

Paola A. Castro*, Juan Pablo Ramos, Sandra L Estévez*** y Andrea Rangel******

R E S U M E N : Se estudió la presencia de residuos de diez plaguicidas organofosforados (POPs) en tomates adquiridos en la central de abastos y en una cadena de supermercados de Bogotá, usando extracción líquido-líquido (LLE) y determinación analítica mediante un equipo de Cromatografía de Gases de Alta Resolución (HRGC) - Detector Fotométrico de Llama (FPD). Los plaguicidas analizados fueron: Clorfevinfos, Clorpirifos, Demeton O, Demeton S, Diclorofentión, Dimetoato, Famfur, Leptofo, Metilparation y Triclorfon. Se analizaron diez muestras obtenidas en la central mayoritaria de abastos y ocho muestras de una cadena de supermercados de las cuales el 55% presentó contaminación con Dimetoato, aunque ninguna sobrepasó el límite máximo de residuos (LMR) de 1 mg/kg establecido por el Codex alimentario. También se encontraron residuos de Metilparation y Clorfevinfos, en ambos casos dentro de los límites permitidos

A B S T R A C T : The presence of ten organophosphorus pesticides was studied in tomatoes acquired from markets in Bogotá (Colombia), using Liquid-liquid Extraction (LLE) and High Resolution Gas Chromatography (HRGC) with flame photometric detector (FPD). The pesticides analyzed were: Chlorfevinphos, Chlorpyrifos, Demeton O, Demeton S, Dichlofenthion, Dimethoate, Famphur, Leptophos and Trichlorfon. Eighteen samples were analyzed in which fifty five percent were contaminated with Dimethoate. Dimethoate levels in the contaminated samples were below the maximum residue levels (MRL) of 1 mg/kg established by the Codex alimentarius. Residues of Methyl parathion and Chlorfevinphos were also found, below the MRL.

Palabras clave: Pesticidas Organofosforados, tomate, contaminación, alimentos, cromatografía

Centro de Investigación en Ingeniería Ambiental – CIIA, Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

*** Ingeniera Química con Maestría en Ingeniería Civil, Universidad de los Andes**

**** Ingeniero Civil, Universidad de los Andes. Master en manejo Ambiental, Duke University**

***** Química especialista en Cromatografía, Universidad Industrial de Santander**

****** Química especialista en Cromatografía, Universidad Industrial de Santander**

1 . INTRODUCCIÓN

Uno de los resultados de la Revolución Verde fue el incremento en el uso de plaguicidas en la agricultura. Por esta razón es común encontrar residuos de estos compuestos en los alimentos. Los plaguicidas son tóxicos y su exposición por medio de la ingestión puede afectar la salud humana.

Dentro de los alimentos que tienden a acumular plaguicidas se encuentran los tomates, las papas, las espinacas y las lechugas (Erney, 1999).

Una vez aplicado sobre el vegetal, el plaguicida sufre un proceso que puede llevárselo en un tiempo variable a su transformación y/o inactivación parcial o total. La porción que queda en el vegetal después de cosechado, constituida por los restos del plaguicida, sus metabolitos y algunos coadyudantes de la formación, constituyen los "residuos" (Barberá, 1989). Los depósitos pueden ser parcial o totalmente removidos por acciones mecánicas producidas por las lluvias, el lavado o el cepillado.

El monitoreo de residuos de plaguicidas en los alimentos para establecer el grado de exposición de una población humana, es fundamental para determinar las posibles consecuencias toxicológicas a largo plazo.

Los residuos de plaguicidas pueden aparecer en alimentos en concentraciones denominadas trazas. Estas trazas son generalmente del orden de partes por millón (μg de pesticida/ gramo de alimento). La medición de cantidades tan pequeñas de estos com-

puestos en presencia de enormes cantidades de otros compuestos propios de la naturaleza química de los alimentos hace de su análisis un proceso complejo, si se tiene en cuenta que estas sustancias pueden interferir con la medición de los residuos dejados por los plaguicidas.

A pesar de su problemática toxicológica, los plaguicidas organofosforados (POPs) juegan en la actualidad un papel preponderante como plaguicidas fitosanitarios. Su eficacia se ha demostrado frente a insectos minadores, moscas de fruta, ácaros, etc. Su aplicación periódica en diferentes puntos del alimento o bien el rociado total del árbol con compuestos de elevado poder de penetración, pueden provocar la aparición de residuos cuya importancia toxicológica debe ser evaluada regularmente.

Entre los métodos de análisis de residuos empleados para la determinación de POPs, la Cromatografía de Gases de Alta Resolución acoplada a un Detector Fotométrico de Llama (HRGC-FPD) ha sido considerada el método de elección para la determinación rápida e inequívoca de residuos de estos plaguicidas (Hammarstrand, 1976).

En el estudio que se describe a continuación se analizó la presencia de diez plaguicidas organofosforados en tomates: Clorfevinfos, Clorpirifos, Demeton O, Demeton S, Diclorofentión, Dimetoato, Famfur, Leptofo, Metil paration y Triclorfon. Los tomates fueron obtenidos en establecimientos que proveen este producto de manera directa a los consumidores de la ciudad de Bogotá.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Reactivos y químicos

Estándares de plaguicidas empleados: mezclas de doce compuestos organofosforados de referencias: M-1657-02-1x (490 ng/mL), M-1657-02-5x (2450 ng/mL) y M-1657-02-20x (9800 ng/mL) con respecto al Triclorfon. (Accustandard Inc. New Haven, CT. USA). Los compuestos presentes en cada una de las soluciones son: Clorfevinfos, Clorpirifos, Demeton O, Demeton S, Diclofentión, Dimetoato, Famfur, Leptofos, Metilparation, Tributilfosfato, Triclorfon, en isoctano y Tributilfosfato y Trifeniilfosfato como surrogates (ss). En la Tabla 1 se muestran las concentraciones de los diferentes plaguicidas en cada uno de los estándares.

Solvente empleado para la extracción de las muestras: Hexano grado HPLC (Merck, Darmstadt, Alemania).

Sílica gel (J.T Baker Analysed reagent, PH. USA).

Na₂SO₄ anhidro (Carlo Erba, Montedison Group, Italia)

Tabla 1. Mezclas de POPs empleados en este estudio.

Compuesto	Solución A ng/ml	Solución B ng/ml	Solución C ng/ml
Clorfevinfos	197.8	989	3956
Clorpirifos	200.2	1001	4004
Demeton mezcla	399.9	2000	7998
Diclofentión	199.8	999	3996
Dimetoato	100.1	500.5	2002
Famfur	495.0	2475	9900
Leptofos	200.4	1002	4008
Metilparation	198.6	993	3972
Triclorfon	200.2	1001	4004
Tributilfosfato (ss)	490.0	2450	9800
Trifeniilfosfato (ss)	200.2	1001	4004

2.2 Instrumentación

Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard (Palo Alto, CA.USA) HP 6890 Series II, dotado de un Detector Fotométrico de llama usado en modo fósforo, un inyector *split/splitless* y un sistema de datos HP Chemstations for GC systems.

Mini- agitador Maxi – Mix 1 (Thermolyne. Iowa. USA).

Concentrador de extractos Mini-Vap de seis puertos (Supelco. Bellefonte, PA. USA).

Centrífuga DINAC de 16 tubos.

2.3 Procedimiento de muestreo

Con el fin de analizar el nivel de POPs presentes en los tomates distribuidos en la ciudad de Bogotá, se tomaron muestras en diversos puntos del canal de comercialización de este producto. Uno de ellos fue la central de abastos, lugar al cual llega el 80% de la oferta total de la ciudad de Bogotá (ICA, 2000). El otro fue una de las cadenas de supermercados más grandes de la ciudad en venta al detal.

2.3.1 Central de abastos de Bogotá CORABASTOS.

Esta central se considera como intermediaria en la cadena de comercialización de toda clase de vegetales, frutas, derivados lácteos y demás alimentos, por lo cual la mayoría de productos se venden al por mayor. Sin embargo, existe una bodega destinada para la venta de hortalizas al detal.

La bodega consta de 40 expendios distribuidos de forma paralela en dos grandes filas separadas por un corredor.

Para garantizar que las muestras fueran tomadas aleatoriamente se planteó el siguiente procedimiento.

Teniendo en cuenta el número total de expendios, se procedió a tomar como punto inicial el primer expendio ubicado al costado izquierdo de la entrada norte. Este expendio fue el primer sitio muestreado.

A partir de ahí se contaron tres expendios más y el cuarto fue el asignado para ser muestreado nuevamente. Así sucesivamente hasta completar todo el recorrido. En total se muestrearon diez expendios. Se tomaron dos muestras por establecimiento, teniendo en cuenta que una de ellas fuera escogida de la parte exterior o de la superficie de la canastilla y la otra introduciendo el brazo hasta ubicar el centro de ésta.

2.3.2 Cadena de supermercados

Para realizar el muestreo en la cadena de supermercados, se tuvo en cuenta que existen en total 32 establecimientos en la ciudad de Bogotá. Basados en un listado en orden alfabético de estos establecimientos, se determinaron aleatoriamente los sitios de muestreo tomando como punto de partida el número uno de la lista y contando a partir de ahí cuatro establecimientos para determinar el siguiente establecimiento a muestrear. De esta forma se garantizó un buen cubrimiento geográfico de la ciudad.

El muestreo en cada uno de los supermercados fue similar al realizado en CORABASTOS. Los tomates se encontraron en bandejas, por lo cual se procedió a tomar uno de la superficie y otro del centro de ésta. Tanto las muestras obtenidas en CORABASTOS como en los supermercados fueron tomadas en bolsas con sello de presión para mantener las muestras libres de contaminación. Las muestras se preservaron a 4°C hasta el momento de extracción y análisis.

2.4 Calibración

Se realizaron tres curvas de calibración de los POPs, empleando las soluciones estándar así: rango bajo de 0.245 ng a 2.45 ng, rango medio de 1.225 ng a 12.25 ng y rango alto de 4.9 ng a 49 ng según el Triclorfon, con volúmenes de inyección de 0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 μ l.

2.5 Procedimiento de extracción

De cada tomate licuado y homogenizado se tomaron cinco gramos que fueron llevados a tubos de ensayo de 20 mL con tapa rosca (SCHOTT) y disueltos en 6 mL de agua desionizada. A esta mezcla se adicionó el 30% v/v de NaCl. Se realizó extracción líquido – líquido con Hexano (1 mL x 3 veces) agitando por 3 minutos y centrifugando a 50 rpm durante 5 minutos.

Na₂SO₄ anhidro fue adicionado a los extractos obtenidos. Posteriormente fueron sometidos a clean-up con columnas de sílica gel de aproximadamente 4 cm. El volumen obtenido luego de este procedimiento se concentró a 1 mL empleando el concentrador de extractos Mini -Vap.

Finalmente las soluciones se almacenaron en viales de 2 ml con tapa de septum perforable (Agilent), refrigerándolas para su posterior análisis cromatográfico a las condiciones que se muestran en la Tabla 2.

El porcentaje de recuperación del procedimiento de extracción fue determinado dopando 5 gramos de tomate con concentraciones conocidas de 100, 200 y 1000 $\mu\text{g/L}$ de Triclorfon en la solución estándar C y se llevó a cabo el procedimiento de extracción planteado.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas para la determinación de POPs en alimentos.

Parámetro	Condición
Columna	HP-1, 60 m * 250 μm * 0.25 μm nominal
Modo de inyección	<i>Splitless</i>
Gas <i>carrier</i>	Helio
Gas <i>makeup</i>	He, 30 mL/min
Detector	FPD en modo fósforo
	Aire, 110 mL/min
Temperatura del horno	H_2 , 150 mL/min 150°C (2 min) @ 8°C/min hasta 220°C (0 min) @ 5°C/min hasta 230°C (4 min) @ 10°C/min hasta 240°C (0 min) hasta 245°C (16 min).
Temperatura inyector	250°C
Temperatura detector	250°C

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los POPs estudiados presentan el perfil cromatográfico mostrado en la Figura 1.

Las curvas de calibración obtenidas para cada uno de los compuestos, exhiben un comportamiento lineal, de acuerdo con los coeficientes de correlación lineal

obtenidos ($R^2 \geq 0.99$), con excepción del Triclorfon, que presenta un coeficiente de correlación por debajo de este valor, para la curva de calibración de bajo rango.

En cuanto a los límites de detección, se pudo observar que todos se detectan en concentraciones cercanas a los 20 $\mu\text{g/L}$, con excepción del Triclorfon que sobrepasa estos valores significativamente.

En la Tabla 3 se pueden observar los niveles mínimos de detección (NMDs) y los niveles mínimos de cuantificación (NMCs) de cada uno de los compuestos presentes en la mezcla.

La selectividad en la detección por parte del FPD en modo fósforo de un grupo de compuestos, se debe a la presencia de átomos de este elemento en su estructura (Wilson *et al.* 1997).

En el caso de los POPs estudiados, todos poseen un solo átomo de Fósforo, sus estructuras difieren básicamente en el número de átomos presentes de elementos como Azufre, Cloro y Bromo, que ocasionan una disminución en la respuesta del detector.

Tabla 3. Niveles mínimos de detección de plaguicidas organofosforados en tomates.

Compuesto	NMD (pg/L)	NMC(pg/L)*
Triclorfon	300	600
Demeton O	14.8	29.7
Dimetoato	16	32.1
Demeton S	28	56.1
Tributilfosfato	63.6	127
Metilparation	15.7	31.4
Diclorofentión	17	34
Clorpirifos	22	43
Clorfevinfos	71.1	142
Famfur	21	42
Leptofofos	59.9	119
Trifenilfosfato	61	122

* NMC = 2NMD

Los porcentajes de recuperación del procedimiento de extracción empleado son altos para el Dimetoato (98%), metilparation (94%) y el Clorpirifos (97%) si se tiene en cuenta la complejidad de la matriz estudiada.

Por el contrario, el Triclorfon exhibe el menor porcentaje de recuperación (45%), posiblemente debido a su polaridad y solubilidad en el agua (15.4 g/100mL).

En la Tabla 4, se muestran los porcentajes de recuperación promedio obtenidos para los POPs en estudio.

Tabla 4. Porcentajes de recuperación de POPs en muestras de tomate.

Compuesto	[μg/L]	% Rec	Compuesto	[μg/L]	% Rec
Triclorfon	1000	45	Diclorofentión	816	74
Demeton O	530.5	68	Clorpírifos	408.6	97
Dimetoato	204.3	99	Clorfevinfos	403.6	66
Demeton S	285.5	72	Famfur	1010	82
Tributilfosfato	408.5	88	Leptofos	409	68.5
Metilparation	405.3	94	Trifenilfosfato	408.5	84

Aunque no todos los porcentajes de recuperación alcanzan valores muy altos (mayores al 90%) y se encuentran entre los rangos normales de recuperación para análisis en muestras de alimentos, no debe pasarse por alto el hecho de que este tipo de matrices posee una gran cantidad de interferencias, tales como la presencia de pigmentos y lípidos, lo cual dificulta el aislamiento de los analitos de interés (Calonge, et al. 2001).

3.1 Análisis de POPs en muestras en la ciudad de Bogotá.

Aplicado el procedimiento de extracción y análisis a cada una de las muestras de tomate tomadas en Bogotá, se observa en la mayoría de ellas la presencia de Dimetoato, uno de los POPs en estudio y de los insecticidas más empleados en cultivos de tomate (ICA, 2000). Las concentraciones presentes en cada muestra analizada se detallan en la Tablas 5 y 6.

Tabla 5. Compuestos presentes en las muestras de tomate de CORABASTOS.

Muestra	Compuesto	Concentración* (mg/kg)
1	ND	-
2	ND	-
3	Dimetoato	0.018
4	Clorfevinfos	0.02
5	ND	-
5	Dimetoato	0.08
6	Metilparation	0.01
7	Dimetoato	0.05
8	Dimetoato	0.5
9	ND	-
10	Dimetoato	0.2
10	ND	0.02

ND = No Detectado

* Valor promedio de extracciones por duplicado

Tabla 6. Compuestos presentes en las muestras de tomate de Supermercado.

Muestra	Compuesto	Concentración* (mg/kg)
1	Dimetoato	0.016
2	ND	-
3	ND	-
4	Dimetoato	0.02
5	ND	-
6	Dimetoato	0.015
7	Dimetoato	0.02
8	ND	-

* Valor promedio de 3 réplicas

Los perfiles cromatográficos obtenidos mostraron la presencia de Dimetoato en concentraciones que van desde 0.01 mg/kg hasta 0.5 mg/kg en la muestra más contaminada.

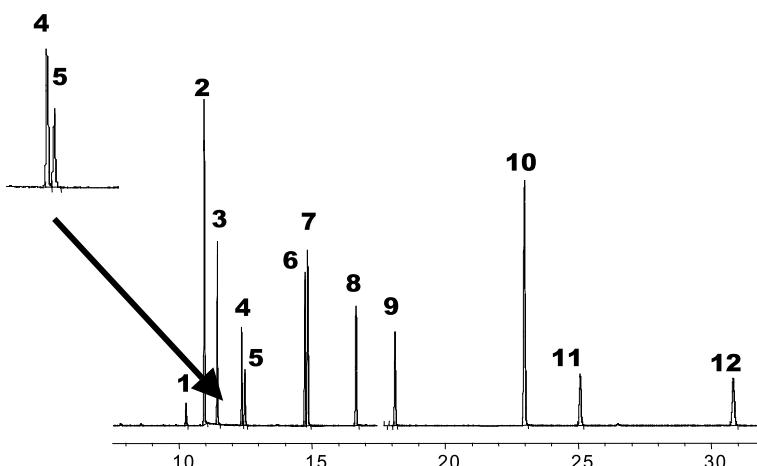


Figura 1. Cromatograma de 9 mg/L de Triclorfon obtenido por GC-FPD de una solución estándar de plaguicidas organofosforados.

En dos de las muestras se observa la presencia de Clorfevinfos y Metilparation. Sin embargo, la concentración de los tres plaguicidas detectados no supera los límites permisibles establecidos por la EPA, el Codex Alimentario y estándares internacionales, los cuales pueden observarse en la Tabla 7.

Tabla 7. Límites permisibles de residuos de POPs en Tomate

Compuesto	EPA (mg/kg)	Codees Alimentario (mg/kg)	Australia y Reino Unido (mg/kg)
Dimetoato	2	1	
Metilparation	-	0.01-0.2	
Clorfevinfos	-		0.1

4. CONCLUSIONES

La técnica de extracción líquido – líquido con Hexano es una metodología eficaz y apropiada para la determinación de POPs en muestras de alimentos. Provee un porcentaje de recuperación promedio de los analitos del 85%.

El intervalo de concentraciones de POPs en muestras de tomate encontrado en este estudio utilizando la técnica de extracción líquido-líquido y análisis HRGC-FPD, va desde 0.05 mg/kg hasta 0.5 mg/kg.

El 50% de las muestras de tomate analizadas obtenidas en una cadena de supermercados en Bogotá presentaron residuos de Dimetoato, con una concentración que estaba dentro de los límites permisibles. En las muestras de los supermercados no se encontraron residuos de otros plaguicidas.

Para el caso de las muestras tomadas en la central del abastos de Bogotá CORABASTOS, el 60% presentaron residuos de Dimetoato, todos dentro de los límites permisibles. Se encontró además una muestra contaminada con Metilparación, y una muestra contaminada con Clorfevinfos. La concentración de residuos en la muestra de tomate contaminada con Clorfevinfos se encuentra dentro de los límites permitidos en Australia y el Reino Unido. Con relación a la muestra contaminada con Metilparación, no deberían existir residuos de este compuesto en tomate ya que en Colombia su aplicación está restringida a los cultivos de tabaco y granos desde 1991 (Codex alimentarius 2004). El Metilparación es un Contaminante Orgánico Persistente, altamente tóxico (EPA 2004), y su uso está severamente restringido a nivel mundial. El Metil Paración quedó incluido en la Convención de Róterdam dentro de la lista de químicos que requieren Consentimiento Previo Informado para su comercialización y transporte. La EPA de los Estados Unidos prohíbe la aplicación del Metilparación en tomate, y desde enero 5 del 2001 canceló niveles de tolerancia (residuos) de este producto en este mismo producto. El Codex alimentarium de la FAO-WHO explica que los niveles máximos permitidos de Metilparación en alimentos oscilan entre 0.01 y 0.2 mg/kg (Codex alimentarium 2004). Desde esta perspectiva la concentración de 0.01 mg/kg encontrada en este estudio cumpliría con el nivel más restrictivo de concentración de residuo de este plaguicida.

La presentación en polvo del principal plaguicida encontrado en las muestras de tomate analizadas en el marco de este estudio, Dimetoato, no tiene permiso de uso por parte de la Junta de Productos para el Control de Plagas de los Estados Unidos.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) ha determinado que el Dimetoato tiene riesgos de tipo mutagénico y efectos reproductivos y de fetotoxicidad. No hay confirmación acerca de los riesgos de tipo cancerígeno. Los registros para las formulaciones en polvo de Dimetoato fueron suspendidos por la EPA en enero de 1981 (Naciones Unidas, 1994). Con base en el análisis de las muestras de tomate no es posible determinar si los residuos de Dimetoato encontrados son el resultado de aplicación de la presentación en polvo del plaguicida.

A pesar del poco control que se ejerce en Colombia sobre el contenido de plaguicidas en alimentos, los resultados obtenidos de concentración de plaguicidas en tomate están dentro de los límites máximos permitidos. Algunas de las razones para que esto se presente podrían ser:

- a. Una aplicación adecuada de los plaguicidas por parte de los agricultores
- b. Procesos de lavado del plaguicida del tomate posterior a la aplicación de los plaguicidas por medio de la precipitación natural, riego, o lavado para presentación en punto de venta

Por medio de este estudio no es posible conocer con

exactitud la razón o razones para que los residuos de plaguicidas cumplieran los límites establecidos. Independientemente de cual sea la razón, lo que es importante destacar es el cumplimiento de estos límites.

Se recomienda ampliar las muestras para incrementar la representatividad de las mismas, así como establecer unas frecuencias de muestreo que abarquen diferentes condiciones del entorno como las épocas de lluvia o verano, las cuales podrían alterar la concentración de los residuos de plaguicidas.

Igualmente es recomendable ampliar el espectro de alimentos analizados, e incluir variedades altamente sensibles a las plagas como las fresas, lo cual conllevaría a que en este producto se requiera una aplicación intensiva de agroquímicos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barberá, C.

Pesticidas agrícolas. Características y propiedades de plaguicidas organofosforados:

Omega, Barcelona, 1989

Hammarstrand, K.

“Gas chromatography analysis of pesticides. Varian Associates”

En *Quantitative analysis* 34-87. 1976

**Instituto Colombiano Agropecuario ICA. División de
Insumos Agrícolas.**

*Registros de Insumos utilizados en el sector agroindustrial
Colombiano*
2000

Leoni V. & Caricchia AM.

“Multiresidue method for quantitation of
organophosphorus pesticides in vegetable and
animal foods”

En *Journal of AOAC*. 75(1): 511-518. 1992

Mills, P.A, et al.

“Method for non-fatty foods. Analysis of pesticides”
En *Journal Association Off. Agricultural Chemistry*.
46(1) 186-191. 1993

**United Nations. Department of Policy Coordination
and Sustainable Development**

*Consolidated list of products whose consumption and/or
sale have been banned withdrawn severely restricted or not
approved by governments.*

Fifth Issue. 1994.

Wilson, B & Klee, M.

*Analysis of Sulfur and Phosphorus compounds with a
FPD on the HP 6890*
Hewlett Packard Application Note 228-371. 1997

**FAO-WHO Panel of Experts on Pesticide Residues in
Food and the Environment and WHO Toxicological
Core Assessment Group, Rome, Italy,**
Pesticides Residues in food – 1996
16-25 September 1996

FAO-WHO

Codex alimentarius,
www.codexalimentarius.net
Junio 29 2004