

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES**



**“ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS
ORGANOFORFORADOS EN PLÁTANO (*Musa cabendishi*)
CULTIVADO EN EL ESTADO DE COLIMA”**

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD:

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

JORGE GARCÍA LÓPEZ

**DIRECTOR DE TESIS
M. en C. Elsa Leticia Ramírez Cerda**

LAS AGUJAS ZAPOPAN, JALISCO MARZO DE 2008



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura en Biología

1291/ C. C. BIOLOGÍA

C. Jorge García López

PRESENTE

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido **aprobado** el cambio en el título de su tema de titulación en la modalidad de: **Tesis e Informes** Opción Tesis: con el título: **“Análisis y determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en platano (*Musa cavendishi*) cultivado en el Estado de Colima”** para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director / a de dicho trabajo el/la: **M.C. Leticia Ramírez Cerda** y como asesor a el/la **M.C. Pedro Macedonio García López**.

Sin más por el momento, le envío un afectuoso saludo.

NOTA: La presente sustituye a la carta fechada el 4 de junio de 2007 con número de oficio 1145/C.C. BIOLOGÍA

ATENTAMENTE
“PIENSA Y TRABAJA”
Las Agujas, Zapopan., 13 de febrero del 2008.


DR. FRANCISCO MARTÍN HUERTA MARTÍNEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


M en C. GLORIA PARADA BARRERA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dr. Fco. Martín Huerta Martínez.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología.
 CUCBA.
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad Tesis e informes, opción Tesis con el título: "Análisis y determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en plátano (*Musa cavendishi*) cultivado en el estado de Colima" que realizó el pasante Jorge García López con número de código 395368034 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión y en su caso programación de la fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

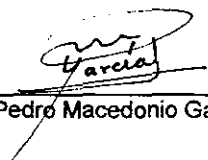
Atentamente


Las Agujas, Zapopan., 25 de febrero del 2008

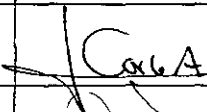

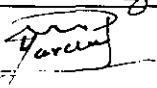
Director de Tesis.

Asesor:


 M. C. Elsa Leticia Ramírez Cerda


 M. C. Pedro Macedonio García López

Vo B. 6


| Sinodales asignados por el Comité de Titulación | Firma de aprobado | Fecha de aprobación |
|---|---|---------------------|
| Dr. Carlos Álvarez Moya |  | 25/Feb/08 |
| M. C. Rosa María Domínguez Arias |  | 25/Feb/08 |
| Biol. Mónica Reynoso Silva | Mónica Reynoso | 25/02/08 |
| Suplente: M. C. Pedro Macedonio García López |  | 25/02/2008 |

V
P
C

Agradecimientos.

A mi familia que es el pilar más fuerte en el cual siempre me sostengo.

A mi padre por haberme brindado la oportunidad de seguir mi camino.

A mi madre por dotarme de fortaleza y cariño necesarios para salir victorioso de todos los retos que he tenido.

A mi Hermana Karina y Ernesto que siempre han sido mis ángeles guardianes durante esta larga travesía que dios los colme de bendiciones.

A mi inseparable amigo Juan Jesús Ruelas Medina por brindarme su apoyo incondicional y su inquisitivo punto de vista de las cosas.

A mis tías Guadalupe y Elisa, que siempre se han preocupado por mi bienestar y nunca han escatimado en apoyarme con su cariñoso consejo y su fuerza interior.

A mi directora la M.C. Elsa Leticia Ramírez Cerda, por brindarme su confianza, apoyo y los medios necesarios para la realización de esta tesis.

A todos aquellos que contribuyeron en la formación y consolidación de mi carácter, ya sea con sus actos positivos o por medio de pruebas y retos de los cuales hubo que aprender a salir adelante.

A mis sinodales:

Dr. Carlos Álvarez Moya. Gracias por el apoyo brindado en la redacción de esta tesis así como su amable disposición para darme su sabio y oportuno consejo.

Biol. Mónica Reynoso Silva. Agradezco que además de brindarme su ayuda y guía en la elaboración de este documento, me otorgo su amistad y su amable sonrisa siempre.

M. C. Rosa María Domínguez Arias. Gracias por darme su sabio consejo así, como también por demostrar empatía por mi proyecto, lo cual fue pieza fundamental en la elaboración de este documento.

M. C. Pedro Macedonio García López. Le agradezco maestro por siempre brindarme un trato amable y sereno, por recordarme que con tranquilidad se logran mejor las cosas, así como por siempre mostrarse atento a mi investigación.

“Siempre que te pregunten si puedes hacer un trabajo, contesta que si y ponte enseguida a aprender como se hace.”

Franklin Delano Roosevelt.

Índice General.

Contenido.

Página.

Resumen.

| | |
|--|-----------|
| 1. Antecedentes. | 1 |
| 1.1 Agricultura y crecimiento poblacional. | 1 |
| 1.2 Cultivo del plátano a nivel mundial. | 1 |
| 1.3 El cultivo del plátano en México. | 2 |
| 1.4 Clasificación taxonómica del plátano variedad "enano gigante". | 4 |
| 1.5 Requerimientos para el cultivo del plátano. | 4 |
| 1.6 Principales plagas que afectan el cultivo. | 5 |
| 1.7 Uso y manejo de agroquímicos. | 7 |
| 1.8 Los plaguicidas. | 8 |
| 1.9 Pesticidas químicos sintéticos. | 10 |
| 1.10 Pesticidas Organofosforados (OP). | 13 |
| 1.11 Fisiopatología de los OP. | 15 |
| 1.12 Marco legal y regulatorio de los pesticidas en México. | 19 |
| 1.13 Los residuos de los pesticidas. | 22 |
| 1.14 Métodos Oficiales. | 23 |
| 2. Planteamiento del problema. | 27 |
| 3. Hipótesis. | 28 |
| 4. Objetivos. | 29 |
| 4.1 General. | 29 |
| 4.2 Particulares. | 29 |
| 5.-Material y Métodos. | 30 |
| 5.1 Recopilación de información para la selección de los plaguicidas empleados para el cultivo de plátano. | 30 |
| 5.2 Implementación y desarrollo de los métodos cromatográficos. | 31 |
| 5.3 Método para cromatografía de capa fina. | 31 |
| 5.4 Método para Cromatografía de gases. | 34 |
| 5.5 Validación del método cromatográfico. | 36 |
| 5.6 Análisis de Plaguicidas en plátano. | 38 |
| 6. Discusión y Resultados. | 39 |
| 6.1 Plaguicidas utilizados en para el tratamiento de plagas del plátano. | 39 |
| 6.2 Implementación de los métodos cromatográficos. | 41 |
| 6.3 Validación del método cromatográfico de gases. | 43 |
| 6.4 Análisis de plaguicidas en muestras de plátano. | 46 |
| 7. Conclusiones. | 52 |
| 8. Bibliografía. | 53 |
| 9. Anexo. | 57 |

Índice de figuras

Contenido.

Página.

| | |
|---|----|
| Figura 1.-Época de incidencia de algunas plagas del plátano. | 7 |
| Figura 2.-Insecticidas organoclorados. | 11 |
| Figura 3.-Estructura química básica de un piretroide. | 12 |
| Figura 4.-Estructura química de un carbamato. | 12 |
| Figura 5.-Estructura química general de las triazinas. | 13 |
| Figura 6.-Los cuatro grupos funcionales de los pesticidas organofosforados. | 13 |
| Figura 7.-Sinopsis colinérgica. | 15 |
| Figura 8.-Mecanismo de acción toxica de los insecticidas OP sobre las sinapsis colinérgicas. | 16 |
| Figura 9.-Diagrama de operación de un cromatógrafo de gases. | 24 |
| Figura 10.-Funcionamiento general de un detector FPD. | 26 |
| Figura 11.-Diagrama de flujo para la determinación de plaguicidas en plátano cultivado en Colima. | 30 |
| Figura 12.-Procedimiento de extracción para el análisis de plaguicidas. | 35 |
| Figura 13.-Resultados de las encuestas aplicadas a los productores en los huertos de Colima. | 39 |
| Figura 14.-Placa cromatografica de capa fina ya revelada que muestra ausencia de zonas coloradas. | 41 |
| Figura 15. Cromatograma de tiempos de retención de los pesticidas Organofosforados. | 43 |
| Figura 16.-Cromatograma para solventes. | 45 |
| Figura 17.-Cromatograma muestra blanco. | 46 |
| Figura 18.-Cromatograma de una muestra negativa. | 48 |
| Figura 19.-Cromatograma positivo para Clorpirifos metilo y Clorpirifos. | 49 |
| Figura 20.-Cromatograma positivo para diazinon, Clorpirifos metilo y clorpirifos. | 49 |
| Figura 21.-Cromatograma positivo para diazinon y clorpirifos metilo. | 49 |
| -Muestras positivas a plaguicidas organofosforados por municipio de Colima | 51 |

Resumen

Plaguicida es definido como cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal. En el presente trabajo fue determinado un grupo de plaguicidas organofosforados integrado por los compuestos: clorpirifos metilo, clorpirifos, diazinón, forato, metil paratión, malatión y metamidofos; el análisis se hizo mediante cromatografía de gases, utilizando el detector fotométrico de flama, siguiendo el procedimiento de extracción descrito en el artículo "Evaluación de la Banana Ecuatoriana de acuerdo con Estándares Internacionales de Seguridad Alimentaria, para Garantizar su Certificación y Fortaleza Competitiva" escrito por Zambrano en el año 2005. Fueron analizadas 60 muestras de plátano de los municipios Tecomán y Manzanillo del estado de Colima, la recolección y análisis de muestras fue realizado durante los meses de Diciembre a Febrero. Del total de muestras un 58 % fueron positivas, en 14 de ellas se identificaron diazinon, en 22 clorpirifos metilo y en 16 clorpirifos, el 63% de las muestras positivas estaba por encima del Límite Máximo de Residuos definido para este fruto. De acuerdo a los resultados obtenidos, el número de muestras contaminadas con residuos de pesticidas detectados en cada municipio es casi homogéneo (Tecomán 19, Manzanillo 18) lo que nos indica que no existe un problema municipal de contaminación intencionada.

1. Antecedentes.

1.1 Agricultura y crecimiento poblacional.

La población mundial creció de 2.5 billones en el año de 1950 a 6.1 billones en el año 2000. La población mundial estimada para el año 2050 llegará a los 9.1 billones de habitantes. Eso quiere decir que la población creció mas del doble desde el año 1950 al año 2000 y se cree incrementara solo ligeramente menos en los siguientes 50 años desde el 2000 al 2050.¹

Como consecuencia directa de este crecimiento poblacional, los cambios ambientales así como también la creciente escasez de agua, ha hecho que la producción agrícola aumentara sus volúmenes de producción además de la calidad del producto cultivado, en menores extensiones de terreno. Además las plagas también juegan un papel determinante en los volúmenes de producción, ya que la ausencia de control de las mismas produce daños en el producto, que puede comprometer la calidad y desarrollo del fruto o vegetal cultivado.

Para ello se han desarrollado diversos agroquímicos, que reduzcan las perdidas de producción por plagas.¹

Muchas clases de compuestos son utilizadas para este propósito. Mas de 20 000 agroquímicos con cerca de 900 ingredientes activos están registrados para combatir enfermedades y plagas que ataquen al cultivo. Debido a esto los pesticidas hoy en día resultan omnipresentes en el medio ambiente; ellos se encuentran en lugares de trabajo, jardines, en el hogar, escuelas, lagos e inclusive en alimentos, gracias a la deposición de residuos.²

1.2 Cultivo del plátano a nivel mundial.

Junto con el arroz, el trigo y el maíz, el plátano es uno de los principales cultivos a nivel mundial, siendo África y América latina las principales regiones productoras a nivel internacional.³

Los principales países importadores de plátano son Estados Unidos y Japón, así como también la unión Europea. Estados Unidos actualmente es el principal importador de este fruto, abasteciéndose mayormente de América latina. Los principales países exportadores de plátano en América Latina son: Colombia, Ecuador y Venezuela.⁴

(Tabla 1)

Tabla 1. Importaciones y exportaciones de plátano en el año 2004.

| País | Importación (US\$ '000) | Exportación (US\$ '000) |
|----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Bélgica | 1 117 267 | 880 486 |
| Colombia | 314 | 397 784 |
| Costa Rica | 245 | 545 420 |
| Ecuador | — | 1 022 899 |
| Estados Unidos | 1 243 502 | 197 088 |
| Italia | 418 372 | 102 714 |
| México | 13 | 19 604 |
| Japón | 588 614 | 6 |
| Venezuela | 15 | 7 463 |
| Mundial | 7 765 030 | 5 176 104 |

<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>

1.3 El cultivo del plátano en México.

México si bien no es el país con mejor niveles de exportación debido a los sistemas de licencias de importación. Gracias al tratado de libre comercio establecido entre México y la unión europea, en el año 2005 la secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA) reporta una cantidad 2 000 toneladas de plátano exportado con un arancel de 75 euros, con lo que se establecieron exportaciones exitosas hacia la Unión Europea⁵, ya que hasta ese momento Estados Unidos había sido el principal importador de este fruto cultivado en México y en el resto de Latinoamérica.⁴

Esto marca el comienzo de una de las actividades más rentable a nivel de producción con las que cuenta el país, así pues en el estado de Tabasco en el año 2006 se generaron 3 mil millones de pesos al año. Se reporto un crecimiento desde el 2001 hasta el 2006, de más del 17% al pasar de 1.8 a 2.2 millones de toneladas producidas.⁶

En el país los principales estados productores de plátano son aquellos que se localizan en el trópico húmedo y seco con buena disponibilidad de agua, por lo que estados

como Chiapas, Tabasco, Veracruz, Colima y Michoacán reportan una producción anual de 704 449 toneladas, 556 250 toneladas, 216 990 toneladas, 160 172 toneladas y 98 024 toneladas respectivamente.³

En Colima durante el año 2003 se cosecharon 5 168 hectáreas (ha.), de plátano cultivado y se generaron 223 510 000 pesos. La superficie sembrada oscila entre las 10 y 12 ha. (Tabla 2)

Tabla 2. Número de productores y predios cultivados con plátano en el estado de colima.⁷

| Municipios | Productores | Predios | Superficie (ha) |
|------------|-------------|---------|-----------------|
| Manzanillo | 224 | 265 | 1 963.0 |
| Tecomán | 180 | 224 | 2 702.5 |
| Armería | 81 | 94 | 429.0 |
| Total | 485 | 583 | 5 094.5 |

Los dos tipos de plátano que reportan mayores volúmenes de producción anual dentro del territorio mexicano son el enano gigante con 742 346.49 toneladas y el tabasco con 633 311.00 toneladas (Tabla 3)

Siendo con el 75%, la variedad "enano gigante" la mas cultivada, seguida con el 18% el plátano macho y el restante 7% el plátano pera y manzano.⁷

Tabla 3. Producción por tipo de plátano en México.⁹

| Tipo | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 |
|---------------|---------------|---------------|---------------|------------|------------|
| Dominico | 51.50 | 21 107.00 | 30 367.40 | 361 457.50 | 182 159.80 |
| Enano Gigante | No disponible | No disponible | No disponible | 980 173.65 | 742 346.59 |
| Macho | 85 562.09 | 110 971.74 | 245 915.91 | 228 245.13 | 289 999.11 |
| Manzano | 571.70 | 3 919.28 | 8 761.66 | 14 592.05 | 17 819.36 |
| Morado | 31.29 | 817.30 | 1 748.31 | 3 182.00 | 4 392.60 |
| Pera | No disponible | No disponible | 4 019.18 | 37 904.33 | 34 470.42 |
| Tabasco | 14 276.00 | 12 304.00 | 649 561.00 | 659 183.00 | 633 311.00 |
| Valery | 45 144.10 | 42 146.00 | 155 751.06 | 87 069.35 | 160 996.75 |

1.4 Clasificación taxonómica del plátano variedad “enano gigante”.

El plátano “enano gigante” (Tabla 4) es un clon caracterizado como (AAA), este presente una triploidia para el gen A que otorga la partenocarpia o formación de el fruto sin previa fecundación., sin embargo existen otros clones que incluyen en su genoma el gen B que produce plantas, que para fin de desarrollar fruto deben ser primero fecundadas.

Sin embargo si se realizan híbridos con el gen A y B, estos mostraran el carácter partenocarpico.⁸

| | |
|----------|---------------------|
| Reino | <i>Plantae</i> |
| División | <i>Manoliophyta</i> |
| Clase | <i>Liliopsida</i> |
| Orden | <i>Scitamineae</i> |
| Familia | <i>Musaceae</i> |
| Genero | <i>Musa</i> |
| Especie | <i>cavendishi</i> |

1.5 Requerimientos para el cultivo del plátano.

En el estado de Colima las principales áreas plataneras se localizan en los municipios de Tecomán, Armería, Manzanillo y Coquimattan, debido a que en estos municipios se reúnen las condiciones climáticas y de suelo requeridas para el cultivo del plátano “enano gigante”.⁹

Los suelos más recomendables para este tipo de cultivo son de textura arenosa (muy finos hasta franco arcillosos), con una buena mezcla de arcilla y limo. El suelo debe de tener además de 1 metro, sin nivel freático o capas endurecidas a esa profundidad, un buen drenaje.⁹

La característica ideal de suelo para este cultivo es de un pH de 6 a 7.5, pero también se adecuan a suelos de pH 5 a 8.⁹

La temperatura para inducir floración en este cultivo es de 26-28°C, y para que se desarrolle el fruto es de 29-30°C, desacelerando el crecimiento y por ende el desarrollo de los frutos cuando la temperatura desciende de 16°C.

La luminosidad adecuada para que se lleve a cabo la actividad fotosintética de la planta es de 2 000 y 10 000 lux (horas luz /año).

Este tipo de cultivo no es particularmente sensible a los vientos aunque cuando se presentan con una velocidad mayor a los 50 kilómetros por hora pueden producir desenraizamiento y doblamiento de la planta.⁹

1.6 Principales plagas que afectan el cultivo.

Además del medio ambiente, las plagas es otro factor que incide directamente sobre volúmenes de producción del cultivo así como también la calidad del fruto.

La Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) delimita dentro de su concepto de plaga a cualquier forma de vida vegetal o animal o agente patogénico, dañino o potencialmente dañino a los vegetales.¹⁰

Muchos diversos tipos de insectos y hongos se presentan en el cultivo del plátano, pero solo algunos poseen, importancia debido a los daños o bien a la incidencia con la cual se presentan a lo largo del año.(Tabla 5)

Tabla 5.- Principales plagas que afectan al cultivo del plátano.

| Plaga | Características generales. | Momento crítico de la plaga. | Tratamiento. |
|--|--|--|---|
| <i>Frankliniella parvula</i> Hood. <i>Hercinothrips femoralis</i> . | Estos pertenecen al orden <i>Thysanoptera</i> y se caracterizan por ser pequeños insectos, delgados y con piezas bucales adaptadas para picar y chupar. Estos pueden ser alados o ápteros. ¹¹ | Esta se toma mas abundante en los mese secos ya que sus poblaciones suelen disminuir con la lluvia. ⁹ | Clorpirrifos. 48 %, a 150 cc/Hl. Diazinon. 80 %, a 100 cc/Hl. Dimetoato. 40 %, a 150 cc/Hl. Fenitrotion. 50 %, a 150 cc/Hl. Fenitrotion. 5%, presentado como polvo para espolvoreo a una dosis de 2030kg/ha. ³ |
| <i>Tetranychus telanus</i> . <i>Tetranychus urticae</i> | Los ácaros son arácnidos pertenecientes a la familia <i>Tetranychidae</i> , estos poseen quelíceros modificados a modo de estíletes aciculiformes; gracias a esta característica los ácaros desgarran las células de las plantas y succionan sus contenidos. ¹¹ | La constante presencia del organismo, puede agudizarse en los meses calidos y secos (Abril-Julio) ⁹ | Amitraz. 20 %, a 150 cc/Hl. Bromopropilato. 50 %, a 150 cc/Hl. Dicofol. 16 % + tetradifon 6 %, a 200250 cc/Hl. Oxifenbutaestaño. 50 %, 100 g/Hl. Cihexaestan. 25 %, a 120 g/Hl. ³ |
| <i>Hieroxestis subcervinella</i> | Esta plaga pertenece al orden <i>Lepidoptera</i> . La fase larvaria es la que produce el daño en los frutos. Estas son de cuerpo delgado, estrecho y de color blanco sucio, con cabeza marrón brillante, teniendo típicamente dos manchas de color gris oscuro en cada anillo del abdomen. ¹¹ | Un momento adecuado para combatir esta plaga es hacia el final de la primavera, que es cuando la población de adultos empieza a ascender. ⁹ | Diazinon. 60 %, a 100 cc/Hl. Fenitrotion. 50 %, a 150 cc/Hl. Triclorfon. 80 %, a 200 g/Hl. Y de entre los productos granulados puede usarse uno de los siguientes: Diazinon. 2,5 %, a 15 g por tocón. Foxim. 10 %, a 15 g por tocón. ³ |
| <i>Cosmopolitas sordidus</i> . | <i>Cosmopolitas sordidus</i> pertenece al orden <i>coleoptera</i> , poseen cuerpos duros y piezas bucales masticadoras. Los adultos, por lo general presentan dos pares de alas, de las cuales un par de ellas funciona como cubierta sólida (elitros). ¹¹ | Entre los meses de abril y junio la presencia de estos organismos se suele agudizar. ⁹ | Cuando los índices de población son altos, se recomienda: estimar las poblaciones del acaro y la superficie afectada aplicaciones terrestres con citrolina. ³ |
| <i>Verticillium sp.</i> . <i>Stachyldium theobromae</i> | produce una necrosis en la punta de los plátanos que se asemeja a la ceniza de un puro. | Al final del otoño y comienzo el invierno. ¹¹ | Benomilo. 50 %, a 6080 g/Hl. Tiabendazol. 60 %, a 150 g/Hl. ³ |
| <i>Pseudomonas solanacearum</i> | Se trata de una marchitez bacteriana del plátano que está tomando cada vez más incidencia en todo el área del Caribe. ³ | Al final del otoño y comienzo el invierno. ¹¹ | Se recomienda la pulverización de aceites minerales después del corte de los rizomas expuestos |
| <i>Mycosphaerella fijiensis</i> , <i>Morelet</i> | Esta infección del plátano es causada por un hongo ascomicete. Esta enfermedad producen en las hojas infectadas bajo nivel de fotosíntesis. Esta enfermedad cuando se presenta agresiva, produce que el fruto madure antes de tiempo. ³ | Los meses en los cuales la infección se hace mas presente en los cultivos son en la época de lluvias de Junio a octubre y de enero a febrero. ⁹ | El hongo de la Sigatoka Negra se controla químicamente con la aplicación permanente de fungicidas. El uso de los fungicidas, con excepción del Clorotalonil, todos los demás productos se aplican en una emulsión con citrolina y agua. ⁹ |

Estas plagas suelen aparecer en distintos momentos de tiempo, por lo que el uso de pesticidas y su aplicación en el cultivo varía a lo largo del año. (Figura 1)



Figura 1.- Época de incidencia de algunas plagas del plátano. (CESAVECOL, 2007)

1.7 Uso y manejo de agroquímicos.

Muchos tipos de plaga, se presentan a lo largo del año en el cultivo del plátano, lo cual pone en riesgo la calidad del producto, sobre todo si se trata de plátano de exportación.

En la búsqueda de un producto altamente comercializable, se incorporan al cultivo aplicaciones periódicas de nutrientes en el suelo de cultivo¹², además hormonas de crecimiento y agroquímicos, estos últimos con la finalidad de eliminar plagas que afecten el crecimiento del fruto o que comprometan la integridad del mismo.¹³

Sin embargo, obtener un producto comercial ha provocado que el uso de agroquímicos vaya en aumento, y que el uso de estos se vea generalizado en forma indiscriminada.

En algunos casos los mismos productores preparan sus propias mezclas, variando la combinación y las dosis de los pesticidas, basándose en factores tales como la experiencia que han tenido con plaguicida, la disponibilidad que hay de este en el mercado así como también del grado de eficiencia que las distintas marcas ofrecen para vender su producto.¹³

En lugares como Colima, el gobierno del estado por medio de folletos ¹⁴ explicativos o paquetes tecnológicos,⁹ promueve el uso de alguno agroquímicos, sin embargo la información suele ser de poca ayuda para el productor, debido a que no siempre se indica la dosis exacta que se debe emplear en su aplicación; lo cual se relaciona directamente con el manejo y la aplicación de mezclas de plaguicidas por parte de los productores y jornaleros.¹³

En la mayoría de los casos no se tiene material o equipo que asegure la correcta medición y exactitud de cada pesticida, por lo que las soluciones a aplicar son elaboradas mediante instrumentos de poca o nula precisión y exactitud. En muchos de los casos los propios productores preparan los pesticidas a aplicar con sus manos, teniendo contacto directo con el agroquímico y por ello exponerse directamente a los riesgos de intoxicación que los pesticidas implican. ¹³

1.8 Los plaguicidas.

Concepto de plaguicida.

La ley general de salud define a los plaguicidas como aquella sustancia o mezcla que se destina a controlar cualquier tipo de plaga, incluyendo a los vectores que transmiten enfermedades humanas así como a los animales, las especies no deseadas que causen daño o interfieran en la producción agropecuaria y forestal, así como las sustancias foliantes o desecantes. ¹⁵

Clasificación de los plaguicidas.

Por el modo de acción. ¹⁰

De contacto: Actúa principalmente al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga

De ingestión: Debe ser ingerido por la plaga para su acción efectiva.

Sistémico: Al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica y en los cuales actúa.

Fumigante: Se difunde en estado gaseoso o de vapor y penetra por todas las vías de absorción.

Repelente: Impide que las plagas ataquen.

Defoliante: Causa la caída del follaje de las plantas.

Organismos que controlan.¹⁶

Insecticida: Control de insectos

Acaricida: Control de ácaros

Fungicida: Control de hongos y levaduras

Bactericida: Control de bacterias

Antibiótico: Control de bacterias

Herbicida: Control de hierba y maleza

Rodenticida: Control de roedores

Molusquicida: Control de moluscos

De acuerdo a la toxicidad.

Esta basada en la Dosis Letal₅₀ (DL) y la Concentración Letal₅₀ (CL), la DL₅₀ es expresada en mg/kg obtenida de ratas a las que se les administraron plaguicidas por vía oral o dérmica, en forma aguda y la CL₅₀ que es la concentración de una sustancia que en el aire causa la muerte del 50% de la población de ratas de prueba y es expresa en mg/m³ o en partes por millón.¹⁰(Tabla 6)

Tabla 6.- Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad.¹⁰

| Categoría | DL ₅₀ en mg/kg | | | | | | | | CL ₅₀ por inhalación | |
|------------------------------|---------------------------|-------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------------------------------------|-------|
| | Oral | | | | Dérmica | | | | Vapor mg/m ³ Exposición | |
| | Sólido | | Líquido | | Sólido | | Líquido | | | |
| | Más de | Hasta | Más de | Hasta | Más de | Hasta | Más de | Hasta | Más de | Hasta |
| I Extremadamente tóxicos | - | 5.0 | - | 20.0 | - | 10.0 | - | 40.0 | - | 0.5 |
| II Altamente tóxicos | 5.0 | 50.0 | 20.0 | 200.0 | 10.0 | 100.0 | 10.0 | 400.0 | 0.5 | 2.0 |
| III Moderadamente tóxicos | 50.0 | 500.0 | 200.0 | 2000.0 | 100.0 | 1000.0 | 400.0 | 4000.0 | 2.0 | 10.0 |
| IV Ligeramente tóxicos | 500.0 | - | 2000.0 | - | 1000.0 | - | 4000.0 | - | 10.0 | - |

Clasificación por su naturaleza.¹⁰

a) Pesticidas biológicos

Son organismos vivos o productos de estos, que se ha demostrado que son eficaces para combatir a las plagas nocivas.

b) Pesticidas químicos.

Naturales: la mayoría son extractos de plantas de tipo alcaloide (estricnina, nicotina) o no (piretrina, rotenona). En general, su uso ha disminuido frente a los productos de síntesis.

Sintéticos: son los más utilizados en la actualidad y entre ellos hay que destacar una serie de grupos como los organofosforados, organoclorados y carbamatos.

1.9 Pesticidas químicos sintéticos.

Organoclorados (OC).

Estos son de los pesticidas más utilizados, en la actualidad debido a que presentan alta estabilidad física y química, esto les confiere características tales como insolubilidad en agua, altamente solubles en solventes así como no volátiles. Lo que favorece su persistencia en el medio ambiente así como una lenta biodegradabilidad.¹⁷

Estos se clasifican en 4 grupos¹⁸ (Figura 2)

- 1.-Derivados del clorobenceno, como el DDT y el metoxicloro.
- 2.-Derivados del ciclohexano($C_6H_6Cl_6$), como el lindano.
- 3.-Canfenos clorados: clordecona, toxafén.
- 4.-Ciclodienos o derivados del indano por ejemplo el aldrín, clordano y el heptaclor.

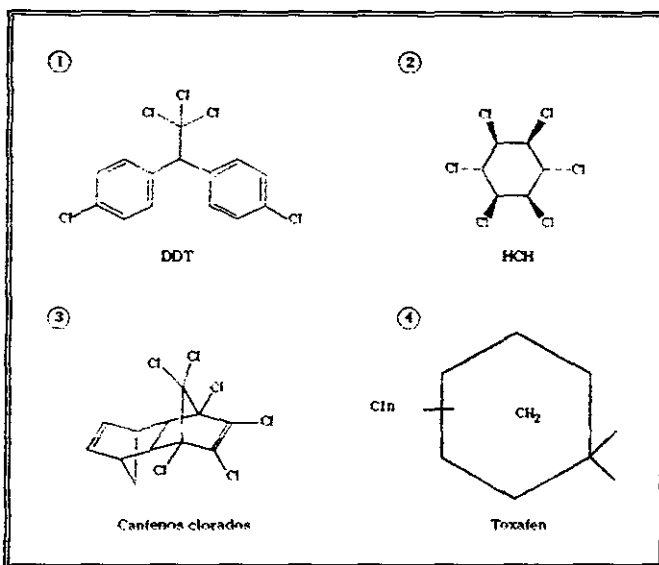


Figura 2.-Insecticidas organoclorados. (1) Estructura química de los derivados del clorobenceno (2) Estructura química básica de los derivados del ciclohexano (3) Estructura química básica de los pesticidas cafenfos clorados (4) Ejemplo de la estructura química de un cafenfo clorado: toxafén.

El DDT es un pesticida del cual se ha abusado mucho, debido a que actúa eficazmente sobre muchos ordenes de insectos, así como también por su efectividad de contacto; el uso desmedido de insecticidas tan potentes como este, ha provocado la proliferación de plagas de pequeño tamaño, como *T. telarius* y *T. urticae*, debido a que el DDT no actúa sobre este tipo de plagas y si sobre sus depredadores, lo cual provoca un desequilibrio biológico considerable.¹⁹

Piretrinas (P).

Estos pesticidas son obtenidos a partir del polvo obtenido de la pulverización del crisantemo, en el se encuentra del 1 al 3% del principio activo del agroquímico.

Como representantes de este grupo tenemos a la cinerinas I y II y a las jasmolinas I y II, así como a las portadoras del nombre característico del grupo las piretrinas I y II (figura 3); todos estos compuestos son altamente selectivos, por lo que raramente son tóxicos para organismos no blancos de la acción de este compuesto.¹⁷

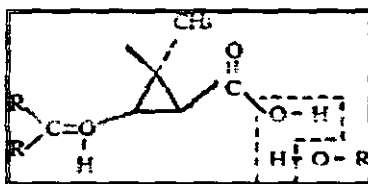


Figura 3.-Estructura química básica de un piretroide.

Estos agroquímicos se hidrolizan fácilmente y poseen muy poca absorción cutánea.¹⁵ Gracias a su selectividad, estos se han convertido en los pesticidas domésticos más utilizados, ya que además son rápidamente degradados en el ambiente y se eliminan fácilmente con el agua.¹⁷

Carbamatos (C).

En los carbamatos en los cuales los radicales R1 y R2 (figura 4) son grupos H o metilo, tiene la capacidad de actuar como inhibidores de las colinesterasas y suelen ser utilizados como insecticidas.

Los que carecen de esta acción en metabólica son los derivados del ácido se utilizan como herbicidas o fungicidas.¹⁸

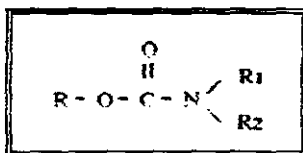


Figura 4.-Estructura química de un carbamato.

Los compuestos derivados del ácido tiocarbámico, son comúnmente utilizados como fungicidas y los carbamatos propiamente dichos que se utilizan como herbicidas.

Son relativamente inestables y selectivos, y poseen poca persistencia en el medio ambiente son altamente degradables mediante la oxidación y sus componentes sus metabolitos finales son hidrosolubles.¹⁷

Triazinas.

La mayoría de los pesticidas con triazina son trisustituidos 1, 3,5-triazinas de la estructura general (Figura 5) donde $X=Cl$ o SCH_3 , los radicales Y y Z son usualmente grupos alquilamino.

Estos herbicidas contienen por lo menos 5 átomos de nitrógeno.²⁰

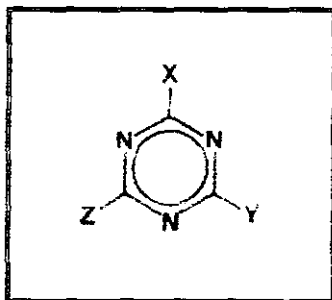


Figura 5.- Estructura química general de las triazinas.

1.10 Pesticidas Organofosforados (OP).

Los insecticidas organofosforados tienden a reemplazar a los organoclorados, ellos pueden ser convenientemente divididos en cuatro grupos funcionales²⁰, fosforoditionatos, fosforotionatos, fosforotiolatos y fosfatos (Figura 6).

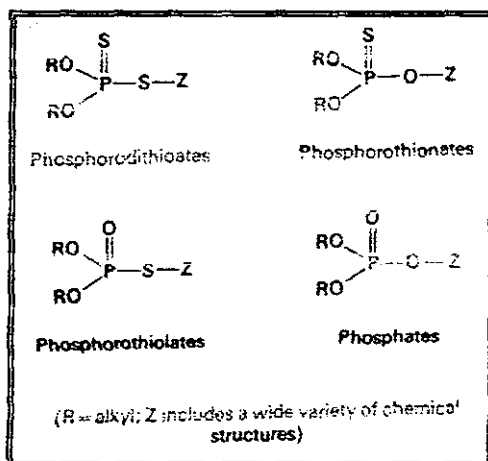


Figura 6.-Los cuatro grupos funcionales de los pesticidas organofosforados.

Poder penetrante de los pesticidas OP.

Muchos esterfos fosfóricos son capaces de penetrar en los tejidos de los frutos o vegetales a través de la epidermis de sus hojas. Evidencia clara de esto es su capacidad para matar plagas como las orugas de *H.subcervinella* y *C.sordidus* que penetran en la planta o vegetal dañándola irremediablemente si no se trata a tiempo. Ejemplos de OP con esta capacidad los constituyen el diazinon, malatión y metilparatión.¹⁹

Volatilidad y persistencia.

Muchos OP tienen poseen la capacidad de vaporizarse, esto permite formar alrededor del punto o zona de aplicación, una atmósfera nociva para el insecto que se desea exterminar. La capacidad de vaporización se relaciona estrechamente con la presión de vapor del compuesto (Tabla 7); uno de los pesticidas OP más volátiles es el diclorvos, por ello se utiliza comúnmente como insecticida doméstico. La persistencia de los pesticidas dependerá entonces de lo alto que sea su valor de presión de vapor. La presión de vapor aumenta con la temperatura por lo tanto estos pesticidas reaccionan mejor entre más aumento de temperatura existe.¹⁹

| Pesticida | Presión de Vapor (mm Hg) | Temperatura (°C) |
|-------------------|-----------------------------|---------------------|
| Diclorvos | 1.2×10^{-2} | 20 |
| Diazinon | 1.4×10^{-4} | 20 |
| Forato | 8.4×10^{-4} | 20 |
| Clorpirifos etil | 1.87×10^{-5} | 25 |
| Metamidofos | 3×10^{-5} | 30 |
| Malatión | 4.1×10^{-5} | 30 |
| Clorpirifos metil | 4.22×10^{-5} | 25 |
| Metilparatión | 9.7×10^{-6} | 20 |

1.11 Fisiopatología de los OP.

Estos insecticidas afectan a insectos y mamíferos incluyendo al ser humano, principalmente por la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa (ACE) en las terminaciones nerviosas.²¹ En forma general se puede decir que la afectación principal que producen los OP es sobre la enzima ACE lo cual provoca acumulación de acetilcolina en los tejidos.¹⁸

La acetilcolina es el mediador químico responsable de la transmisión fisiológica del impulso nervioso de:

- a) Neuronas pre-ganglionares a las post-ganglionares, en los sistemas parasimpáticos y simpáticos (Receptores nicotínicos).
- b) Fibras post-ganglionares parasimpáticas a los órganos efectores y de las fibras post-ganglionares simpáticas a las glándulas sudoríparas (receptores muscarínicos).
- c) Nervios motores al músculo esquelético.
- d) Algunas terminaciones nerviosas en el sistema nervioso central.

Este neurotransmisor presenta dos tipos de receptores: receptor muscarínico (se encuentra vinculado a proteínas G) y el receptor nicotínico (que presenta canales de sodio).²¹

Tras ser liberada por el receptor, la acetilcolina es hidrolizada por la colinesterasa, produciendo la unidad y brevedad de cada impulso propagado (figura 7).

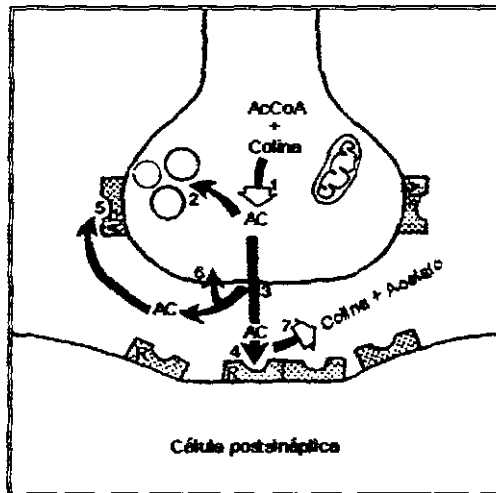


Figura 7.-Sinapsis colinérgica.

Los pesticidas OP reaccionan en la zona esterásica de la colinesterasa formando una unión estable, lo cual inhabilita la enzima para llevara cabo su función; Con esto la acetilcolina se acumula en la hendidura sináptica, si la acumulación es pequeña, se produce una gran estimulación, si la cantidad acumulada es excesiva el efecto será el contrario en el órgano efector (figura 8).²¹

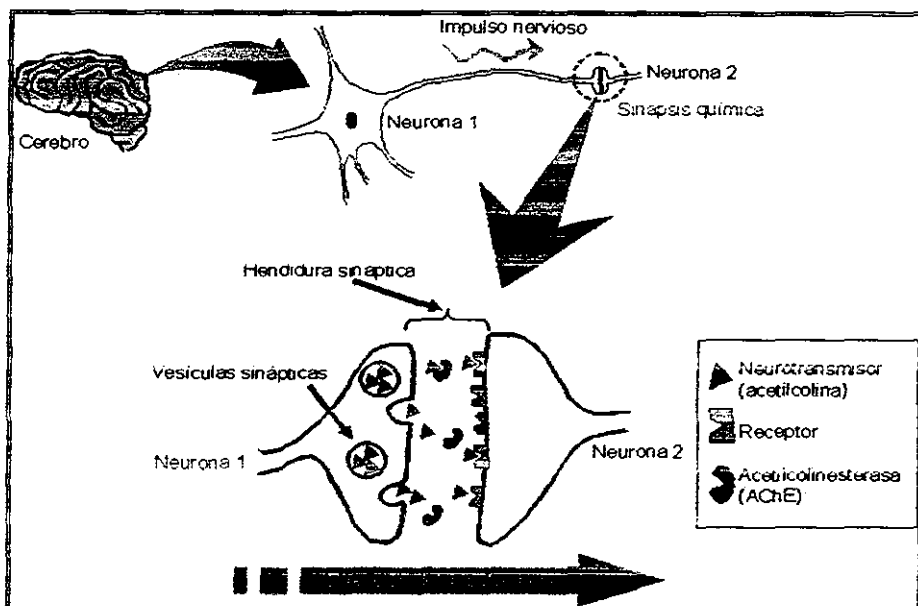


Figura 8.-Mecanismo de acción tóxica de los insecticidas OP sobre las sinapsis colinérgicas

Cuando la dosis tóxica es lo suficientemente alta, la pérdida de la función enzimática permite la acumulación de acetilcolina (AC) en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos (efectos nicotínicos) y en el sistema nervioso central (SNC).²¹

Se ha obtenido evidencia indirecta de que la absorción cutánea de 10 mg /mL de malatión, produce aumento del flujo sanguíneo en menos de 5 hr. de exposición, como consecuencia del efecto anticolinesterasa que posee este pesticida.²²

Cuadro clínico.

Síndrome colinérgico.

Este síndrome es resultante de la excesiva estimulación de los receptores de acetilcolina. Se manifiesta con efectos muscarínicos, nicotínicos y en el sistema nervioso central (tabla 8).²¹

| Tabla 8.-Manifestaciones clínicas de la intoxicación aguda por organofosforados.²¹ | | |
|---|--|---|
| Efectos muscarínicos | Efectos nicotínicos | Efectos del sistema nervioso central |
| Miosis. Sudoración. Visión borrosa. Lagrimeo. Secreciones bronquiales. Broncoconstricción. Vomito. Cólico abdominal. Diarrea. Sialorrea. Bradycardia. | Taquicardia(inicial) Hipertensión(inicial) Vasoconstricción periférica. Hiperexcitabilidad miocárdica. Midriasis. Astenia. Fasciculaciones. Debilidad muscular. Aumento de catecolaminas. Hiperglicemia. Hiperkalemia. | Cefalea. Agitación. Psicosis. Confusión mental. Convulsión. Coma. Depresión respiratoria. |

Síndrome intermedio.

Este es un cuadro caracterizado por recaída clínica, con gran debilidad muscular que aparece 24 a 96 horas después de la exposición. Luego de de 4 a 5 días de comenzar el episodio agudo toxico, se presentan parálisis respiratoria aguda, debilidad de los músculos flexores de la nuca, lengua y faringe, músculos proximales de las extremidades y músculos del tórax, ausencia o disminución de los de los reflejos osteotendinosos, debilidad en el territorio de los nervios craneales motores.²¹

Síndrome neurotóxico tardío.

Los OP fosforilan otras enzimas como son la fosfatasa ácida, aliesterasas, lipasas, tripsina, quimiotripsina, succino-oxidasa, oxidasa-ácido ascórbico, deshidrogenasas, enzimas sulfhidrilo.

El cuadro clínico se caracteriza por parestesias en pies y manos, dolor en las pantorrillas, debilidad progresiva y ascendente así como arreflexia generalizada.²¹

Otros complicaciones a la salud asociados a la intoxicación por pesticidas OP.

Se ha asociado casos de fallos respiratorios asociados a intoxicaciones por OP, en la mayoría de los casos, las víctimas fallecen tras intubarlos tempranamente.²²

Se han descrito tres fases fisiopatológicas de cardiotoxicidad, después de intoxicación aguda por OP: un periodo breve, de aumento en el tono simpático; un periodo de actividad del sistema parasimpático y un periodo de alteración electrocardiográfica, seguido por taquicardia ventricular y fibrilación ventricular.²¹

En otros casos se ha asociado a la exposición a pesticidas OP con la inducción de comas, que tras una compleja atención hospitalaria tienden a salir de él y mejorarse rápidamente.²⁴

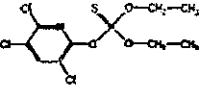
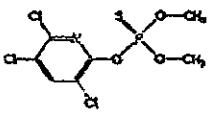
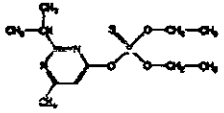
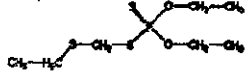
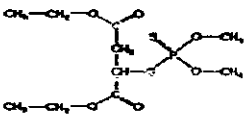
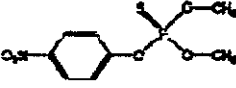
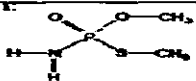
Además a algunos compuestos de este grupo, se les ha intentado asociar con niveles citotóxicos significativos entre los trabajadores expuestos a ellos.²⁴

Estudios llevados a cabo en células tratadas con distintas concentraciones de OP sugieren que algunos de estos como el diazinon poseen efectos deletéreos potenciales en el DNA en individuos adultos²⁵ y en los fetos de madres embarazadas expuestas.²⁶

Pesticidas OP de interés.

Ciertos pesticidas OP son asociados a la producción de plátano, como son el clorpirifos y el diazinon que controlan plagas presentes en el fruto, por su acción sobre las plagas así como su carácter benéfico al cultivo, se promueve abiertamente su uso por lo que conocer sus características (Tabla 9) le otorga al trabajador criterios para saber como manejar dichos compuestos.

Tabla 9.-Plaguicidas organofosforados y sus características generales.¹⁰

| Pesticida | Estructura química | Formula química | Peso molecular | Tipo de plaguicida | Uso | Tipo toxicológico |
|-------------------|---|---------------------------|----------------|--------------------------|--|-------------------|
| Clorpirifos |  | $C_9H_{11}Cl_3NO_3P$ S | 350.59 | Insecticida | Agrícola Urbano Industrial Pecuario | III |
| Clorpirifos metil |  | $C_7H_7Cl_3NO_3PS$ | 327.5 | Insecticida | Agrícola | IV |
| Diazinon |  | $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ | 304.35 | Insecticida Acaricida | Agrícola Urbano Industrial Pecuario | III |
| Forato |  | $C_7H_{17}O_2PS_3$ | 260.34 | Insecticida | Agrícola | I |
| Malatión |  | $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ | 330.36 | Insecticida | Agrícola Urbano Industrial Pecuario | IV |
| Metilparatión |  | $C_8H_{10}NO_5PS$ | 263.21 | Insecticida | Agrícola Industrial | I |
| Metamidofos |  | $C_2H_6NO_2PS$ | 141.1 | Insecticida Acaricida | Agrícola Industrial | I |

1.12 Marco legal y regulatorio de los pesticidas en México.

En México como en otros países el empleo de plaguicidas y en general cualquier sustancia tóxica comenzó sin el conocimiento adecuado sobre los efectos que podrían causar a corto y largo plazo, tanto a la salud humana como al medio ambiente; desde que se comenzaron a utilizar han causado problemas de intoxicaciones, muertes y alteraciones en el ambiente, es por ello que se creó la comisión intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, como

organismo encargado de regular las sustancias tóxicas y así controlar los riesgo que trae consigo su aplicación.

La CICLOPLAFEST.

El 15 de octubre de 1987 se creó la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICLOPLAFEST). Las acciones que emprenden se apoyan en la Ley General de Salud, enfocándose a la protección de la salud; incluye a Ley Federal de Sanidad Vegetal, para el manejo adecuado de plaguicidas fertilizantes en la agricultura y medidas fitosanitarias, también incorpora criterios de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente.²⁷

La CICLOPLAFEST tiene las atribuciones indicadas en las Bases de Coordinación y el Reglamento Interior. En donde se especifican las siguientes disposiciones:

I. Procedimiento uniforme e integral para la resolución de solicitudes de registro y para el otorgamiento de autorizaciones en sus modalidades de: Licencias, Permisos y Registros. Con relación a la explotación, elaboración, fabricación, formulación, mezclado, acondicionamiento, envasado, manipulación, transporte, distribución, aplicación, almacenamiento, comercialización, tenencia, uso y disposición final de los plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas.²⁷

II. Integración de un inventario de: sustancias, de productores e importadores y de los servicios y la capacidad tecnológica.

III. Revisión y actualización de los aranceles en la materia.

IV. Promover la elaboración y expedición de NOM, obligatorias y normas técnicas que establezcan los requisitos sanitarios, ecológicos y agropecuarios, las que serán expedidas conjuntamente; normalizándose las especificaciones de los envases y empaques. V. Promover la integración de una red de laboratorios oficiales, unificando los métodos de análisis químicos.

VI. Promover la capacitación en la materia, del control de calidad y el tratamiento de los residuos.

VII. Estudios e investigaciones de los productos, para recomendar los más eficaces y prohibir los más dañinos.

VIII Estudiar la regulación jurídica de éstas sustancias, permitiendo proponer modificaciones técnicas y administrativas intersectorialmente.

IX. Simplificación administrativa de las dependencias con respecto a los trámites.

Pesticidas regulados y restringidos dentro de México.

El Catálogo de Plaguicidas 2004 editado por la CICOPLAFEST publicado el 3 de enero de 1991¹⁰, en el se prohíbe la importación, fabricación, formulación, comercialización y uso de los pesticidas enunciados en la tabla 10.

| Tabla 10.- Plaguicidas prohibidos.¹⁰ |
|--|
| Acetato o propionato de fenil |
| Mercurio |
| Ácido 2,4,5-T |
| Aldrina |
| Cianofos |
| Cloranil |
| DBCP |
| Dialifor |
| Dildrina |
| Dinoseb |
| Erbon |
| Formotion |
| Fluoroacetato de sodio (1080) |
| Fumisel |
| Kepone/Clordecone |
| Mirex |
| Monuron |
| Nitrofen |
| Schradan |
| Triamifos |

En el catalogo de plaguicidas, la CICLOPOLAFEST, publicado en el 2004, se describen los plaguicidas autorizados de uso restringido (tabla 11)

| Tabla 11. Plaguicidas restringidos | |
|---|--|
| DDT | Este plaguicida sólo podrá ser usado por las dependencias del ejecutivo en campañas sanitarias |
| BHC | Se encuentra en desuso por parte del ejecutivo federal |
| Aldicarb | |
| Dicofol | |
| Forato | |
| Lindano | |
| Metoxicloro | |
| Mevinfos | |
| Paraquat | |
| Pentaclorofenol | |
| Quintozeno | |

1.13 Los residuos de los pesticidas.

El CODEX ALIMENTARIUS define el concepto de residuos de plaguicidas como todas aquellas sustancias presentes en un producto alimenticio destinado al hombre o animales como consecuencia del empleo de un plaguicida.

El concepto de residuos no solo engloba a los restos de la molécula del plaguicida en su forma original, si no todos sus metabolitos que poseen significancia toxicologica. Los residuos de plaguicidas presentes en productos vegetales se expresan en proporción al peso (mg/Kg) o al equivalente en partes por millón (ppm).²⁸

Deposito de plaguicida.

Se le denomina depósito a la cantidad de plaguicida que queda sobre el vegetal inmediatamente después de un tratamiento.²⁸

Los factores que determinan el depósito son:

- a) Dosis de plaguicida aplicado, esto significa que a mayor dosis, mayor deposito.
- b) Naturaleza química del producto aplicado.
- c) Formulación, específicamente por la presencia de coadyuvantes, como adherentes, y mojanas, que puedan aumentar la retención del agroquímico por la planta.

d) Característica de la aplicación, en esto influye el tamaño de la gota o partícula, en cuanto menor sea el tamaño, mayor será el riesgo de deriva y evaporación, y mas actuaran los factores climáticos en el producto.

e) Morfología y naturaleza de la superficie vegetal así como la relación superficie/ peso que guarda el fruto.

1.14 Métodos Oficiales.

El Codex Alimentarius en el documento Muestreo de residuos de plaguicidas, métodos recomendados, CODEX STAN 229-1993 ²⁹ en el 2003; como el nombre lo dice, sugiere manuales y libros para el análisis de plaguicidas; estos métodos cumplen los criterios establecidos por el Codex, deben poder obtenerse de organizaciones nacionales o internacionales, estar validados, aptos para medir varios pesticidas:

Antes de aplicar los métodos será necesario que éstos sean validados y que demuestres la competencia del analista que los utiliza.²⁹

La validación de un método es la evidencia experimental documentada de que el método cumple con el propósito para el que fue diseñado, para esto se debe comprobar la exactitud, precisión, linealidad especificidad y sensibilidad.

Cromatografía de Capa fina.

Esta es una técnica cromatográfica en la cual una fase móvil se desplaza por acción capilar a través de una lamina delgada sobre la cual esta finamente distribuida la fase estacionaria.³⁰

Una lámina delgada de una fase estacionaria adecuada es adherida adecuadamente a una placa hecha de vidrio, aluminio o plástico. La adherencia de la placa es usualmente asegurada por la mezcla de agentes aglutinantes, como es sulfato de calcio con la fase estacionaria.³⁰

La silica gel es el mas popular de los absorbentes, aunque también se utiliza el oxido de aluminio, tierra diatomácea (kieselguhr), silicato de magnesio y celulosa.

Las placas tienen una distribución uniforme en cuanto al tamaño de las partículas que la conforman, siendo normalmente de 20 μm de diámetro.²⁰

La elección de la fase móvil depende de los compuestos a ser separados en la fase estacionaria, esta puede ser un simple solvente o una mezcla.

La fase debe de ser estable en aire o cuando es mezclada con ácidos o álcalis, capaces de ser fácilmente removidos antes de una corrida cromatográfica, no deben ser tóxicos y sobre todo no deben de reaccionar con las sustancias a ser separadas²².

La medida básica cromatográfica de una sustancia en esta técnica es mediante el factor de retención el cual es definido como:

$$R_f = \frac{\text{Distancia de migración de la sustancia del eluyente}}{\text{Distancia desde el origen hasta el frente del eluyente}}$$

Este valor varía de 0 a 1, aunque es usual expresar los valores de R_f en porcentaje.²²

Cromatografía de gases.

El fundamento de la cromatografía gases es la separación del analito entre una fase gaseosa móvil y una fase líquida estática adherida a la superficie de un empaque sólido inerte o en las paredes de una columna capilar (Figura 9).²⁰

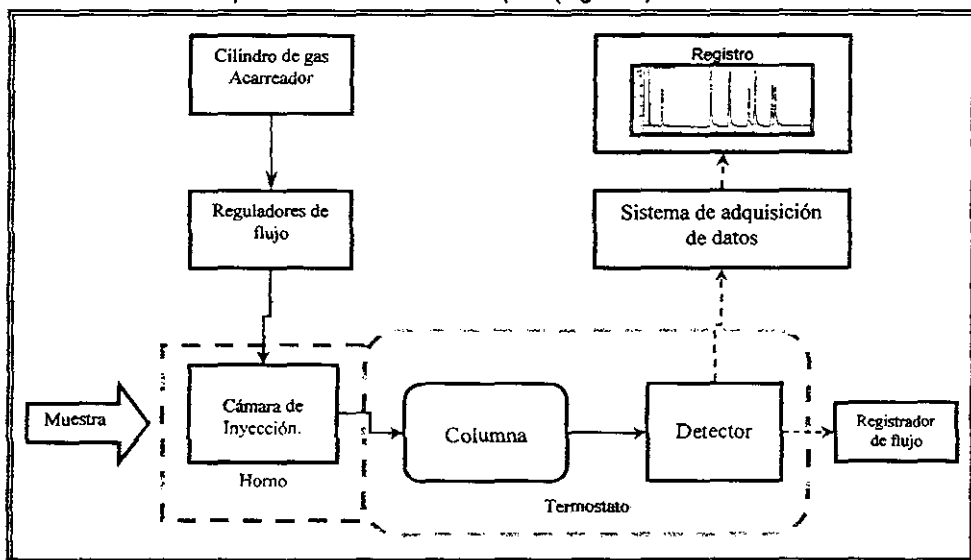


Figura 9.- Diagrama de operación de un cromatógrafo de gases

Gas acarreador.

La condición que un gas tiene que cumplir para fin de funcionar en la fase gaseosa móvil de un cromatógrafo, estar clasificado como gas químicamente inerte, el gas mas utilizado es el helio, sin embargo también se puede utilizar gases como el argon, nitrógeno e hidrogeno.²⁰

Sistemas de inyección de la muestra.

La inyección de las muestras líquidas contenidas en viales, es mediante microjeringas calibradas a través de un diafragma o septo de caucho de silicona, que desemboca en una cavidad, donde se calienta la muestra antes de pasar a la cabeza de la columna.³¹

Columnas.

Las columnas utilizadas en la cromatografía de gases son de dos tipos columnas capilares o tubulares abiertas o columnas empacadas.³¹

Las columnas capilares.

Están mayormente fabricadas con Sílice fundida y bastante pura, para reducir al máximo los residuos de óxidos metálicos. Los tubos tienen un diámetro de 0.1 a 0.5 mm y se les da mayor resistencia recubriéndolas con una capa de poliimida que se aplica al momento de hacer el capilar.³¹

Las columnas empacadas.

Están elaboradas con tubos de vidrio o de metal, su longitud varía entre dos y 3 m y tienen un diámetro interno de 2 a 4 mm.

Fases Líquidas para cromatografía de gas líquido.

La fase líquida inmovilizada en una columna para cromatografía de gases deberá reunir las siguientes propiedades, ser poco volátil. Tener estabilidad térmica, ser químicamente inerte, poseer características de disolvente.³¹

Sistemas de detección.

Los sistemas de detección deben de responder rápidamente a pequeñas concentraciones de solutos que salen de la columna, además debe de tener propiedades como es dar una respuesta rápida, que sea lineal estable y uniforme para gran variedad e especies químicas.³¹

Detector fotométrico de flama (FPD)

Este detector (figura 10) hace pasar el eluyente a través de una llama de hidrogeno (reductora), la cual combustiona el fósforo junto con el hidrogeno contenido en la muestra, emitiendo bandas de radiación alrededor de 510 y 526 nm. La emisión óptica es monitoreada por tubos fotomultiplicadores (PMT) a través de filtros de interferencia de los cuales cabe especificar que uno de 394 nm hace el detector específico para sulfuro, mientras que un filtro de 526 nm, confiere selectividad para fósforo.³¹

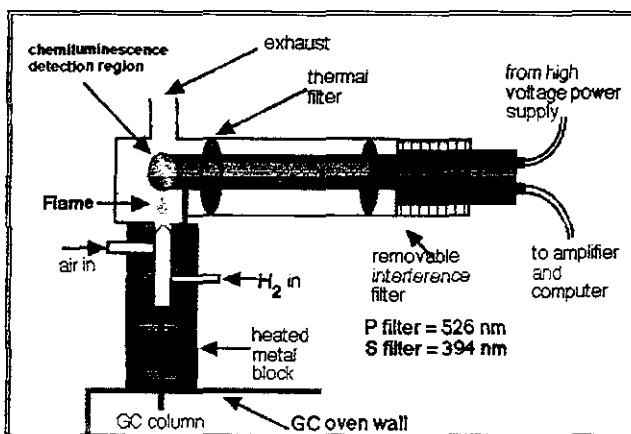


Figura 10. Funcionamiento general de un detector FPD.

El uso de este detector para insecticidas organofosforados, se ha sugerido en manuales como Pesticide Analytical Manual. Volume I: Multiresidue methods en su capítulo 3 sección 302 - 2, Emitido por la FDA en 1994 ³², así como también en la NOM-028-ZOO-1995 punto 9.2.30 emitida por Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.³³

Asimismo se ha utilizado en estudios en tomates para determinar clorpirifos, clorfevinfos, metilparatión, y leptofos en tomates comercializados en la ciudad de Bogotá, obteniendo buenos resultados con el uso de este detector.³⁴

2. Planteamiento del problema.

En las últimas décadas, las cosechas de productos alimenticios han experimentado un aumento considerable. Ello ha sido posible, en gran parte, al resultado obtenido en la lucha contra las plagas que los deterioraban y es innegable que los pesticidas han desempeñado en la misma un papel importante. Sin embargo, la aplicación de estas sustancias de forma intensiva, trajo como consecuencia que una parte de las mismas persistiera en el medio ambiente, conservando sus propiedades activas y más aún, que pasaran a organismos superiores. Los plaguicidas organofosforados son los más utilizados en México en el área agrícola, por lo tanto, dada su especial característica de toxicidad aguda a dosis bajas y aunque no se acumulan en los tejidos, pueden causar daños crónicos por exposición repetida de dosis pequeñas, es importante identificar el tipo y cantidad de compuestos presentes en el plátano para evaluar si los residuos se encuentran dentro de los valores establecidos, ya sean los límites máximos de residuos (LMR) o las dosis sin efectos.

3. Hipótesis.

“Los residuos de pesticidas se encontrarán en concentraciones detectables mediante la aplicación de cromatografía de gases en muestras de plátano procedentes de dos de los principales municipios productores en Colima”

4. Objetivos.

4.1 General:

Evaluar residuos de pesticidas organofosforados en dos de los principales municipios productores de plátano en Colima utilizando métodos cromatográficos.

4.2 Particulares:

- a) Recabar información sobre los plaguicidas que en la actualidad se aplican para el cultivo del banano en los municipios de Manzanillo y Tecomán, Colima.
- b) Validar un método para el análisis de residuos de pesticidas organofosforados, presentes en el plátano.
- c) Determinar y cuantificar residuos de pesticidas organofosforados en el plátano.
- d) Analizar si existe relación entre los dos principales municipios productores y los residuos presentes en plátano.

5. Material y Métodos.

La metodología a aplicar se llevo acabo de acuerdo al diagrama de flujo descrito en la figura 11.

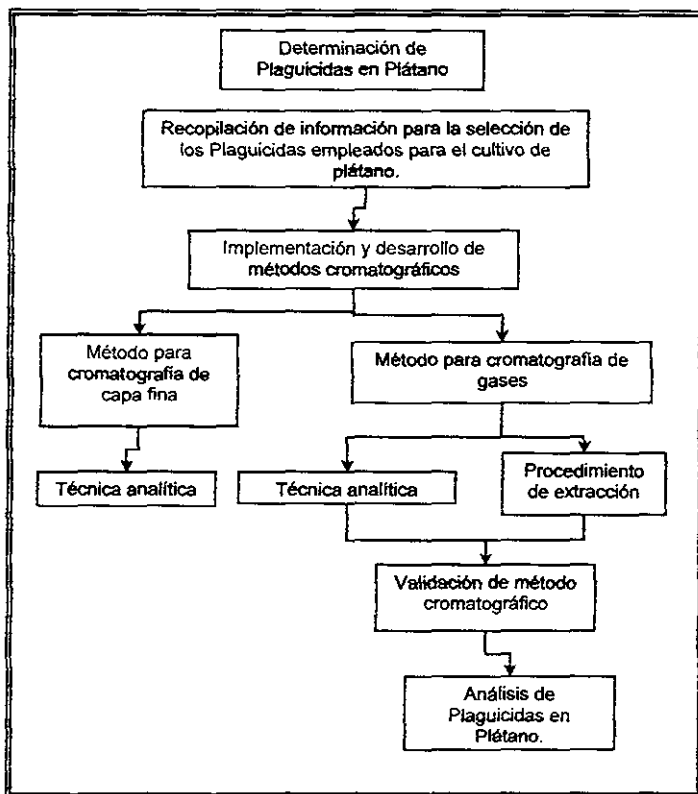


Figura 11.-Diagrama de flujo para la determinación de plaguicidas en plátano cultivado en Colima

5.1 Recopilación de información para la selección de los Plaguicidas empleados para el cultivo de plátano.

Para conocer el tipo de agroquímicos que se aplican en el cultivo de plátano en Colima, se aplico la encuesta directa descrita en el anexo a, entre los productores de los municipios de Tecomán y Manzanillo con la finalidad de recabar información relacionada con el tipo de agroquímicos aplicados. Con base a estos resultados y a la revisión de bibliografía, se eligieron los compuestos a analizar.

Así se seleccionaron como grupo de investigación los pesticidas organofosforados: clorpirifos, clorpirifos metilo, diazinon, forato, malatión, metamidofos, metilparatión.

Los huertos seleccionados fueron aquellos ubicados en los principales municipios plataneros, que reunieran dos características: extensas superficies sembradas y que llevan un control químico del cultivo.

5.2 Implementación y desarrollo de los métodos cromatográficos.

Se utilizó un método cualitativo mediante tamizaje por capa fina y uno cuantitativo por cromatografía de gases.

5.3 Método para cromatografía de capa fina.

Materiales y equipo

- ♦ Campana de extracción
- ♦ Centrifuga
- ♦ Aplicador de capa fina o capilares
- ♦ Balanza analítica con capacidad de pesar con exactitud 0.001g
- ♦ Matraces Erlenmeyer 250 y 500 ml
- ♦ Papel filtro
- ♦ Placas de silica gel 60 en vidrio de 250mm de espesor de 20 por 20 cm (Sigma Aldrich)
- ♦ Tanques de desarrollo: medidas de 27.5 x 27.5 x 7.5 cm con tapa (Aldrich)
- ♦ Vasos precipitado 25, 50 y 250 ml

Reactivos

- ♦ Etanol (Karal, S.A de C.V)
- ♦ Éter etílico (Karal, S.A de C.V)
- ♦ Éter de petróleo (Karal, S.A de C.V)
- ♦ Fast-Blue BB Salt (Sigma)
- ♦ n-hexano (Tsq)
- ♦ Hígado de vaca fresco
- ♦ Ioduro de potasio (Chempure Brand)
- ♦ Metanol (CALEDON)
- ♦ o-tolidine (Sigma Aldrich)
- ♦ Permanganato de potasio (Fermont)
- ♦ 2-Naphthyl acetate (Sigma)
- ♦ Agua desionizada
- ♦ Acetato de etilo (J.T. Baker)
- ♦ Ácido acético (J.T. Baker)
- ♦ Ácido clorhídrico (J.T. Baker)
- ♦ Benceno (Karal, S.A de C.V)
- ♦ Bromina

Estándares de pesticidas

- Clorpirifos 1000µg/mL en metanol
- Clorpirifos metilo 1000µg/mL en metanol
- Diazinon 99.0% de pureza (Riedel de Häen)
- Forato 1000µg/mL en metanol
- Malation (Riedel de Häen)
- Metamidifos 1000µg/ml en metanol
- Metilparatión 1000µg/ml en metanol

Preparar soluciones de trabajo a concentraciones de 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, y 10 ppm

Preparación de reveladores.

Solución enzimática: cortar en trozos pequeños 10 g de hígado fresco de vaca, agregar 90 mL de agua desionizada y homogenizar a alta velocidad. Centrifugar a 4000 rpm por 10 minutos. Colectar el sobrenadante en porciones de 10 o 20 mL y almacenar en congelador. Diluir la solución enzimática tres veces con agua desionizada antes de su uso.

b-naphthyl-acetate: 1.25 mg/ml en etanol. Almacenar en refrigeración.

Fast blue salt: Diluir 10 mg de la sal en 16 mL de agua desionizada. Preparar inmediatamente antes de su uso.

Solución substrato: Mezclar 10 mL de solución b-naphthyl-acetate y 16 mL de solución fast blue salt.

o-Tolidina + Ioduro de potasio: Pesar 0.5 g de o-tolidina y disolver en 10 ml de ácido acético y 2 g de Ioduro de potasio en 10 ml de agua destilada. Mezclar ambas soluciones y diluir a 500 ml con agua destilada. Almacenar en refrigeración hasta por dos semanas.

Solventes de elusión.

a) acetato de etilo, n-hexano:éter etílico (1:2)

b) éter etílico éter de petróleo (5:1)

c) éter etílico

Técnica analítica.

Previo a trabajar con muestras se realizaron pruebas para identificar el factor de retención (Rf) de cada plaguicida de acuerdo al documento Validation of thin-layer chromatographic methods for pesticide residue análisis".³⁰

a) Realización de la cromatografía. Activar las placas Placas de sílica gel 60 en vidrio de 250mm de espesor de 20 por 20 cm (Sigma Aldrich) en horno a 105°C durante 30 min, antes de su uso. Equilibrar la fase de vapor en la cámara de revelado introduciendo un papel filtro, agregar 1 cm del solvente de elución y esperar 30 minutos antes de introducir las placas. Aplicar con la ayuda de capilares las diluciones de los estándares de plaguicidas en gotas de 3-4 mm de diámetro todos espaciados aproximadamente a 2 cm entre sí y de la orilla de la placa. Colocar la placa dentro de la cámara de desarrollo: medidas de 27.5 por 27.5 por 7.5 cm con tapa (Aldrich), en forma inclinada y dejar correr hasta un frente de solvente aproximado $\frac{3}{4}$ partes (15 cm) de la placa cromatográfica.

Repetir el procedimiento con los distintos solventes de prueba, concentraciones de estándares y reveladores. Dejar secar las placas al aire.

b) Revelado por inhibición enzimática. Colocar un vaso de precipitado de 25 ml en la cámara de desarrollo y agregar 0,5-1 ml de bromina, tapar la cámara y esperar unos minutos a que se sature, introducir la placa, tapar inmediatamente y dejar 15 minutos. Retirar la placa y colocar en campana de extracción durante 45 minutos. Rociar las placas con la solución enzimática y colocar en incubadora a 37°C durante 30 minutos. Remover el exceso de agua de las placas con una corriente ligera de aire y rociar nuevamente las placas con solución sustrato.

c) Revelado con o-Tolidina + ioduro de potasio (o-TKI) (VTLCM). Colocar un vaso de 25 ml en la cámara de desarrollo y agregar 8 g de $KMnO_4$ y 10 mL de HCl concentrado. Tapar la cámara y esperar 20 minutos para que se sature con el gas clorina.

Remover el solvente de elución de las placas en una campana de extracción con una corriente ligera de aire, colocarla en la cámara saturada durante 30 seg. Remover el exceso de clorina en campana de extracción durante 45 minutos. Comprobar la completa remoción rociando con la solución de o-tolidina + KI en una esquina, si se colorea de azul, la clorina aun esta presente. Rociar las placas con la solución reactiva y observar las manchas correspondientes a los plaguicidas.

d) Expresión de resultados. Comparar las manchas obtenidas para los diferentes compuestos de plaguicidas, medir sus Rf, los cuales se usaran para identificar la presencia o ausencia del compuesto en la muestra.

5.4 Método para Cromatografía de gases.

Equipo cromatográfico.

- Cromatógrafo de Gases Agilent Technologies 6890N, con automuestreador GC Autosample Hewlett Packard, Detector fotométrico de flama (FPD) G1530A Hewlett Packard; columna capilar: SPB™ 608 (SUPELCO): longitud: 30 m, film thickness: 0.5µm, ID : 0.53 mm

Materiales y equipo de laboratorio.

- Licuadora
- Vaso para licuadora de 1L con tapa
- Balanza analítica capaz de pesar con exactitud 0.0001 g
- Columna cromatográfica de vidrio: 200 mm de diámetro y 500 mm de longitud, con disco de vidrio poroso en el fondo
- Concentrador Kuderna-Danish (K-Ds) integrado por matraz de 500 mL, cubeta graduada de 10 mL y Snyder de dos bolas
- Probetas graduadas de 100 y 250 mL

Reactivos.

- Acetona (Fermont)
- Acetato de etilo (J.T. Baker)
- Agua desionizada
- Éter etílico grado reactivo (Karal, S.A de C.V)
- Éter de petróleo grado reactivo (Karal, S.A de C.V)
- Lana de vidrio grado pesticida
- Hexano (CALEDON)
- Sulfato de sodio anhidro granular grado reactivo (CALEDON)

Estándares de pesticidas

- Clorpirifos 1000µg/mL en metanol
- Clorpirifos metilo 1000µg/mL en metanol
- Diazinon 99.0% de pureza (Riedel de Häen)
- Forato 1000µg/mL en metanol
- Malation (Riedel de Häen)
- Metamidifos 1000µg/ml en metanol
- Metilparatión 1000µg/ml en metanol

Preparar soluciones de trabajo a concentraciones de 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, y 10 ppm

Técnica analítica

a) Optimización de respuesta en cromatógrafo de gases. Para obtener picos definidos y resueltos para cada plaguicida, se probaron distintas condiciones de operación del cromatógrafo como temperatura, modo de inyección: split y splitless y flujo de gas en el cromatógrafo de gases.

b) Identificación de tiempos de retención. Se inyectaron en el cromatógrafo de gases cada estándar de manera individual y a concentración distinta, se registro el tiempo en el que aparece el compuesto; observando que el área registrada en ese tiempo sea proporcional a la concentración inyectada.

Procedimiento de extracción

Las muestras fueron procedas siguiendo el método descrito por Zambrano, 2005.³⁵



Figura 12. Procedimiento de extracción para el análisis de plaguicidas.

a) Limpieza de material de laboratorio y proceso. El material de laboratorio se procedió a enjuagar con agua corriente, luego con detergente para laboratorio, se enjuago nuevamente con agua corriente, después con agua desionizada y posteriormente con metanol. Luego con la finalidad de eliminar posibles residuos de otras sustancias que pudieran afectar los resultados del estudio, se procedió a enjuagar nuevamente con hexano y luego con el solvente de uso.³⁶

b) Preparación de la muestra. Los frutos recibidos y sin lavar, fueron pelados y las cáscaras fueron cortadas y homogeneizadas en licuadora.

c) Extracción. Se tomaron 100g de diferentes manojos de fruto, se homogenizaron y se muestreó una porción de 10g de la muestra previamente homogeneizada, se licua a alta velocidad con 20 ml de acetona, 40 mL de solución diclorometano/éter de petróleo (1:1) y 40 ml de etil acetato. La fase orgánica que resulto se transfirió a una columna con florisil para su limpieza.

e) Limpieza. Agregar a una Columna cromatográfica de vidrio: de 200 mm de diámetro y 500 mm de longitud, 0.5 pulgadas de sulfato de sodio anhidro y

4 pulgadas de florisil activado marca CALEDON (para activar el florisil se introdujo en la estufa y se mantuvo a 105°C una semana).

Se conectó la columna cromatográfica al concentrador Kuderna-Danish (K-D) y ajustó el flujo a 5 mL/min con hexano. Se pasó a través de la columna de florisil la fase orgánica, una vez que hubo pasado a través del florisil, se eluyó la columna con 100 mL de solución hexano /acetona (1:1).

Cuando concluyo la elusión, se adicionaron perlas de ebullición a los K-Ds, se embonó el Snyder y se concentró cada eluato hasta un volumen menor de 10 mL.

Se midió el volumen de los extractos concentrados, y fueron transferidos a viales para su lectura en el cromatógrafo de gases

5.5 Validación del método cromatográfico.

Selectividad.

Se inyectó en seis ocasiones consecutivas en el cromatógrafo de gases una mezcla de los plaguicidas a determinar en cada detector y se observó que no hubiera desplazamiento de los tiempos de retención de cada uno de los compuestos.

Precisión.

Para observar la repetibilidad de la técnica, se llevo a cabo 6 inyecciones en el cromatógrafo de gases y se calculó el coeficiente de variación de las áreas obtenidas.

Linealidad.

Se analizó utilizando tres veces 5 puntos con las concentraciones 1ppm, 2.5 ppm, 5 ppm, 7.5 ppm y 10 ppm; de esta forma se llevo a cabo la realización de la curva de calibración con los valores obtenidos del área, mediante la aplicación de la siguiente fórmula: $Y=mX+b$.

En la cual:

- Y es el área de la señal resultante
- m es la pendiente.
- b es la ordenada al origen.

Se calculó el coeficiente de correlación y el intercepto.

Exactitud.

Se efectuó por duplicado la extracción de muestras fortificadas con 100 % de concentración de los diferentes estándares, se calculo el porcentaje de recuperación las distintas concentraciones.

Sensibilidad.

Se estableció la concentración mínima del analito que el instrumento puede detectar, se calculó el límite de detección del instrumento, y el límite de cuantificación del instrumento. Estos datos se calcularon con los resultados obtenidos para la linealidad.

Porcentaje de recuperación.

Se realizó la extracción, limpieza y determinación de dos muestras fortificadas con una concentración conocida con los diferentes estándares y se cálculo el porcentaje de recuperación.

Especificidad.

Se inyectaron al cromatógrafo de gases los distintos solventes utilizados para la extracción y limpieza; se realizó una extracción, limpieza e inyección de un blanco de solventes y de una muestra no contaminada. Y se observó que los cromatogramas obtenidos no presentaran picos en los tiempos de resolución establecidos para cada estándar.

Estabilidad del plaguicida en la muestra.

Realizar la extracción de dos muestras fortificadas con una concentración conocida e inyectarla al cromatógrafo de gases en un tiempo máximo de una hora después de realizar el procedimiento de extracción. Las mismas muestras inyectarlas 24, 72 y 120 horas después y observar el porcentaje de degradación de cada uno de los plaguicidas. Los extractos concentrados fueron almacenados a 4°C.

5.6 Análisis de Plaguicidas en plátano.

Recolección de las muestras.

Se procedió a recolectar de manera aleatoria 60 muestras de plátano *Musa cavendishi* "Gran Enano", de las cuales se tomó una cantidad aproximada de 1 Kg. a 2 Kg. de muestra y se depositaron en bolsas de polietileno, se etiquetaron con el nombre del productor, la localidad así como el municipio al que pertenecen las muestras, y se refrigeraron a una temperatura de 3°C a 6°C.

Las muestras de plátano fueron procedentes de los municipios de Manzanillo y Tecomán, Colima.

Análisis de las muestras.

Se analizaron mediante la técnica descrita en el artículo "Evaluación de la banana ecuatoriana de acuerdo a estándares internacionales de seguridad alimentaria, para garantizar su certificación y fortaleza competitiva", escrito por Zambrano en el año 2005.³⁵

Análisis estadístico de los datos.

Se procedió a separar y ordenar los datos por municipios, para demostrar la independencia de los residuos de pesticidas encontrados y los municipios de muestreo, se analizaron los datos a partir de la prueba estadística X^2 , con un nivel de confianza del 95%, y se procedió a construir el respectivo cuadro de contingencia a partir de los resultados negativos, presentes en esta investigación.

6. Discusión y Resultados.

6.1 Plaguicidas utilizados en para el tratamiento de plagas del plátano.

En total se aplicaron 65 encuestas en los municipios de Tecomán, Manzanillo y Armería. El cultivo del plátano se ve afectado por diversas plagas y enfermedades como la presencia de ácaros y nemátodos; puede presentar problemas con insectos como trips, araña roja y el picudo negro. También es frecuente el desarrollo de malezas cerca de la planta utilizando para su control herbicidas de contacto o sistémicos. El hongo causante de la Sigatoka negra es la enfermedad foliar más importante para este cultivo se combate a través de un manejo integrado, basado principalmente en el control químico con la aplicación permanente de fungicidas. Para su prevención y control en el Estado de Colima se reportaron los plaguicidas descritos en la figura 13.

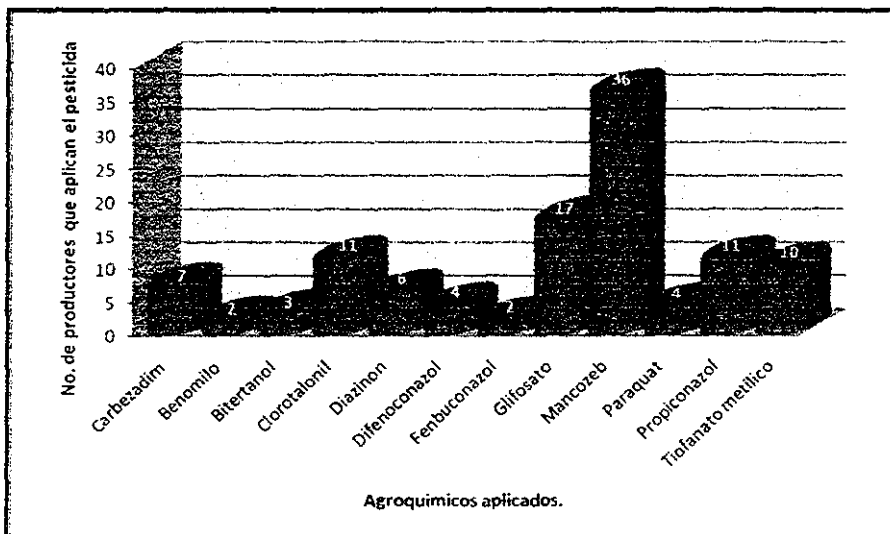


Figura 13.-Resultados de las encuestas aplicadas a los productores en los huertos de Colima

Los resultados de estas encuestas revelaron la presencia de 12 pesticidas pertenecientes a 8 grupos: carbendazim (benzimidazol), benomilo (benzimidazol), bitertanol (triazol), clortalonil (organoclorado), diazinon (organofosforado), difenoconazol (triazol), fenbuconazol (triazol), glifosato (fosfometilglicina), mancozeb (ditiocarbamato), paraquat (bipiridilo), propiconazol (triazol), tiofanato metílico (tiocarbamato).

Asi mismo la revision bibliografica menciona que los agroquimicos que se aplican para el control de plagas en el platano son un total de 22 pesticidas pertenecientes a 13 grupos (tabla 12), dentro de estos los compuestos organofosforados fueron los mas frecuentes de aplicaci3n.

| TABLA 12. PESTICIDAS MENCIONADOS EN LA LITERATURA EN EL CULTIVO DEL PLATANO. | |
|---|-----------------------------|
| Pesticida | Clasificaci3n |
| Aldicarb | Carbamato |
| Benomilo | Benzimidazol |
| Bitertanol | Triazol |
| Cadusafos | Organofosforado |
| Carbofuran | Carbamato |
| Clorotalonil | Organoclorado |
| Clorpirifos etil | Organofosforado |
| Diazinon | Organofosforado |
| Fenamifos | Organofosforado |
| Fenbuconazole | Triazol |
| Glifosato | Fosfonometilglicina Triazol |
| Hexaconazole | Imidazol |
| Imazalil | Ditiocarbamato |
| Mancozeb | Nitrofenil |
| Oxifluorfen | Bipiridilo |
| Paraquat | Triazol |
| Propiconazol | Benzimidazol |
| Tebuconazol | Organofosforado |
| Terbufos | Benzimidazol |
| Tiabendazol | Tiocarbamato |
| Tiofanato metilico | Morfolina |
| Tridemorf | |

Dado su uso ampliamente difundido asi como su buena representatividad en la zona de muestreo se selecciono asi el grupo de los organofosforados para su analisis en las muestras, ya que es conocida su toxicidad aguda que se manifiesta en la inhibici3n de la acetilcolinesterasa en jornaleros y personas expuestas a estos pesticidas asi como a sus vapores. Ademias se incluyeron en el estudio compuestos de uso restringido en M3xico, pertenecientes a estos compuestos.

6.2 Implementación de los métodos cromatográficos.

Optimización del método de cromatografía de capa fina.

Para optimizar recursos se decidió implementar una técnica cualitativa de tamizaje que nos llevara a identificar rápidamente la presencia o ausencia de pesticidas, para ello se llevó a cabo la implementación de la técnica cromatográfica por capa fina. Sin embargo no se observó la respuesta esperada (presencia de manchas en los estándares de los plaguicidas control) (figura 14), utilizando diferentes métodos de revelado, aunque era un método reportado con buenos resultados en el documento "Validation of thin-layer chromatographic methods for pesticide residue analysis"³⁰ por consiguiente al no poder calcular los R_f , esta técnica fue descartada y se llevó a cabo la prueba de cuantificación directamente.

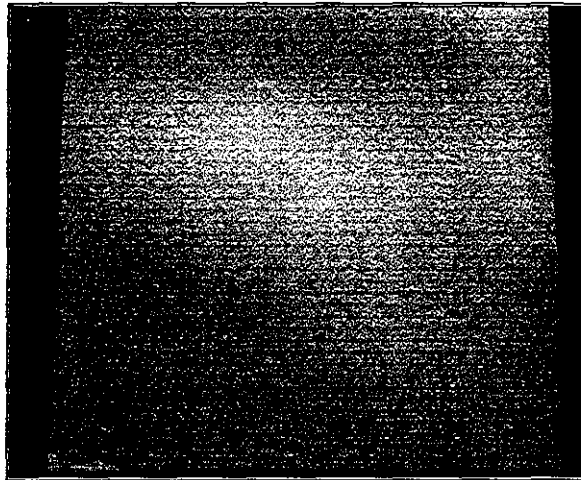


Figura 14.-Placa cromatográfica de capa fina ya revelada que muestra ausencia de zonas coloradas.

Optimización del método de Cromatografía de gases

Mediante el uso de un detector fotométrico de flama modo fósforo (FPD) se analizaron los compuestos organofosforados: metamidofos, forato, diazinón, metilparatión, clorpirifos metil, clorpirifos y Malatión; utilizando el método de extracción citado en el artículo escrito por Zambrano en el año 2005³⁵, partiendo de los parámetros y condiciones reportados por el autor para el uso del sistema cromatográfico y se modificaron con la finalidad de obtener picos más definidos y resueltos, hasta llegar a fijarlas en las condiciones mencionadas en la tabla 13.

| TABLA 13. Condiciones utilizadas para la determinación de plaguicidas organofosforados en muestras de plátano. | |
|---|--|
| SISTEMA. | DESCRIPCIÓN. |
| Equipo. | Cromatógrafo de gases 6890N, Network gc system, Agilent technologies. |
| Columna. | Capilar 30.0 m x 530microm x 0.50 micrómetros Supelco – SPB 608 |
| Modo de inyección. | Splitless. |
| Flujo de purga. | 50 ml/min. x 1min. |
| Volumen de inyección. | 1µl |
| Inyector. | Temperatura 280 °C, presión 5.08 atm. |
| Flujo total. | 56.6 ml/min. |
| Horno. | Temperatura inicial de 150°C, aumentando 8°C/min hasta 280°C y se mantiene durante 6 min |
| Gas acarreador. | Helio 4.5 ml/min. |
| Detector. | Fotométrico de flama modo fósforo (FPD – P) |
| Tiempo de corrida. | 49 min. |

Tiempos de retención.

Los tiempos de retención de los pesticidas fueron determinados mediante la inyección de soluciones de referencia, los resultados se muestran en la tabla14.

| Tabla 14. Tiempos de retención de pesticidas de estudio. | |
|---|---------------------|
| Pesticidas | Tiempo (min) |
| Metamidofos | 4.49 |
| Forato | 18.47 |
| Diazinon | 23.49 |
| Metilparatión | 29.25 |
| Clorpirifos metilo | 30.52 |
| Clorpirifos | 35.18 |
| Malatión | 36.13 |

En la figura 15 se observa el cromatograma de los tiempos de retención, el primer pesticida organofosforado que se observa a los 4.49 minutos es el metamifos, seguido del forato, diazinon, metilparatión, clorpirifos metilo, clorpirifos y el último en detectarse es el Malatión a los 36.13 minutos.

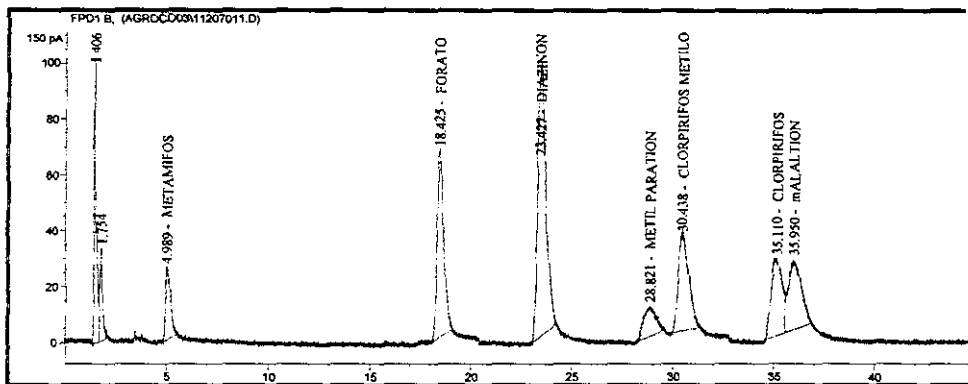


Figura 15. Cromatograma de tiempos de retención de los pesticidas Organofosforados.

6.3 Validación del método cromatográfico de gases.

Se siguieron los criterios de validación que se enuncian en el artículo "Validation of Chromatographic Methods" emitido por la FDA en 1994.³⁷

Selectividad

El coeficiente de variación del tiempo de retención (tabla 14) de cada compuesto no fue mayor de 0,2 %. En los cromatogramas se puede apreciar que los picos no se sobreponen y que tiene separaciones mayores de un minuto, por lo que no existe confusión entre los diferentes compuestos.(figura 15)

Linealidad, precisión y sensibilidad del instrumento.

Se calcularon los índices de linealidad, aquí expresado como coeficiente de correlación (r^2), en un rango de 1 a 10 ppm para cada compuesto, la condición lineal de detectabilidad en el 85 % de los casos fue de 0,999, lo cual es adecuado para métodos cromatográficos.³⁷ (tabla 15)

La repetibilidad del instrumento referida aquí como coeficiente de variación se determino a partir de la inyección de estándar en seis ocasiones de cada uno de los plaguicidas, en una concentración de 10 ppm.

El coeficiente de variación estuvo en un rango de 3,1 a 7,5%, que en métodos cromatográficos es superior al recomendado, sin embargo el documento "Guidelines for archieving quatlity in trace analisis" del VAM, describe como aceptable valores de hasta el 15 % para estudios de investigación de residuos de plaguicidas.³⁸

Tabla 15.- valores calculados para la linealidad repetibilidad y sensibilidad del sistema.

| Pesticida | Linealidad | | Repetibilidad | Limite de detección (ppm) | Limite de cuantificación (ppm) |
|---------------------------|------------------------------|----------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| | Rango de concentración (ppm) | r ² | Coefficiente de Variación (%) | | |
| Metamidofos | 1 - 10 | 0.999 | 6.7 | 0.45 | 1.50 |
| Forato | 1 - 10 | 0.999 | 3.1 | 0.30 | 1.07 |
| Diazinon | 1 - 10 | 0.999 | 3.7 | 0.28 | 0.95 |
| Metilparatión | 1 - 10 | 0.993 | 7.5 | 1.47 | 4.89 |
| Clorpirifos metilo | 1 - 10 | 0.999 | 6.1 | 0.29 | 0.99 |
| Clorpirifos | 1 - 10 | 0.999 | 4.8 | 0.54 | 1.79 |
| Malatión | 1 - 10 | 0.999 | 6.6 | 0.45 | 1.49 |

La sensibilidad del instrumento analítico fue determinada a partir del calculo de el limite de detección los compuestos presentaron límites de detección inferiores al limite máximo de residuos (LMR) para cada compuesto. En el caso de metilparatión fue superiores al LMR que marca la legislación española (0.20 ppm), sin embargo durante el método de extracción hay una concentración superior de 20 veces con lo cual si la muestra estuviese contaminada sería factible su identificación.

Porcentaje de recuperación.

Los porcentajes de recuperación fueron desde 77% para el caso del metamidofos, hasta de 125% para el caso del metilparatión. (tabla 16)

| Pesticida | Porcentaje de recuperación |
|--------------------|----------------------------|
| Metamidofos | 77 |
| Forato | 94 |
| Diazinon | 108 |
| Metilparatión | 125 |
| Clorpirifos metilo | 95 |
| Clorpirifos | 114 |
| Malatión | 97 |

Los porcentajes de recuperación son aceptables si están dentro del rango comprendido entre los 70% y 140 %, además el método es considerado valido si los coeficientes de variación son menores o iguales a 15%.³⁸

Especificidad.

Los cromatogramas de los solventes figura 16 así como también el de la muestra blanco control figura 17, no mostraron señales en los tiempos de respuesta de los pesticidas de interés, lo cual nos demuestra que no existió interferencia por parte de estos que pudiera afectar al método de análisis.

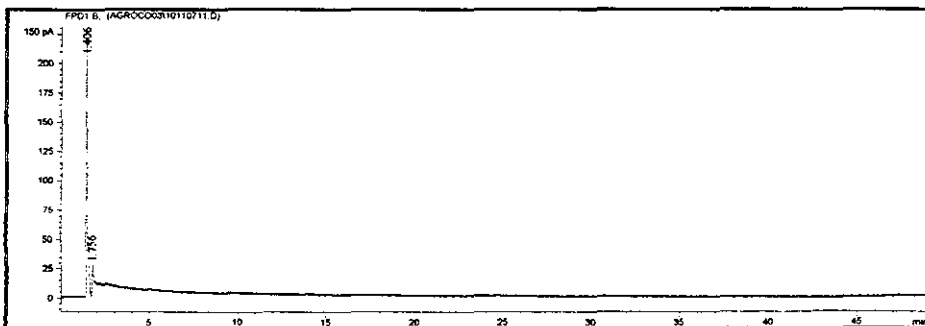


Figura 16.-Cromatograma para solventes.

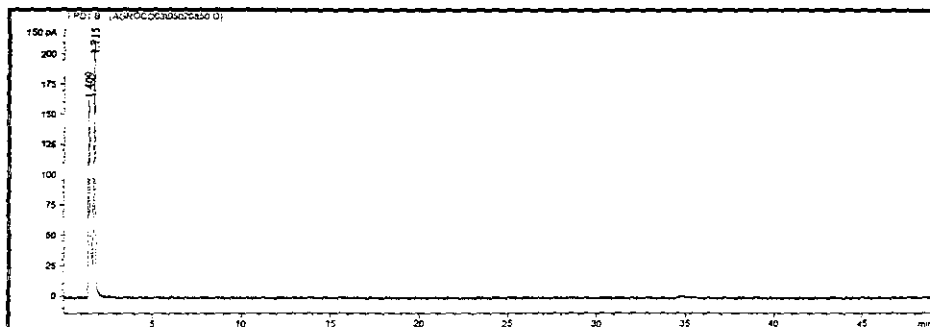


Figura 17.- Cromatograma muestra blanco.

Estabilidad del plaguicida en la muestra.

Casi todos los plaguicidas organofosforados tuvieron una degradación de 20% en 24 horas después de su preparación, 45% 32 horas después y a las 120 horas solo quedó el 25% de la concentración observada a la primera hora de la extracción.

Estos resultados nos dicen que el método es confiable para utilizarlo en el análisis de los pesticidas organofosforados en las muestras, sin embargo, en el cultivo del plátano se aplican otros compuestos, los cuales en algún momento podrían interferir en el proceso de determinación.

6.4 Análisis de plaguicidas en muestras de plátano.

Se evaluaron 60 muestras de plátano, las cuales 50% fueron tomadas de huertos procedentes de Manzanillo y 50% de Tecomán, durante los meses de diciembre y enero.

Al no existir una legislación mexicana la cual establezca los límites máximos de detección, se tomaron como puntos de comparación los que marcan la Legislación Española³⁹ para el plátano así como algunos establecidos por CESAVECOL.¹⁴

En 35 muestras se detectaron residuos de plaguicidas (tabla 17), de las cuales en 14 de ellas se identificaron diazinon, en 22 clorpirifos metilo y en 16 clorpirifos en 58 % de las muestras el diazinon y el clorpirifos metilo estaban por encima del LMR establecidos. En las muestras no se detectaron residuos de alguno de los pesticidas restringidos, los cuales tampoco fueron reportados como aplicados en el cultivo del plátano.

Tabla 17.-Muestras que presentaron residuos de pesticidas en los dos municipios muestreados.

| CLAVE DE LA MUESTRA | ORIGEN | DIAZINON | CLORPIRIFO METILO | CLORPIRIFOS | CLAVE DE LA MUESTRA | ORIGEN | DIAZINON | CLORPIRIFOS METILO | CLORP |
|---------------------|------------|----------|-------------------|-------------|---------------------|---------|----------|--------------------|----------|
| P01 | MANZANILLO | 0.63 | 0.78 | | P18 | TECOMAN | 1.03 | 1.02 | |
| P03 | MANZANILLO | 0.92 | 0.95 | | P21 | TECOMAN | 0.91 | 0.94 | |
| P04 | MANZANILLO | 1.08 | 1.19 | | P23 | TECOMAN | 1.42 | 1.24 | |
| P14 | MANZANILLO | 1.07 | 1.04 | | P24 | TECOMAN | 0.78 | 0.87 | |
| P15 | MANZANILLO | 1.70 | 1.34 | | P31 | TECOMAN | | 1.82 | |
| P16 | MANZANILLO | 1.81 | 1.44 | | P34 | TECOMAN | | 0.97 | |
| P17 | MANZANILLO | 1.18 | 1.09 | | P37 | TECOMAN | | 0.99 | |
| P20 | MANZANILLO | 1.03 | 1.02 | | P38 | TECOMAN | | 0.88 | |
| P29 | MANZANILLO | 1.21 | 1.11 | | P39 | TECOMAN | | 0.74 | |
| P33 | MANZANILLO | | 0.93 | | P41 | TECOMAN | | | 0.3 |
| P47 | MANZANILLO | | | 0.68 | P42 | TECOMAN | | 0.84 | |
| P48 | MANZANILLO | | | 0.64 | P43 | TECOMAN | | | 0.3 |
| P49 | MANZANILLO | | | 0.59 | P44 | TECOMAN | | | 0.3 |
| P51 | MANZANILLO | | | 0.51 | P45 | TECOMAN | | | 0.3 |
| P54 | MANZANILLO | | | 0.35 | P46 | TECOMAN | | | 0.3 |
| P55 | MANZANILLO | | | 0.67 | P52 | TECOMAN | | | 0.5 |
| P57 | MANZANILLO | | | 0.91 | P53 | TECOMAN | | | 0.5 |
| P58 | MANZANILLO | 0.50 | 0.70 | 0.90 | P56 | TECOMAN | | 0.74 | 0.7 |
| | | | | | P59 | TECOMAN | | | 0.5 |
| LMR | | 0.2 PPM* | 0.05 PPM† | 3.0 PPM† | | | 0.2 PPM* | 0.05 PPM† | 3.0 PPM† |

*.-Limite propuesto por CESAVECOL¹⁴

†.-Limite propuesto en la legislación española³⁹

En el resto de las muestras no se detectó ninguno de los pesticidas analizados (figura 18). Es escasa la información reportada en México sobre residuos de plaguicidas en plátano y en frutos en general; en Sonora se realizó análisis en 32 muestras hortalizas y únicamente una muestra de tomate presentó niveles de malatión (0,08 ppm) y paratión (0,06 ppm)³⁵ en investigaciones previas realizadas en Ecuador se han encontrado cantidades trazas de compuestos como el clorotalonil que fue encontrado en cantidades de 0,07 ppm y de compuesto Imazalil 0,012 ppm y propiconazole en 0,13 ppm en cáscara de banana después del último tratamiento en las piscinas de la empacadora y lista para ser empacada.³⁵

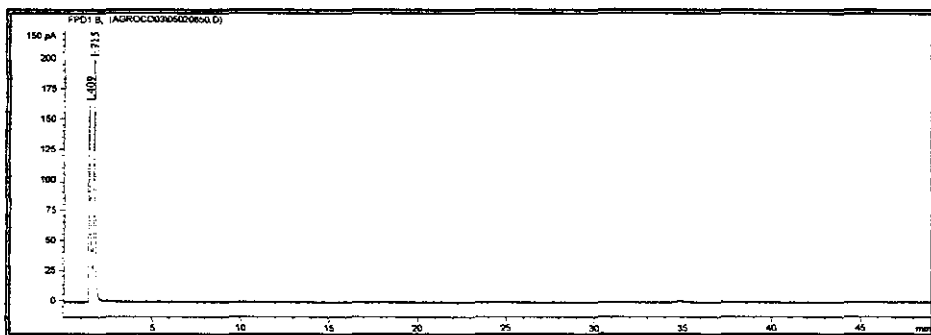


Figura 18.- Cromatograma de una muestra negativa.

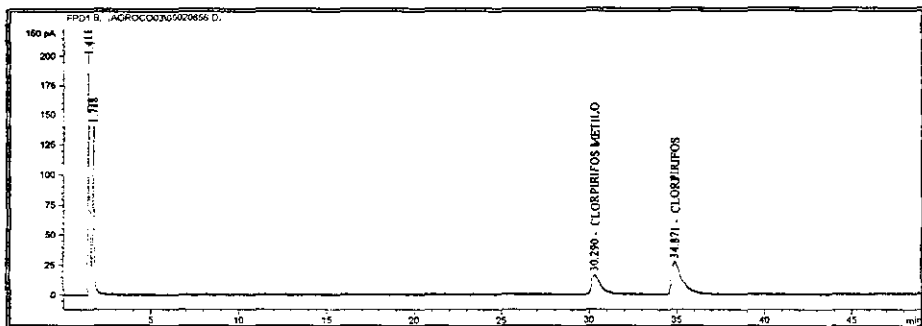


Figura 19.-Cromatograma positivo para Clorpirifos metilo y Clorpirifos.

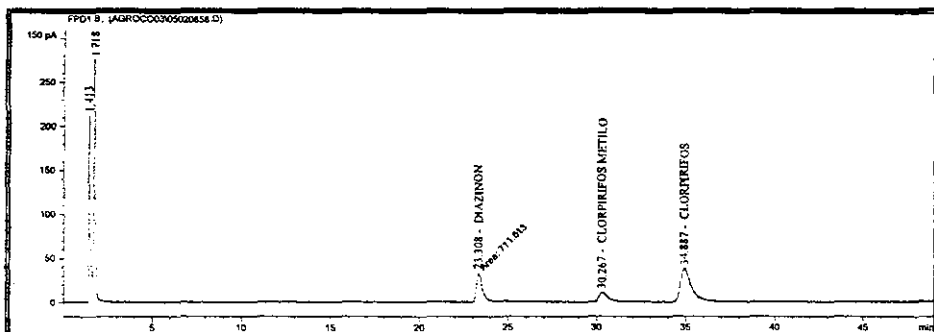


Figura 20.-Cromatograma positivo para diazinon, Clorpirifos metilo y clorpirifos.

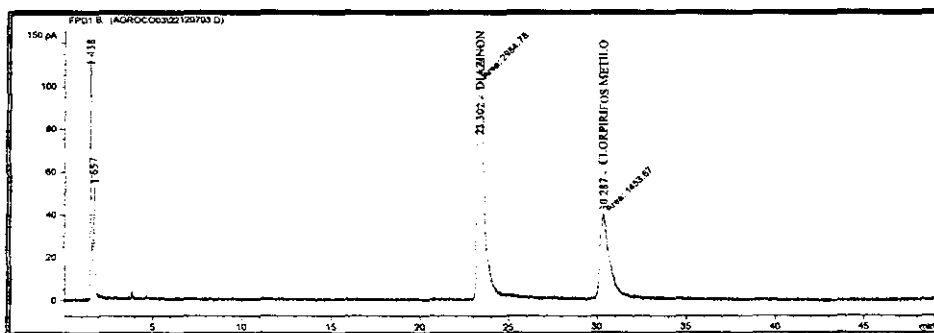


Figura 21.- Cromatograma positivo para diazinon y clorpirifos metilo.

Análisis estadístico de las muestras.

En base a la prueba estadística de X^2 , se realizó la tabla 18 de contingencia con los datos observados y esperados de la detección de residuos negativos.

Tabla 18.- Contingencia basada en el número de muestras que dieron un resultado negativo para los pesticidas.

| Municipio | Metamidofos | Forato | Diazinon | Metilparatión | Clorpirifos metilo | Clorpirifos | Malatión | T |
|--------------|-------------|-----------|-----------|---------------|--------------------|-------------|-----------|-----------|
| Manzanillo | 30(29.59) | 30(29.59) | 20(22.69) | 30(29.59) | 19(18.74) | 22(21.21) | 30(29.59) | 118 |
| Tecomán | 30(30.41) | 30(30.41) | 26(23.31) | 30(30.41) | 19(19.26) | 21(21.79) | 30(30.41) | 118 |
| Total | 60 | 60 | 46 | 60 | 38 | 43 | 60 | 36 |

La interacción resultante es entre los pesticidas y los municipios muestreados.

El resultado de la prueba de X^2 es de 0.99360194 y contrastado contra X^2 de tabla cuyo valor es de 12.5916 a 6 grados de libertad con un nivel de confianza del 95%, se dedujo que no existe relación entre los resultados encontrados en este estudio con los municipios muestreados, con esto se determina que Manzanillo y Tecomán no presentan un problema de residualidad en la generalidad de sus cultivos, no así los huertos donde se realizaron los muestreos, en los cuales si será necesario aplicar medidas para controlar sus niveles de residuos en plátano.

En el proceso normal del fruto este lleva una etapa de lavado después del corte con el cual los compuestos residuales detectados como positivos pudieran ser removidos, o degradados durante el tiempo de maduración (2-3 semanas) o almacenamiento por la corta vida de estos pesticidas.

Se puede decir que 25 de las muestras no presentaron niveles de residuos detectables por el sistema cromatográfico, sin embargo debido a diversos factores es recomendable realizar monitoreos cada estación del año, con la finalidad de determinar el nivel de residuos que presenten los cultivos en otra época y ampliar el estudio a otros compuestos no analizados.

En ninguna de las muestras se presentaron residuos del pesticida metilparati6n, esto puede ser debido a que se considera no persistente, ya que se degrada r1pidamente por ser fotol1bil y termol1bil. La c1scara del fruto as1 como la superficie del mismo son factores que adem1s promueven una exposici6n mayor a agentes clim1ticos tales como el viento y la lluvia que pudieran diluir o arrastrar los pesticidas, provocando niveles de residualidad m1nimos o nulos.¹⁹

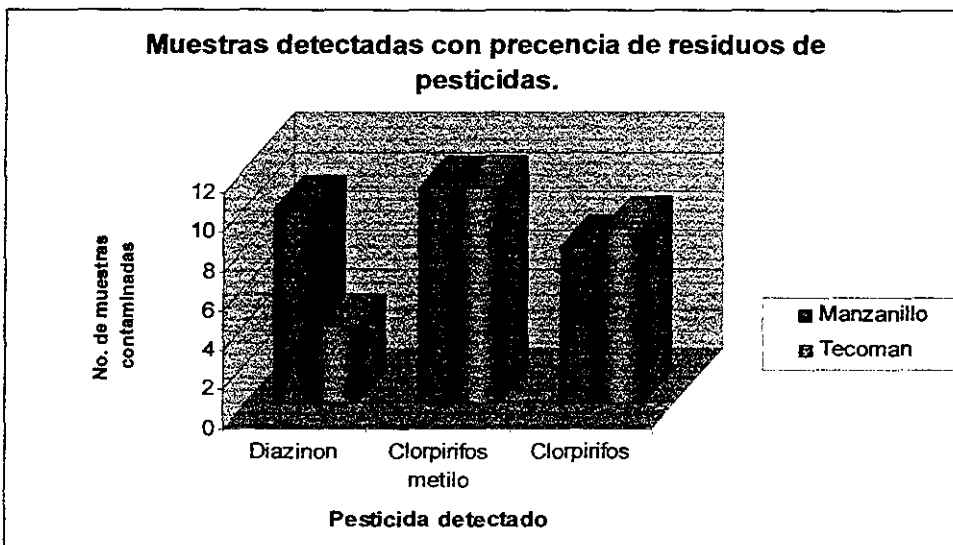


Figura 22.- Muestras positivas a plaguicidas organofosforados por municipio de Colima

De acuerdo a los resultados obtenidos, el n1mero de muestras contaminadas con residuos de pesticidas detectados en cada municipio es casi homog1neo (Tecom1n 19, Manzanillo 18), seg1n el grafico mostrado en la figura 22, podemos ver que el numero de muestras en las que se encontr6 residuos de clorpirifos metilo es el mismo en los dos municipios, de igual forma ocurre para el caso del Clorpirifos el numero de muestras positivas para este plaguicida fue similar encontr1ndose en Manzanillo 8 y Tecom1n 9 muestras con residuos.

Sin embargo en el caso del diazinon en manzanillo estuvo m1s claramente presente que en las muestras de Tecom1n. Lo cual evidencia que los huertos de donde se tomaron las muestras de manzanillo est1n incurriendo en malas practicas de preparaci6n y aplicaci6n del pesticida.

7. Conclusiones.

El método empleado para la determinación de plaguicidas demostró ser confiable y específico y puede ser empleado para la determinación de múltiples plaguicidas, sin embargo se requieren elevado consumo de solventes orgánicos y los tiempos de extracción son largos; por lo que sería conveniente el empleo nuevas técnicas basadas en la extracción a elevadas temperaturas y/o presión o métodos de dispersión en fase sólida, con el fin de disminuir el gasto de solventes y acortar los tiempos de análisis.

Se detectó la presencia de plaguicidas organofosforados en el 58.3% de las muestras analizadas, la concentración de los compuestos sobrepasaron los límites máximos de residuos de plaguicidas establecidos por el Codex Alimentarius y CESAVECOL, de 0.2 ppm para el diazinon y 0.5 ppm para el clorpirifos metilo.

En el caso del clorpirifos, este compuesto se detectó por debajo del LMR, a un nivel residual y se podría calificar a 25 muestras como "Libre de Residuos de Pesticidas" (Diazinon, Clorpirifos, Clorpirifos metil, Malatión, metil paration, Forato y Metamidofos). Para descartar algún riesgo para el consumidor sería conveniente realizar análisis confirmatorio de las muestra positivas y ampliar a otros grupos de plaguicidas utilizados en el cultivo del plátano para tener la certeza de la inocuidad del fruto.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el número de muestras contaminadas con residuos de pesticidas detectados en cada municipio es casi homogéneo (Tecomán 19, Manzanillo 18) lo que nos indica que no existe un problema municipal de contaminación intencionada o por malas prácticas del manejo de pesticidas.

8. Bibliografía.

1. Carvalho, F.P. (2006). Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental science & policy*, 9, 685 - 692.
2. Weiss B., Amler S., Amler R. (2007). Pesticides. *Pediatrics*, Vol 113 ,No.4, 1030 - 1036.
3. Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria (2006). Perfil del producto, Plátano. Consultado en Diciembre, 17, 2007 en <http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs/PAGE/COVECAINICIO/IMAGENES/ARCHIVOSPDF/ARCHIVOSDIFUSION/PERFIL%20DE%20PLATANO.PDF>.
4. Food and agriculture organization of the united nations (2004). Imports and Exports of Selected Agricultural Commodities (pulses, potatoes, fruits) . Consultado en Enero ,31, 2008 en <http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>.
5. Secretaría de agricultura, ganadería, (2005). Boletín NUM.029/05 ,Llega el primer embarque de plátanos de México a Bulgaria . Consultado en Enero,29, 2008 en <http://www.sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2005/enero/B029.pdf>.
6. Secretaría de agricultura, ganadería, (2006). NUM. 155/06, Logran productores de plátano conquistar el exigent mercado europeo.. Consultado en Enero,29, 2008 en <http://www.saghttp://www.sagarpa.gob.mx/cgcs/boletines/2006/junio/B155.pdf>.
7. Consejo estatal de productores de plátano (2005). Plan rector de la cadena productiva del plátano en el estado de Colima. Consultado en Diciembre, 17, 2007 en <http://www.campocolima.gob.mx/SISTEMAPRODUCTO/planrector/planrectorplatan.pdf>.
8. Heslop-Harrison J., Schwarzacher T. (2007). Domestication, Genomics and the Future for Banana. *Annals of Botany*, Vol. 100, 1073 - 1084.
9. Vazquez R., Romero A., Figueroa J. (2005). Paquete tecnológico para el cultivo del plátano. Consultado en Febrero, 20, 2007 en <http://www.campocolima.gob.mx/paginaQEIDRUS/PaquetesTecnologicos/PTPIatano.pdf>
10. CICOPLAFEST. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. Catálogo de Plaguicidas. Secretaría de Salud, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,

Pesca y Alimentación, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales,
Secretaría de Economía

11. Ruppert E., Barnes R. (2001). Zoología de los invertebrados. Madrid: McGraw - Hill interamericana.
12. Orozco J., Perez O. (2006). Tensión de humedad del suelo y fertilización nitrogenada en plátano (Musa AAA Simmonds) cv. Gran Enano. Agrociencia, Vol. 40, 149 - 162.
13. Sánchez K., Betanzos P. (2006). Aspectos socioeconómicos y culturales en el uso de agroquímicos y plaguicidas en los Altos de Morelos, México. Red Iberoamericana de economía ecológica, Vol. 3, 33 - 47.
14. Castrejon R. (Marzo 2006). Plaguicidas autorizados en el cultivo del plátano , Folleto divulgativo No. 6. Alianza por el Campo, CESAVECOL.
15. Ley General de Salud. México. 2003
16. PPP-20. Pesticide and personal safety. Purdue Pesticides Programs. Purdue University Cooperative Extension Service.
17. Ramirez J., Lacasaña M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Archivos sobre la prevención de riesgos laborales, Vol 4, 67 - 75.
18. Ferrer A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. Anales sis san Navarra, Vol 26 (suplemento 1), 155 - 171.
19. Barrera C. (1989). Pesticidas agrícolas. Barcelona: Omega.
20. Moffat A., Jackson J., Moss M., Widdop B. (1986). Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem material. Londres: The pharmaceutical press.
21. Hurtado C., Gutierrez M. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. Revista de la facultad de medicina de la universidad nacional de Colombia, 53, 244 - 258.
22. Eddleston M., Mohamed F., Davies J., Eyer J., Worek F., Sheriff M. Buckley N. (2006). Respiratory failure in acute organophosphorus pesticide self-poisoning. QJM, Oxford journals, Vol. 99, 513 - 522.
23. Rodríguez-Borregán J., Miñambres E., Tejero M., Rebollo M. (2002). Coma fulminante como forma de presentación de intoxicación por organofosforados. Neurología, Vol. 17(3), 170 - 176.

24. Pluth J., Nicklas J., O'Neill P., Albertini R. (1996). Increased frequency of specific genomic deletions resulting from vitro malathion exposure. *Cancer research*, Vol. 56, 2393 - 2399.
25. Mankame T., Hokanson R., Fudge R., Chowdhary R. (2006). Altered gene expression in human cells treated with the insecticide diazinon: correlation with decreased DNA excision repair capacity. *Sage Journals*, Vol. 25, 57 - 65.
26. Mankame T., Hokanson R., Fudge R., Chowdhary R. (2006). Alteration of gene expression in human cells treated with the agricultural chemical diazinon; possible interaction in fetal development. *Sage Journals*, Vol. 25, 255 - 233.
27. INE (1992). Regulación y gestión de productos químicos en México, enmarcados en el contexto internacional. Secretaria de Desarrollo Social/Instituto Nacional de Ecología.
28. Coscolla R. (1993). Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Madrid: Mundiprensa.
29. CODEX STAN, 2003. Muestreo de residuos de plaguicidas: Métodos recomendados/ CODEX STAN 229-1993, Rev.1-2003.
30. Ambrus, A., Fűzesi, I., Lantos, J., Korsos, I., Szathmáry, M., Haffaludí, T. & Rathor, N. (2005). Application of TLC for confirmation and Screening of Pesticide Residues in fruits, vegetables and cereal grains: Repeatability and reproducibility of Rf and MDQ values. *Validation of thin-layer chromatographic methods for pesticide residue analysis. Results of the coordinated research projects organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture 1996–2002*. Printed by for the IAEA. Austria.
31. Skoog D., West D., Holler F., Crouch S. (2006). *Química Analítica*. Mexico: Mc Grawhill.
32. PAM. (1994). *Pesticide Analytical Manual. Volume I: Multiresidue methods*. FDA
33. NOM-028-ZOO-1995, Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados, en hígado y músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos, caprinos, cérvidos y aves, por cromatografía de gases. *Diario Oficial de la federación* 1996.
34. Castro P., Ramos J., Estevez S. Rangel A. (2004). Residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de tomate. *Revista de ingeniería de la universidad de los andes*, Vol. 20, 14 -22.

-
35. Zambrano C. (2005). Evaluacion de la banana ecuatoriana de acuerdo a estándares internacionales de seguridad alimentaria, par agarantizar su certificación y fortaleza competitiva. Revista tecnologica ESPOL, Vol.18, 153 – 158
 36. EPA (1996). Method 8081-A, Organochlorine Pesticides by gas chromatography.
 37. CDER. (1994). Validation of Chromatographic methods. Center for Drug Evaluation and Research/FDA
 38. Sargent M.,Mackay G.(1995).Guilines for achieving quality in trace analysis. The royl Society of chemistry /Valid analytical measurement,
 39. Infoagro.com (2006). Limite máximo de residuos en la legislación española - orden del 1 de abril de 2002. Consultado en Nov 15,2007 en http://www.infoagro.com/abonos/lmr_cultivo.asp?e|Cultivo=19

BIBLIOTECA CUCBA

9. ANEXO.

a) Encuesta aplicada en los productores de los huertos de plátano en Colima.



USO DE AGROQUIMICOS EN EL ESTADO
DE COLIMA



Con el objetivo de recopilar información sobre las tendencias en la aplicación de agroquímicos en Colima para el cultivo de limón, mango, plátano, jitomate, chile y maíz, el CIATEJ esta realizando un estudio con recursos del FOMIX que le permita conocer el uso de productos químicos en la región. Le agradecemos su apoyo contestando las siguientes preguntas:

Cultivo: Mango Plátano Maíz
 Limón Jitomate Chile

Variedad (es): _____

Productor (opcional): _____

Superficie sembrada (Ha) _____

Zona geografica del cultivo (ubicación): _____

Favor de llenar la siguiente tabla sobre el tipo de compuesto agroquímicos que utiliza para el control de plagas o enfermedades.

| Producto Agroquímico | Cantidad | Frecuencia de uso | Que controla |
|----------------------|----------|-------------------|--------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Método de aplicación: _____

¿El personal que lo aplica es? propio contratado _____

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
Av. Normalistas # 800, Guadalajara, Jal. Tel 01(33) 3345 5200 ext 1820 Fax ext 1001