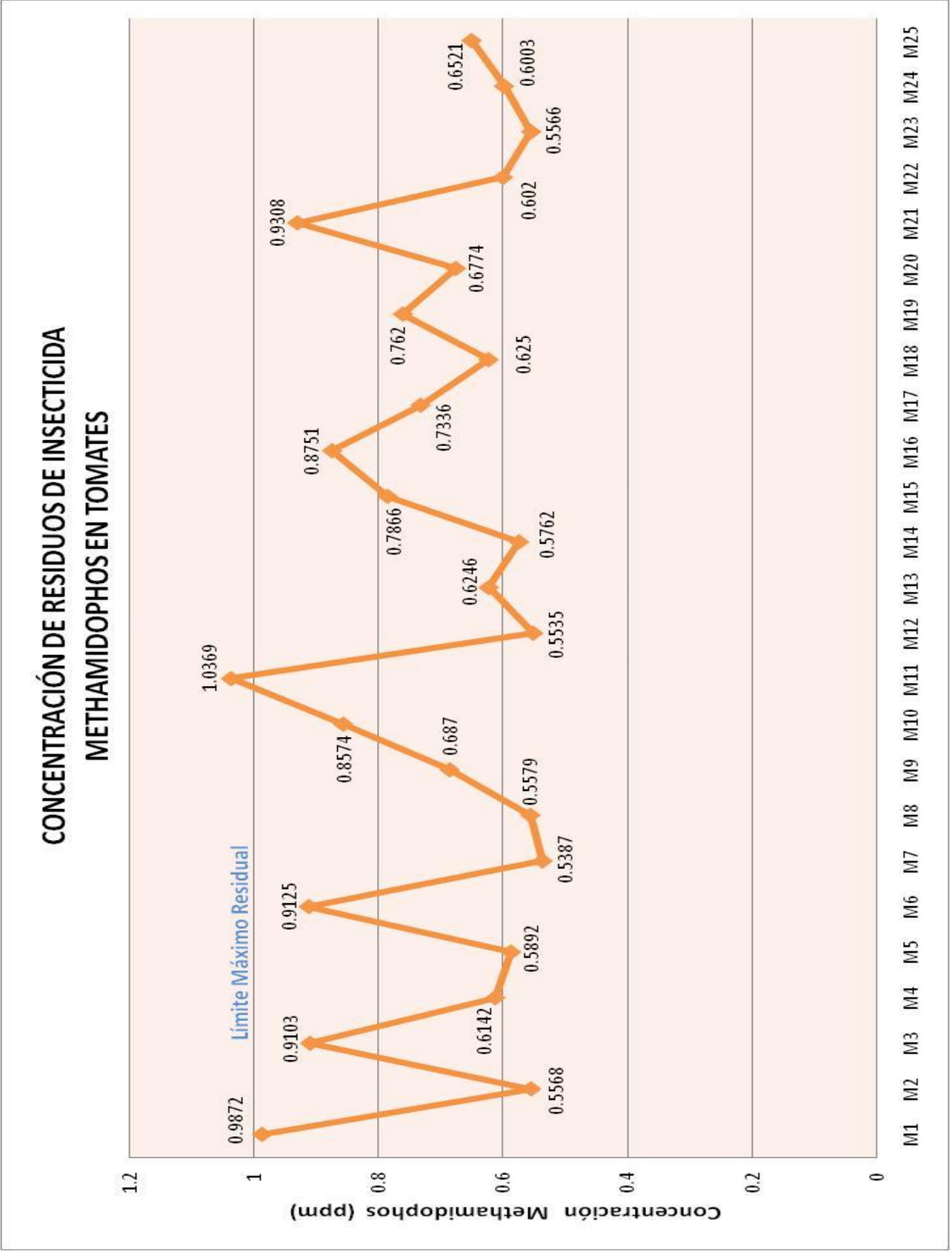
CUADRO N° 2: RESULTADOS DEL ANÁLISIS CUALITATIVO, IDENTIFICACIÓN DE METHAMIDOPHOS POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF) Y HPLC.

N° DE CASOS	MERCADO	Identificación de METHAMIDOPHOS por CCF				Identificación de METHAMIDOPHOS por T.R. por HPLC				
		RF St.	RF Muestra	Positivo	Negativo	T.R. St.	T.R. Muestra	Positivo	Negativo	
1	MAYORISTAS	LA PARADA	0.813	0.817	+		3.51	3.52	+	
2			0.813	0.816	+		3.51	3.52	+	
3			0.813	0.817	+		3.51	3.52	+	
4			0.813	0.820	+		3.51	3.52	+	
5			0.813	0.812	+		3.51	3.52	+	
6		MANZANILLA	0.821	0.822	+		3.51	3.52	+	
7			0.821	0.845	+		3.51	3.52	+	
8			0.821	0.821	+		3.51	3.52	+	
9			0.821	0.829	+		3.51	3.52	+	
10			0.821	0.819	+		3.51	3.52	+	
11		TRES DE FEBRERO	0.825	0.812	+		3.51	3.52	+	
12			0.825	0.819	+		3.51	3.52	+	
13			0.825	0.821	+		3.51	3.52	+	
14			0.825	0.825	+		3.51	3.52	+	
15			0.825	0.826	+		3.51	3.51	+	
16	MINORISTAS	MERCADO N° 1 SJL	0.819	0.819	+		3.51	3.52	+	
17			0.819	0.817	+		3.51	3.51	+	
18			0.819	0.810	+		3.51	3.52	+	
19			0.819	0.825	+		3.51	3.52	+	
20			0.819	0.827	+		3.51	3.52	+	
21		MERCADO CERES - ATE	0.815	0.819	+		3.51	3.52	+	
22			0.815	0.823	+		3.51	3.52	+	
23			0.815	0.817	+		3.51	3.52	+	
24			0.815	0.816	+		3.51	3.52	+	
25			0.815	0.822	+		3.51	3.52	+	

CUADRO N° 3: RESULTADOS DEL ANÁLISIS CUANTITATIVO DE METHAMIDOPHOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCION (HPLC).

N° DE CASOS	MERCADO	Cuantificación de METHAMIDOPHOS por HPLC (ppm)	Límite Máximo Residual (LMR) de METHAMIDOPHOS en Tomates según CODEX (1.0 ppm)		
			EXCEDEN	NO EXCEDEN	
1	MAYORISTAS	LA PARADA	0.9872		X
2			0.5568		X
3			0.9103		X
4			0.6142		X
5			0.5892		X
6		MANZANILLA	0.9125		X
7			0.5387		X
8			0.5579		X
9			0.6870		X
10			0.8574		X
11		TRES DE FEBRERO	1.0369	X	
12			0.5535		X
13			0.6246		X
14			0.5762		X
15			0.7866		X
16	MINORISTAS	MERCADO N° 1 SJL	0.8751		X
17			0.7336		X
18			0.6250		X
19			0.7620		X
20			0.6774		X
21		MERCADO CERES - ATE	0.9308		X
22			0.6020		X
23			0.5566		X
24			0.6003		X
25			0.6521		X

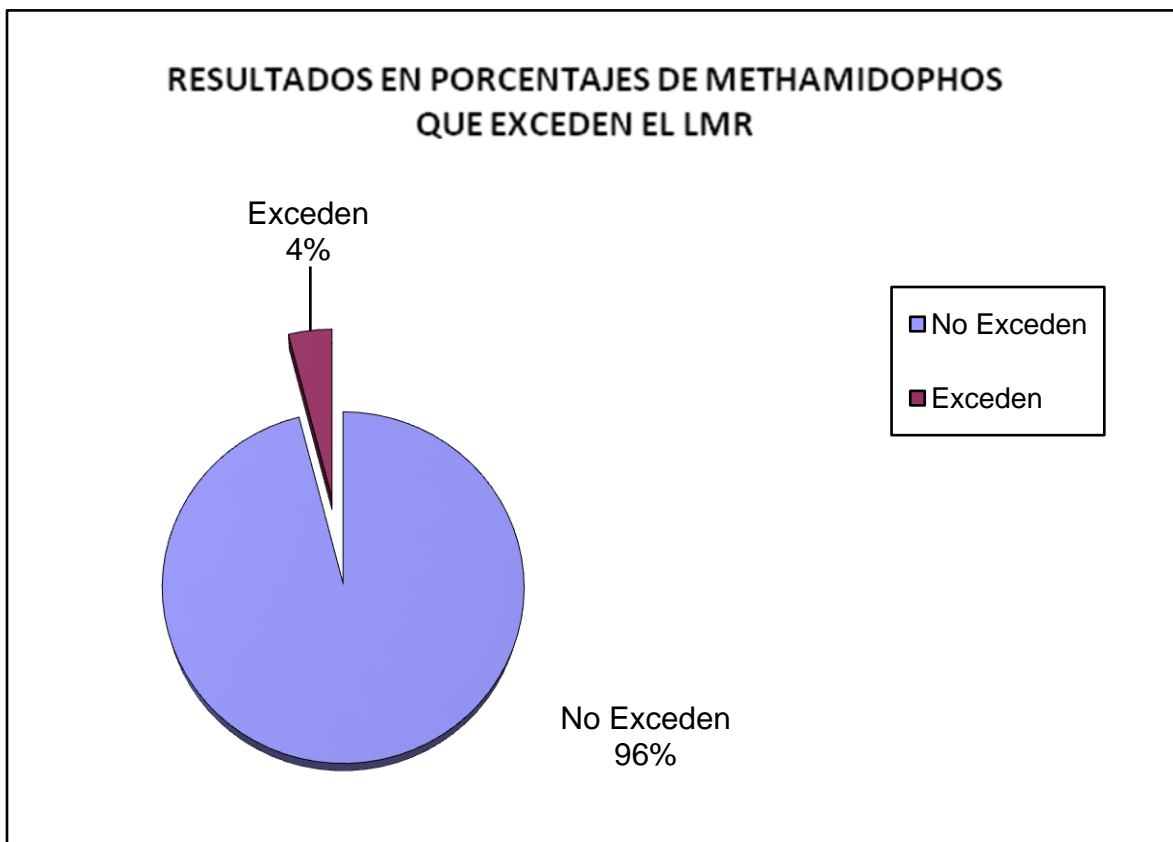
FIGURA N° 1: CONCENTRACIÓN DE METHAMIDOPHOS EN TOMATES, SEGÚN HPLC.



CUADRO N° 4: PORCENTAJES DE CONTAMINACIÓN QUE EXCEDEN EL LMR PARA METHAMIDOPHOS EN TOMATES SEGÚN CODEX.

Resultados	Número de Casos	Porcentaje
No Exceden	24	96 %
Exceden	1	4 %
Total	25	100 %

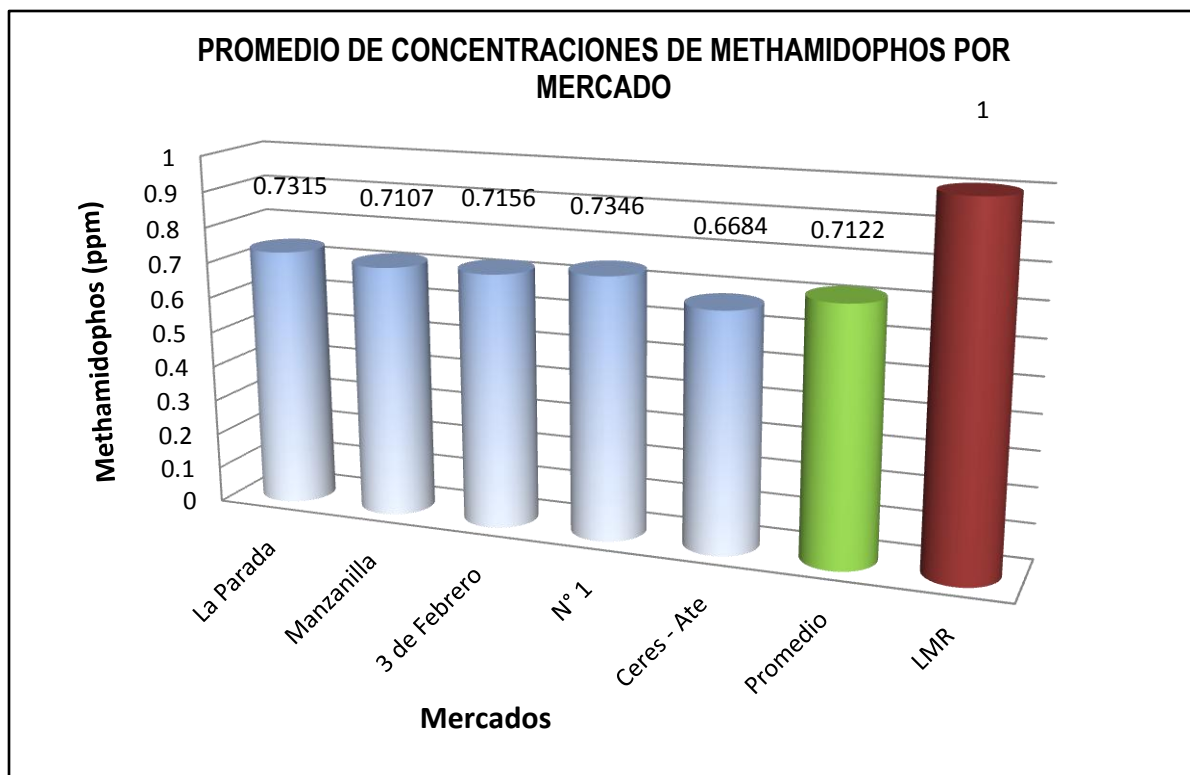
FIGURA N° 2: PORCENTAJES DE MUESTRAS QUE EXCEDEN EL LMR PARA METHAMIDOPHOS.



CUADRO N° 5: RESULTADOS PROMEDIO PARA CONCENTRACIONES DE METHAMIDOPHOS EN TOMATES, POR MERCADO.

Mercados	Promedio de Methamidophos (ppm)	Promedio Total	LMR
La Parada	0.7315	0.7122	1
Manzanilla	0.7107		
3 de Febrero	0.7156		
N°1 – San Juan de Lurigancho	0.7346		
Ceres – Ate	0.6684		

FIGURA N° 3: CONCENTRACIONES PROMEDIO DE METHAMIDOPHOS (PPM) POR MERCADOS.



IV. DISCUSIÓN

- ❖ Del análisis cualitativo de CCF de las 25 muestras analizadas se observa que todos tienen presencia de Methamidophos (residuo de plaguicidas organofosforado) tanto en los mercados mayoristas como minoristas; donde los valores de Rf (Ver Cuadro N° 2) son semejantes al del estándar secundario de Methamidophos. por otro lado los valores de Rf son similares a los reportados por Cornejo. ²⁷
- ❖ Como análisis complementario al análisis por CCF, podemos tomar los valores de tiempo de retención (T.R.) del análisis de cuantificación por HPLC, donde las muestras analizadas tienen un tiempo de retención de 3,52 minutos semejante al estándar secundario de Methamidophos con 3,51 minutos, ratificando los resultados obtenidos por la CCF. (Ver Cuadro N° 2).
- ❖ Respecto al análisis cuantitativo por HPLC se toman las condiciones cromatográficas utilizadas por Aquino ²⁶ tanto para la Fase Móvil, Flujo, Volumen de Inyección, temperatura, longitud de onda y la columna cromatográfica. Dando como resultados picos con mejor resolución y menor asimetría; también una buena separación y cuantificación del analito de interés; Methamidophos.
- ❖ Cabe mencionar que Aquino ²⁶, utilizó una columna de la misma característica (LICHROSPHER 100 RP-8) pero de 250 mm de largo obteniendo un tiempo de retención aproximado de 8.0 minutos, en nuestro caso utilizamos una columna de 125 mm obteniendo un tiempo de retención de 3.5 minutos, esto tiene relación ya que este parámetro está determinado por la longitud de la columna. (Ver Cuadro N° 2).
- ❖ El valor promedio obtenido en la cuantificación, es de 0.7122 ppm encontrándose por debajo del Límite Máximo Residual (LMR) para Methamidophos según Codex Alimentarius que es de 1.0 ppm en tomates.
- ❖ A pesar del valor promedio tuvimos 6 valores por encima de 0.80 ppm muy cercanos al LMR, estas representan un 24% del total de muestras analizadas, lo que nos indica un problema de residuos de Methamidophos por mal uso del mismo. (Ver Figura N° 1, Cuadro N° 3)
- ❖ Se obtuvo una muestra con un valor de 1.0369 ppm, perteneciente al mercado mayorista 3 de febrero, que excede el LMR para Methamidophos (Ver Figura N° 1)
- ❖ Los valores encontrados en la cuantificación por HPLC varían desde el mínimo que fue de 0.5387 ppm a 1.0369 ppm como máximo, lo que nos indica presencia de residuos de Methamidophos con concentraciones que sobrepasan en un 100% a la media del LMR. (0,50 ppm) (Ver Cuadro N° 3)

- ❖ Las concentraciones promedios por mercado son bastante uniformes al promedio total de las muestras, lo que nos indica que el abastecimiento de los mercados mayoristas tienen la misma procedencia o provienen de zonas de producción que tienen la misma técnica de tratamiento de plagas en sus cultivos y a su vez los mercados minoristas son abastecidos por los mayoristas. (Ver Figura N° 3, Cuadro N° 5)
- ❖ Este trabajo constituye una evidencia más para demostrar que hay un problema de Salud Pública con respecto a residuos de plaguicidas, el cual se suma a otros trabajos de investigación en otros productos agrícolas. [11](#) [12](#) [13](#) [18](#) [26](#) [27](#)

V. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Las muestras de tomates analizados presentan en un 100% residuos de Methamidophos.
2. El 4% de las muestras de tomates analizados tiene una concentración de 1,0369 ppm que supera el LMR de 1.00 ppm para tomates según el Codex Alimentarius.
3. El valor promedio de residuos de Methamidophos en las muestras de tomates analizados es 0.7122 ppm.
4. El 100% de las muestras de tomates analizados superan la media del LMR (0,50 ppm).
5. Los valores promedio de residuos de Methamidophos por mercado son similares al promedio total de muestras de tomates analizados.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigación a mayor escala (mayor tamaño de muestra) en tomates, hortalizas otros vegetales y frutas para que sirvan de precedentes para prohibir el uso de insecticidas altamente tóxicos como el Methamidophos, que solo tienen carácter Restringido en el Perú, mientras que en otros países se encuentra prohibida su producción, comercialización interna y uso como es el caso de Guatemala.
2. Que el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) realice AUDITORIAS más frecuentes, por lo menos una vez al año sobre los REGISTROS de los diferentes plaguicidas comercializados en el Perú, por lo que muchos de estos carecen de Registros o están vencidos. (Ver Anexo 14 – Resolución Directoral N° 1425-2007-AG-SENASA-DAIA, publicado en el diario El Peruano)
3. Mientras se logra esto, se recomienda que el SENASA inspeccione y establezca procedimientos que permitan un mayor control en la comercialización de estos plaguicidas altamente tóxicos, velando que se expendan a personas naturales o jurídicas autorizadas, asesoradas por un profesional que realice el estudio técnico del cultivo, asegurando así el pleno conocimiento del uso y peligros que implican el manejo de estos.
4. Que el SENASA supervise el cumplimiento de la Resolución Jefatural N° 028-99-AG SENASA, Artículo 5; que indican que estos plaguicidas deben tener adjunto al empaque un folleto que indican el correcto uso del plaguicida, así como la implementación del agricultor, la capacitación y concientización sobre los peligros al que se exponen. (Ver Anexo 13 – Resolución Jefatural N° 028-99-AG-SENASA, publicado en el diario El Peruano)
5. La restricción del uso de plaguicidas, refiriéndonos a su importación y comercialización indiscriminada, se podría lograr mediante la imposición de leyes y mediante esquemas disuasivos. Por ejemplo un arancel adicional del 10% a Methamidophos y usar ese ingreso para financiar programas de protección ambiental, como; estudios de impacto ambientales por el uso exacerbado e innecesario de plaguicidas altamente tóxicos los cuales tienen carácter Restringido.
6. Siendo la producción de alimentos, el alivio del hambre y la protección de los ecosistemas responsabilidades mundiales, entonces se recomienda que los países desarrollados participen más activamente en el uso y las aplicaciones seguras de los plaguicidas a nivel mundial.
7. Realizar una validación del método de cuantificación de Methamidophos por HPLC, para garantizar la exactitud de los resultados.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Ibañez Cesnik, F. Producción del Tomate en el Perú. Universidad San Martín de Porres – 2008.
Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos58/produccion-tomate-peru/produccion-tomate-peru.shtml>
2. Smith, Andrew F. (1994), The tomato in America: Early History, Culture, and Cookery. University of South Carolina Press, Columbia, S.C, USA. ISBN 1-57003-000-6
3. Peralta, I.E. and D.M. Spooner. 2007. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). pp 1-27. In: Genetic Improvement of Solanaceous Crops, Vol. 2: Tomato. M.K. Razdan and A.K. Mattoo (eds.), Science Publishers, Enfield, USA.
4. El Cultivo del Tomate.
Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate.htm>
5. Gebhardt, S. & Thomas, R. 2002. Nutritive Value of Foods. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service, Home and Garden Bulletin Number 72, Nutrient Data Laboratory, Beltsville, Maryland.
6. Wikipedia, La Enciclopedia Libre – Plaguicidas. 2010.
Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Plaguicida>
7. Toxicología Y Química Legal: Plaguicidas: Guía de Seminario II Parte, Tema N° 2; La Plata – Argentina. Universidad de la Plata.
Disponible en:
http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_2/plaguicidas.html
8. Curso de Auto-Instrucción en Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de Intoxicaciones Agudas Causadas Por Plaguicidas.
Disponible en: <http://www.cepis.org.pe/tutorial2/e/index.html>
9. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina. Chile – 1999.
Disponible en:
http://www.rap-al.org/index.php?seccion=4&f=clasificacion_plaguicidas.php
10. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Pesticides Branch. Pesticides safety precautions scheme. London, United Kingdom, Ministry of Agriculture, 1979.

11. Valdivieso, A. Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en vegetales de consumo directo. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Lima – UNMSM, 1992.
12. Romero, F. Identificación de Insecticidas orgánico fosforados por cromatografía en capa fina. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Lima – UNMSM, 1965.
13. Malpartida A, Sánchez J. Colinesterasa sérica en residentes de San Juan de Pariachi – Lima y determinación de residuos de plaguicidas en hortalizas. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Lima – UNMSM, 2001.
14. Normas Oficiales del Codex Alimentarius, LMR de plaguicidas. 2010
Disponible en:
http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-s.jsp
15. Comisión del Codex Alimentarius. Programa Conjunto FAO/OMS. Roma-Italia.1997
Disponible en: <http://www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.html>.
16. Levi, P.E, Hodgson. Organofosforados, química, vías y efectos. San Diego 1992. Pags. 141 – 154.
17. Estructplan: Salud, Seguridad y Medio Ambiente en la Industria, Informes de Toxicología. Argentina.
Disponible en:
<http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/imprimir.asp?IdEntrega=51>
18. Milla Cotos, Palomino Horna, William Rodolfo. Niveles de Colinesterasa Sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la Acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Lima. UNMSM – 2002
19. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. México D.F. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill, 1996.
20. Sogorb S, Vilanova G. Nuevas perspectivas en los tratamientos de intoxicaciones por insecticidas organofosforados y agentes nerviosos de guerra. España 2004.
21. Universidad de Alcalá. Madrid. Plaguicidas Organofosforados.
Disponible en: www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica.../BA-RES-12.pdf

22. ALBERT, Lilia A.: "Plaguicidas" en Introducción A La Toxicología Ambiental. México. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de Salud y Ambiente. OPS y OMS. 1997.
23. Extension Toxicology Network. Pesticide Information Profile Methamidophos. Oregon State University. 2005
Disponible en: <http://extoxnet.orst.edu/pips/methamid.htm>
24. Directrices para la protección de las personas que manipulan plaguicidas en climas tropicales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. FAO 1990.
25. Residuos de Pesticidas en Alimentos. Instituto de Toxicología y Seguridad Alimentaria. Dinamarca – 2002
26. Aquino M. Análisis de residuo de plaguicida organofosforado (METHAMIDOPHOS) en muestras de papa de mercados de lima metropolitana. Tesis para optar al Título profesional de Químico Farmacéutico. Lima UNMSM 2008.
27. Cornejo Y. De la Cruz A. Niveles de Colinesterasa en agricultores y residuos de plaguicidas organofosforados en frutas y hortalizas en el caserío de Cuyo – Huaral. Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico. Lima, UNMSM 2001.
28. Movimiento Mundial por los Bosques. Maldonado 1858 - 11200 Montevideo – Uruguay. Boletín Mensual del Movimiento Mundial por los Bosques.
Editor: Ricardo Carrere.
Disponible en: <http://www.wrm.org.uy/>

VIII ANEXOS

PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS RESTRINGIDOS Y PROHIBIDOS EN EL PERÚ (por nombre común del ingrediente activo)

PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS RESTRINGIDOS:

Arsenicales (sólo para ser usados en el cultivo del algodón)

Aldicarb (sólo usos registrados)

Paraquat (agregando sustancia emética, color, olor)

Methamidophos (uso de disolventes etilenglicol y/o dietilenglicol, envases de COEX o polietileno de alta densidad e inclusión de un folleto de uso y manejo seguro)

PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS PROHIBIDOS:

Aldrin

Endrin

Dieldrin

BHC/HCH

Canfecol/Toxafeno

2, 4,5-T

DDT

Parathion Etílico

Parathion Metílico

Monocrotophos

Binapracil

Dinoseb

Fluoroacetamida

Heptacloro

Dicloruro de Etileno

Captafol

Clorobencilato

Hexaclorobenceno

Pentaclorofenol

Clordano

Dibromuro de Etileno

Clordimeform

Compuestos de Mercurio

Fosfamidon

Lindano

Mirex

Sales de Dinoseb

DNOC (Dinitro Orto Cresol)

Oxido de Etileno

Prohibición del uso de plaguicidas químicos de uso agrícola, sustancias afines, productos y agentes biológicos en plantaciones de coca.



REPÚBLICA DEL PERÚ

SENASA

Sede Central: Av. La Molina N° 1915 - Lima 12 - La Molina, Lima-Perú

Central Telefónica: (051)-(1)-313 3300 Fax: (051)-(1)-340 1486

ANEXO 1: Listado Oficial del SENASA de Plaguicidas Agrícolas Restringidos y Prohibidos en el Perú

CORPORACION MEDCO S.A.C.

CONTROL DE CALIDAD

LACHROM ELITE-3

REPORTE DE ESTANDARES



PRODUCTO: METHAMIDOPHOS
ANALISTA: C-CAMPOS / A. PALACIOS
LOTE: S/L
ENSAYO: CUANTIFICACIÓN DE METHAMIDOPHOS
SECUENCIA: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS\sec metamidofos.seq
MÉTODO: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met

UV	metami...	Volumen	metamidofos	metamidofos	Area	Identificación	Acquisition Date
Vial	Peso	Iny.	Retention Time	Area			
121	4	80	3.51	8584573	st metamidophos	04/07/2009 17:14:51 p.m.	
121	4	80	3.51	8581231	st metamidophos	04/07/2009 05:21:20 p.m.	
121	4	80	3.50	8557049	st metamidophos	04/07/2009 05:27:50 p.m.	
121	4	80	3.51	8593347	st metamidophos	04/07/2009 05:34:16 p.m.	
121	4	80	3.52	8586317	st metamidophos	04/07/2009 05:40:47 p.m.	
Mean:	4.00		3.51	8580303			
Std Dev:	0.00		0.01	13740			
%RSD:	0.00		0.22	0.16			

Vial	Data Full Filename
121	C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\Cal_d_001001-Rep1.dat
121	C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\Cal_d_001001-Rep2.dat
121	C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\Cal_d_001001-Rep3.dat
121	C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\Cal_d_001001-Rep4.dat
121	C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\Cal_d_001001-Rep5.dat

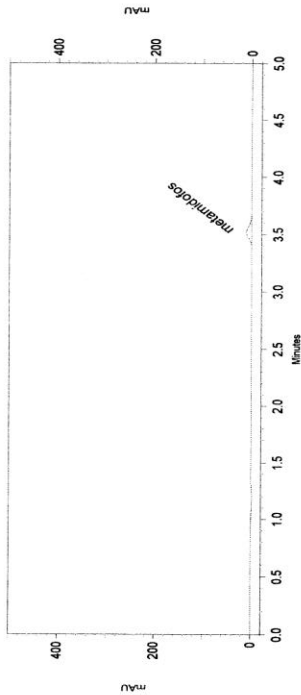
ANEXO 3: Reporte de Estándares de Methamidophos del HPLC



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M1 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 05:47:25 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:23:38 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(sec metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_066001-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 ul

Metamidofos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
3.52	metamidofos	352950	16.454	ppm	5016

PESO MUESTRA : 0.100001 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION 3: 1

No. Items selected for this section

UV

No. Items selected for this section

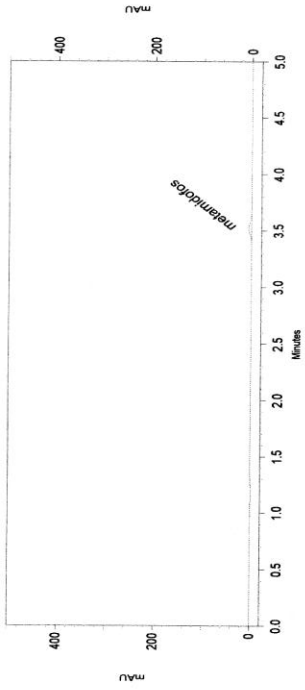
Performance Parameters
 Calculate Performance Parameters Yes
 Unretained Peak Time: 0.3 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Size (Microns): 5.0 (Microns)
 Column Serial Number: 63941 L07E-RE 67072
 Column Installation Date: 2007-10-22
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Mark
 USP Calculation Method: Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M2 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 05:53:54 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:29:21 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(sec metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_007002-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 ul

Metamidofos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
3.52	metamidofos	199066	9.280	ppm	4912

PESO MUESTRA : 0.100002 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION 3: 1

No. Items selected for this section

UV

No. Items selected for this section

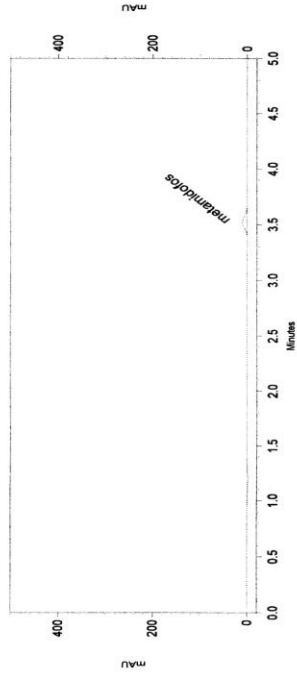
Performance Parameters
 Calculate Performance Parameters Yes
 Unretained Peak Time: 0.3 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Size (Microns): 5.0 (Microns)
 Column Serial Number: 63941 L07E-RE 67072
 Column Installation Date: 2007-10-22
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Mark
 USP Calculation Method: Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M3 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 06:00:33 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:33:46 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(see metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_008003-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL

Methamidophs Long. Onda : 210 nm



UV Results	Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
	3.52	metamidofos	325434	15.171	ppm	5017

PESO MUESTRA : 0.100001
 FACTOR DE DILUION-1 : 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1

General Method Parameters
 No. Items selected for this section

Performance Parameters
 No. Items selected for this section

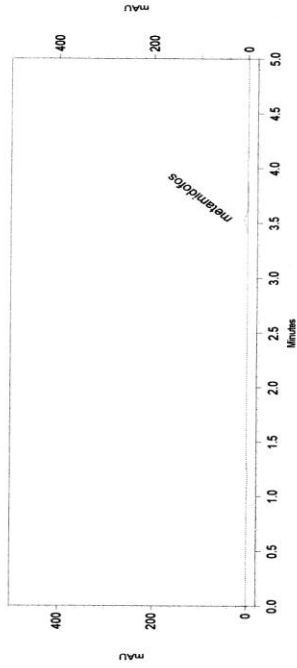
Calculate Performance Parameters: Use
 Retention Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Theoretical Plates: 1000 (Theoretical Plates)
 Particle Diameter: 4.50 (Microns)
 Column Serial Number: 623941 LUTE RE 870012
 Column Installation Date: 200-10-22
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Merck
 USP Calculation Method Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M4 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 06:07:02 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:29:29 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(see metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_009004-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL

Methamidophs Long. Onda : 210 nm



UV Results	Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
	3.52	metamidofos	219601	10.237	ppm	4916

PESO MUESTRA : 0.100002
 FACTOR DE DILUION-1 : 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1

General Method Parameters
 No. Items selected for this section

Performance Parameters
 No. Items selected for this section

Calculate Performance Parameters: Use
 Retention Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Theoretical Plates: 1000 (Theoretical Plates)
 Particle Diameter: 4.50 (Microns)
 Column Serial Number: 623941 LUTE RE 870012
 Column Installation Date: 200-10-22
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Merck
 USP Calculation Method Enabled

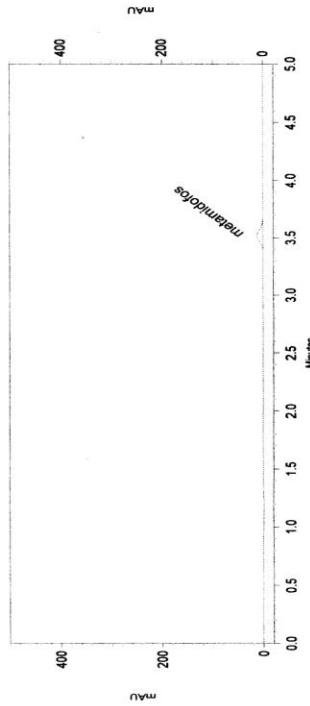
ANEXO 6: Reporte del HPLC, Cromatogramas para Muestras 3 y 4



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M11 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 06:52:39 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:24:55 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS (sec metamidofos).seq
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_016011-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL
 Vial : 132

Methamidophos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical Plates (USP)
3.52	metamidofos	370722	17.282	ppm	4949

PESO MUESTRA : 0.100002 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION-3: 1

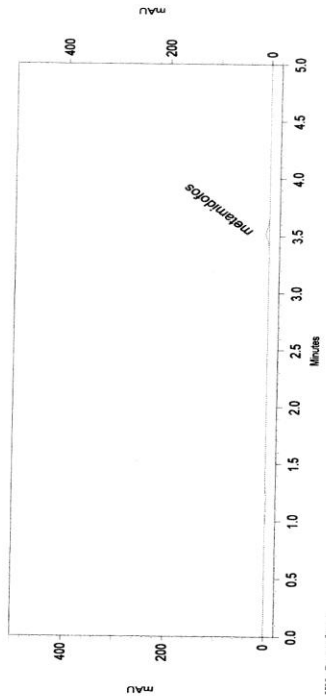
General Method Parameters
 No. Items selected for this section
 Performance Parameters
 Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.3 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: 62941 LOT# BX 67702
 Column Installation Date: 2007-05-01
 USP Calculation Method: Enabled
 100 RF+4 Mark



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M12 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 06:59:11 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:30:53 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS (sec metamidofos).seq
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_017012-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL
 Vial : 133

Methamidophos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical Plates (USP)
3.52	metamidofos	197876	9.225	ppm	4936

PESO MUESTRA : 0.100001 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1
 FACTOR DE MULTIPLICACION-3: 1

General Method Parameters
 No. Items selected for this section
 Performance Parameters
 Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.3 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: 62941 LOT# BX 67702
 Column Installation Date: 2007-05-01
 USP Calculation Method: Enabled
 100 RF+4 Mark

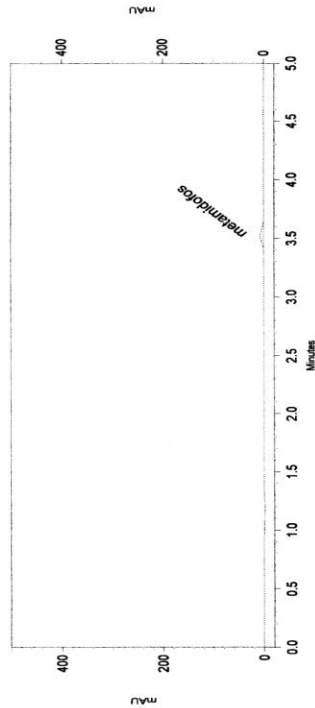
ANEXO 7: Reporte del HPLC, Cromatogramas para Muestras 11 y 12



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3 CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M13 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 07:05:40 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:25:08 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS\sec metamidofos.seq
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Data\d_018013-Repl.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL
 Vial : 134

Methamidophs Long. Onda : 210 nm



UV Results	Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
	3.52	metamidofos	223297	10.410	ppm	4939
PESO MUESTRA		: 0.100002		FACTOR DE DILUCCION-1		: 10
FACTOR DE DILUCCION-1		: 1		FACTOR DE MULTIPLICACION-2		: 1
FACTOR DE DILUCCION-2		: 1		FACTOR DE MULTIPLICACION-3		: 1

General Method Parameters

No. Items selected for this section

Performance Parameters

No. Items selected for this section

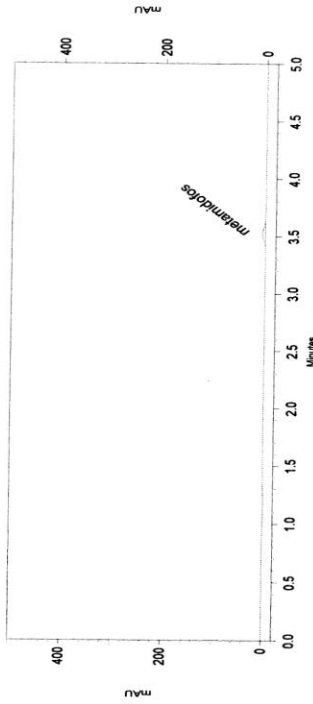
Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: E5941 LITE RE 67971
 Column Manufacturer: Waters 2007-10-10
 Column Description: Waters 2007-10-10 RP-S-Merck
 USP Calculation Method: Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3 CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M14 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 07:12:19 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:31:00 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS\sec metamidofos.seq
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects\MEDCO\Producto Terminado\Data\d_019014-Repl.dat
 Volumen de Inyección: 80 uL
 Vial : 135

Methamidophs Long. Onda : 210 nm



UV Results	Retention Time	Name	Area	ESTD concentration	Units	Theoretical plates (USP)
	3.52	metamidofos	205997	9.603	ppm	4923
PESO MUESTRA		: 0.100002		FACTOR DE DILUCCION-1		: 10
FACTOR DE DILUCCION-1		: 1		FACTOR DE MULTIPLICACION-2		: 1
FACTOR DE DILUCCION-2		: 1		FACTOR DE MULTIPLICACION-3		: 1

General Method Parameters

No. Items selected for this section

Performance Parameters

No. Items selected for this section

Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: E5941 LITE RE 67971
 Column Manufacturer: Waters 2007-10-10
 Column Description: Waters 2007-10-10 RP-S-Merck
 USP Calculation Method: Enabled

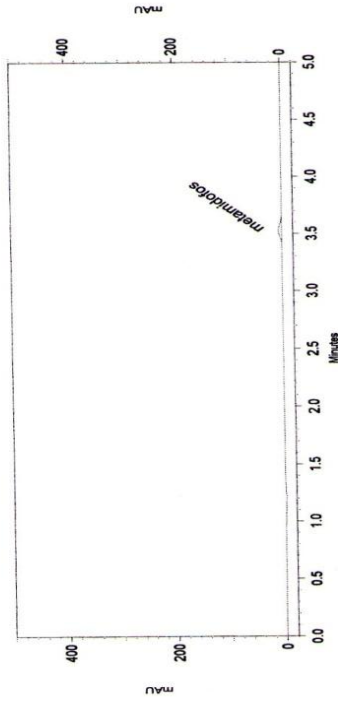
ANEXO 8: Reporte del HPLC, Cromatogramas para Muestras 13 y 14



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M23 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 08:11:22 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:35:46 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(sec.metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_028023-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 µl
 Vial: 144

Methamidophos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	concentration	ESTD Units	Theoretical plates (USP)
3.52	metamidofos	198988	9.276 ppm	4960	4960

PESO MUESTRA : 0.100001 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1

---< General Method Parameters >---
 No items selected for this section

---< UV >---
 No items selected for this section

---< Performance Parameters >---
 No items selected for this section
 Performance Parameters

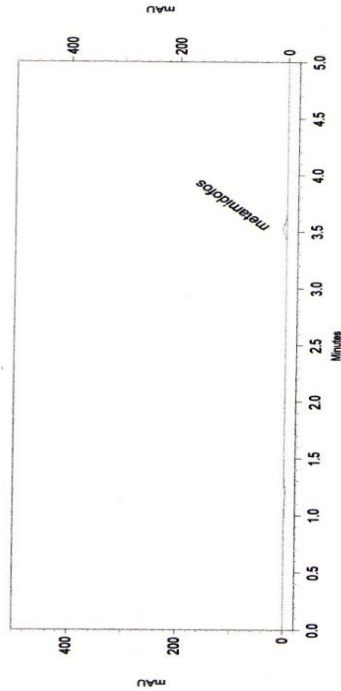
 Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.132 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: E3941 LITE RR 67702
 Column Installation Date: 2007-10-27
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Merck
 USP Calculation Method: Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3
CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M24 Analista: C.CAMPOS/A. PALACIOS
 Fecha de Análisis: 04/07/2009 08:17:48 p.m. Fecha de Impresión: 19/09/2009 03:31:40 p.m.
 Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
 Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS(sec.metamidofos.seq)
 Data : C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_029024-Rep1.dat
 Volumen de Inyección: 80 µl
 Vial: 145

Methamidophos Long. Onda : 210 nm



Retention Time	Name	Area	concentration	ESTD Units	Theoretical plates (USP)
3.52	metamidofos	214616	10.005 ppm	4949	4949

PESO MUESTRA : 0.100002 FACTOR DE MULTIPLICACION-1: 10
 FACTOR DE DILUACION-1 : 1 FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1

---< General Method Parameters >---
 No items selected for this section

---< UV >---
 No items selected for this section

---< Performance Parameters >---
 No items selected for this section
 Performance Parameters

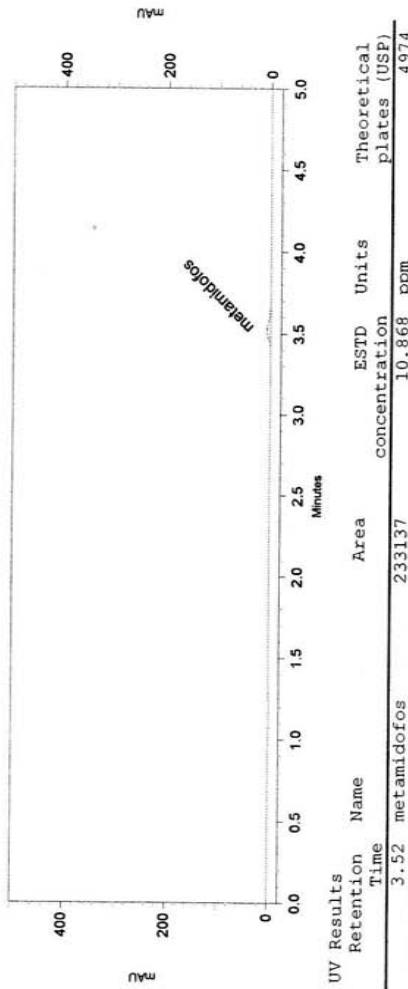
 Calculate Performance Parameters: Yes
 Unretained Peak Time: 0.5 (Minutes)
 Column Length (Meters): 0.132 (Meters)
 Particle Diameter: 4.600 (Microns)
 Column Serial Number: E3941 LITE RR 67702
 Column Installation Date: 2007-10-27
 Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Merck
 USP Calculation Method: Enabled



REPORTE DE RESULTADOS HPLC - ELITE 3 CONTROL DE CALIDAD

Muestra: M25 **Analista:** C.CAMPOS/A. PALACIOS
Fecha de Análisis: 04/07/2009 08:24:20 p.m. **Fecha de Impresión:** 19/09/2009 03:25:55 p.m.
Método: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
Secuencia: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Sequence\METAMIDOPHOS\sec metamidofos.seq
Data: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\d_030025-Rep1.dat
Vial: 146 **Volumen de Inyección:** 80 uL

Methamidophos Long. Onda : 210 nm



UV Results
Retention Time : 3.52 metamidofos
Area : 233137
ESTD concentration : 10.868 ppm
Units : plates (USP)
Theoretical plates : 4974

PESO MUESTRA : 0.100002
FACTOR DE DILUCCION-1 : 1
FACTOR DE MULTIPLICACION 1: 10
FACTOR DE MULTIPLICACION-2: 1

General Method Parameters
No items selected for this section

UV
No items selected for this section

Performance Parameters
Calculate Performance Parameters: Yes
Unretained Peak Time: 0.8 (Minutes)
Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
Particle Diameter: 4.000 (Microns)
Column Serial Number: 029941 LOTE: BX 677072
Column Description: Waters 5097-10-22
Column Part Number: 100 HF-8 Harek
USF Calculation Method: Enabled

Method Name: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
User Name: CCASTRO
Print Time: 19/09/2009 03:02:19 p.m.
Created: 27/02/2006 05:25:20 p.m.
Modified: 19/09/2009 03:00:09 p.m.

<< General Method Parameters >>

Options
Analyze During Acquisition: No
Analyze After Acquisition: Yes
Enable compression for data file: No
Calibration
Automatically Average Replicates: Yes
Number of replicates in rolling average: 0
Response Factor Definition: Amount/Area
Method Description
Vol. inyeccion: 80 uL
Audit Trail
Audit Trail: Enabled
Prompt Type: Do not prompt for reason
Advanced Reports
No reports printed or exported.
Custom Parameters
None
User Programs
Before Run Program: Disabled
Before Analysis Program: Disabled
After Analysis Program: Disabled
After Export Program: Disabled
Baseline File: Disabled
Hitachi L-2300 Column Oven
Temperature (°C): 25
Max Temperature for Column (°C): 70
Wait With Tolerance (±°C): 1.0
Wait Time (min): 1
Control Off at Shutdown: Yes
Valve Position: 2
Trace: Temperature
Display : No
Unit : degrees C

Method Name: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
User Name: CCASTRO
Print Time: 19/09/2009 03:02:19 p.m.
Created: 27/02/2006 05:25:20 p.m.
Modified: 19/09/2009 03:00:09 p.m.
Trace: Ambient Temperature
Display : No
Unit : degrees C

Hitachi L-2130 Pump
Pump Parameters
Pump A
Minimum Pressure (psi): 28
Maximum Pressure (psi): 5689
Turn Off at Shutdown: No
Solvent A Name: ACN; AGUA (60:40)
Solvent B Name: ACN
Solvent C Name: H2O
Solvent D Name: METANOL
Pump Time Table
Pump A, Time (min): 0.0
Solvent A Percent: 100.0
Solvent B Percent: 0.0
Solvent C Percent: 0.0
Solvent D Percent: 0.0
Flow Rate (mL/min): 1.000
Event 1:
Event 2:
Event 3:
Event 4:
Trace: Pressure pump A
Display : Yes
Unit : psi
Hitachi L-2200 Auto-Sampler
Syringe Speed: 5
Needle Down Speed: Fast
Syringe Volume (mL): 0.1
Time Injection With Pump (PASS): Yes
Sense Missing Vial: Yes
Plunger Wash after Sequence Run: No
Wash Volume (uL): 500
Wash Port Wash Strokes: 1
Wash Port Wash Speed: 5
Needle Wash Time(s): 1
Trigger Type

Method Name: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
User Name: CCASTRO
Print Time: 19/09/2009 03:02:19 p.m.
Created: 27/02/2006 05:25:20 p.m.
Modified: 19/09/2009 03:00:09 p.m.

External Trigger
Baseline Check Parameters
Minimum Stable Baseline Time: 1.0 Minutes
Maximum Test Time: 1.0 Minutes
Noise Test Method: rms
Channel Noise Threshold Drift Threshold
UV Disabled Disabled

<< UV >>

Peak Table
Name: metamidofos
Enabled: Yes
ID Number: 1 Ref. ID #: 0 Resolution ID #: 0
ISTD. ID #: 0 Std Peak ID #: 0 Std Peak Multiplier: 0
Manual RF Used: No
Quantitation: Area
Calibration Flag: Wt Average
Calibration Weight: 0 Calibration Unit: ppm
Level Amount Response
1 4 8580303.4
Fit Type: Linear Force Zero: Yes
Weight Method: None
% Calibration Margin: 0 Scale: None
Low Conc: 0 High Conc: 0
Spike 1 Amount: 0 Spike 2 Amount: 0
Low Spike Limit: 0 High Spike Limit: 0
Duplicate %RD Limit: 0 RF %RD Limit: 0
Check Std 1 Conc: 0 Check Std 1 %RD: 2
Check Std 2 Conc: 0 Check Std 2 %RD: 0
Check Std 3 Conc: 0 Check Std 3 %RD: 0
Check Std 4 Conc: 0 Check Std 4 %RD: 0
Check Std 5 Conc: 0 Check Std 5 %RD: 0
Expected Retention Time: 3.5 (Minutes)
Expected Retention Window: 0.246 (Minutes)
Retention Time Update: None
Limit of Detection: 0.000000
Limit of Quantitation: 0.000000
Group Table
None

Method Name: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Method\metamidofos.met
User Name: CCASTRO
Print Time: 19/09/2009 03:02:19 p.m.
Created: 27/02/2006 05:25:20 p.m.
Modified: 19/09/2009 03:00:09 p.m.

Hitachi L-2400 UV Detector - Channel 1
Stop Time (min): 5.00
Response Time (s): 0.1
Sampling Period (ms): 200
Offset (AU): 0.000
Polarity: Positive
Range: Standard
Auto Zero Before Injection: Yes
Lamp Off at Shutdown: Yes
Time Table
Time (min): 0.0 Wavelength (nm): 210 Baseline: Auto Zero

Integration Events table with columns: Enabled, Event Type, Start (Minutes), Stop (Minutes), Value. Shows integration at 3.9 minutes.

Manual Integration Fixes
Data File: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Data\030025-Rep1.dat

Table with columns: Enabled, Event Type, Start (Minutes), Stop (Minutes), Value. Shows manual integration at 3.9 minutes.

Export Options
Export Options: Enabled
Peaks:
Exported Parameter Num Decimals
Retention Time 3
Area 0
Groups:
Exported Parameter Num Decimals
None
Standard Reports:
Exported Parameter Num Decimals
None
Chromatogram:
Exported Parameter Num Decimals

ANEXO 11-1: Reporte del Método de Análisis de Methamidophos por HPLC

Method Name: C:\EZChrom Elite\Projects MEDCO\Producto Terminado\Meth
User Name: CCASTRO
Print Time: 19/09/2009 03:02:19 p.m.
Created: 27/02/2006 05:25:20 p.m.
Modified: 19/09/2009 03:00:09 p.m.

None

Field Separator: <Tab>
Path for Export Files: None

ODBC Export: Disabled

Performance Parameters

=====

Calculate Performance Parameters: Yes
Unretained Peak Time: 0.8 (Minutes)
Column Length (Meters): 0.125 (Meters)
Particle Diameter: 4.600 (Microns)
Column Serial Number: 629941 LOTE HX 677072
Column Installation Date: 2007-10-22
Column Description: Lichrospher 100 RP-8 Merck
USP Calculation Method: Enabled

ANEXO 11-2: Reporte del Método de Análisis de Methamidophos por HPLC

----- Pesar -----
3. Jul 2009 20:00
Mod. balanza XS204
Plataforma de pesaje N||
de serie:

1128361745

Terminal N|| de serie:
1128361745

MUESTRA TOMATE

100.0013 g
100.0023 g
100.0009 g
100.0016 g
100.0023 g
100.0013 g
100.0025 g
100.0012 g
100.0016 g
100.0019 g
100.0024 g
100.0015 g
100.0021 g
100.0025 g
100.0003 g
100.0010 g
100.0013 g
100.0015 g
100.0025 g
100.0014 g
100.0023 g
100.0026 g
100.0011 g
100.0016 g
100.0022 g

Firma



ANEXO 12: Voucher de Pesos de Muestras Emitidas por la Balanza Mettler Toledo

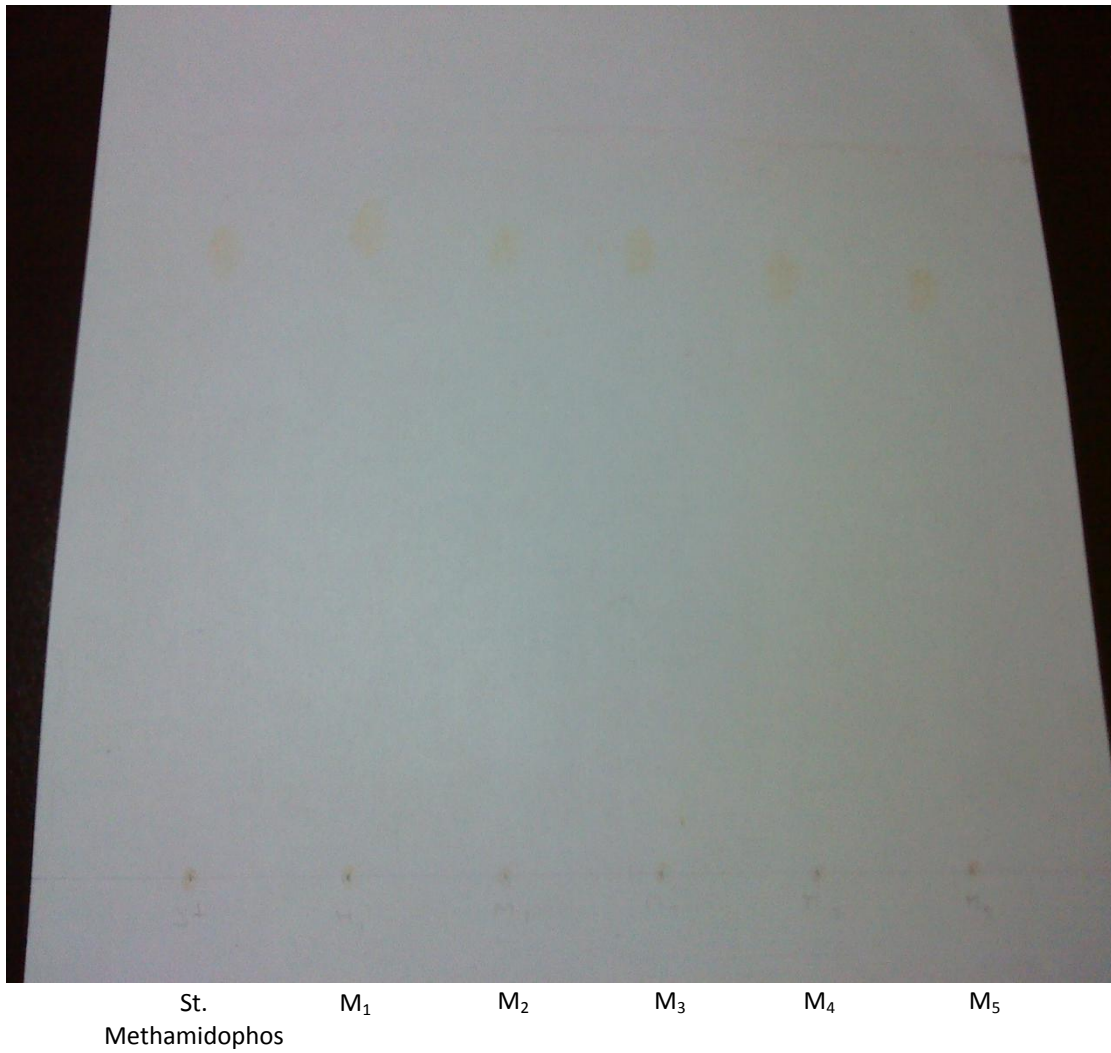
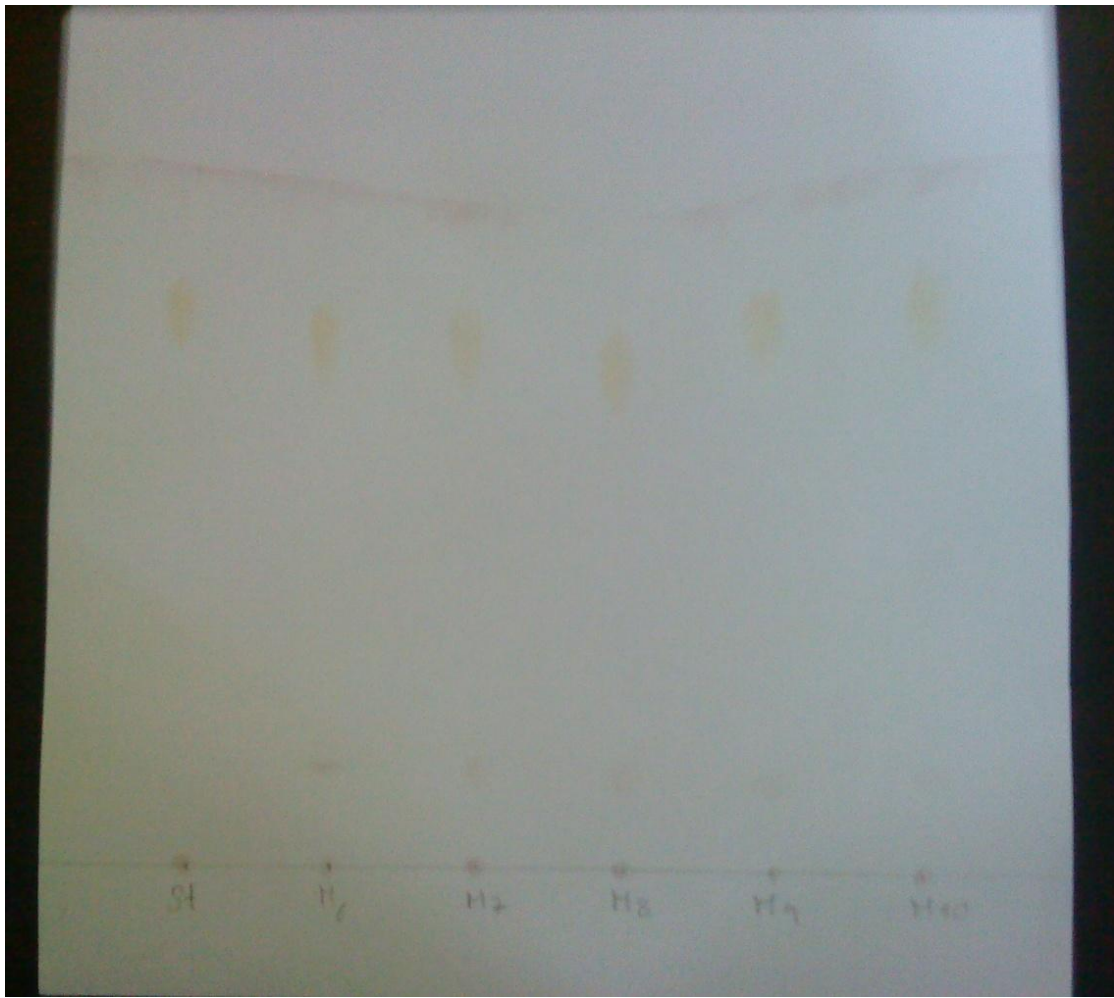


FOTO 1: Methamidophos con Revelador Bicloruro de Paladio



St. M₆ M₇ M₈ M₉ M₁₀
Methamidophos

FOTO 2: Methamidophos con Revelador Verde Brillante

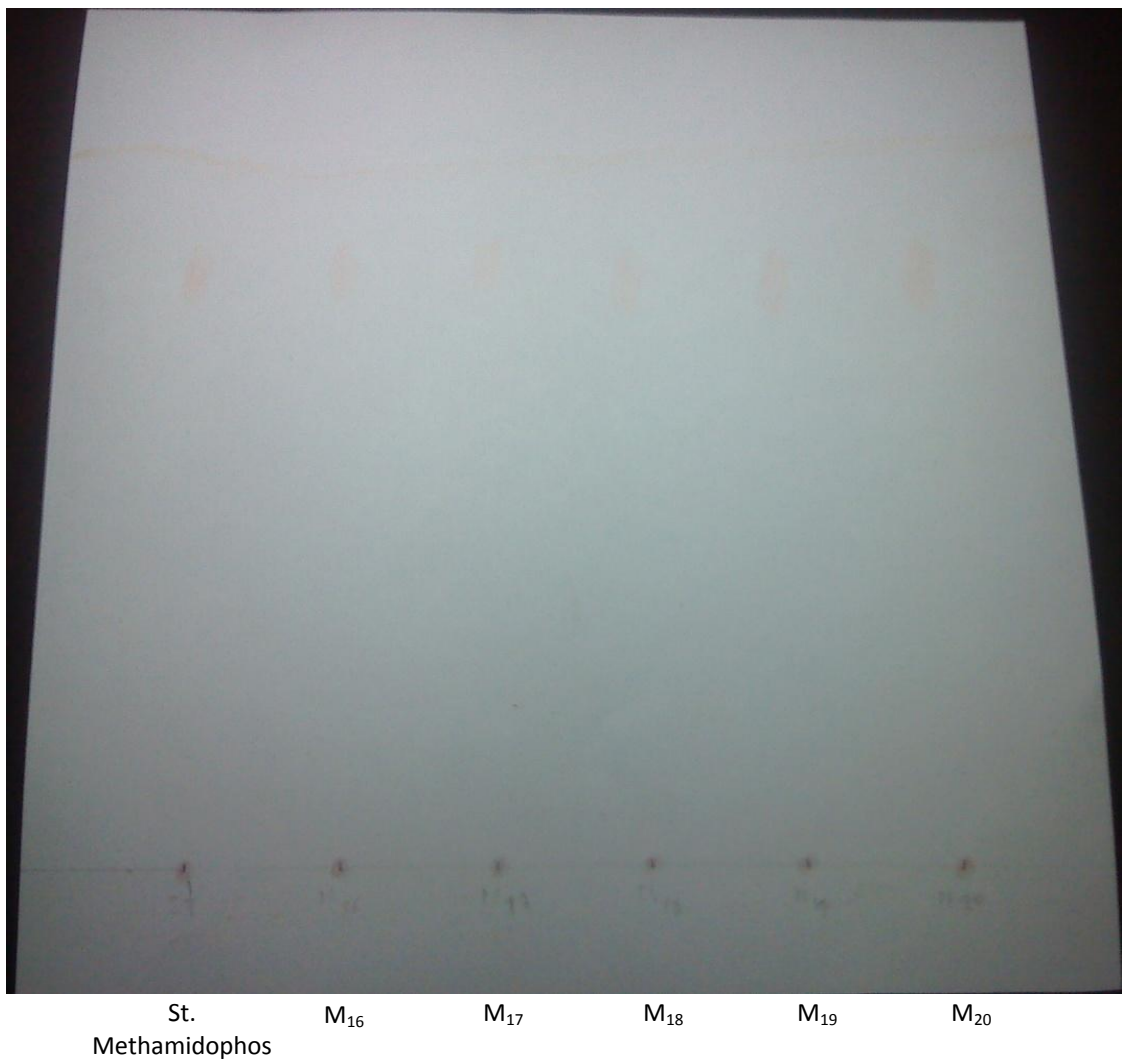


FOTO 3: Methamidophos con Reactivo Bioquímico