

DCNE
\$500=

FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

(11-013)

16 ABR. 1983
19 ABR. 1983
28 ABR. 1983
6 MAYO 1983

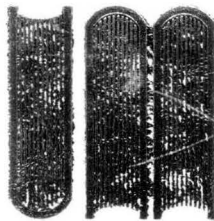


UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Clasificación

040.664
H469e
1982
c.1



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

Folio
801413

Título

ESTANDARIZACION DEL METODO DE DETECCION
DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS Y
ORGANOFOSFORADOS EN EL REPOLLO

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

Autor

QUE PRESENTA

REBECA HEINRICHS JAVELLY

EN OPCION AL TITULO DE

INGENIERO EN ALIMENTOS

V. B.
R. Javelly

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1982

BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY

A mis padres y hermanos por su apoyo.
A Gerardo por su comprensión y cariño.
A mis maestros y amigas por su ayuda y
amistad.

En especial a mi asesora Srita. Q.F.B.
Maricela Ramírez Benavides con cariño
y admiración.

I N D I C E

	<u>Página</u>
Introducción.....	1
Materiales y Métodos.....	11
Resultados.....	22
Discusión y Conclusiones.....	25
Resumen.....	29
Bibliografía.....	30

I N T R O D U C C I O N

La preocupación por la persistencia de los residuos de pesticidas organoclorados y organofosforados en el medio ambiente después de que han cumplido la función para la cual se emplearon, así como su tendencia a su dispersión y bioacumulación ha causado que en la mayoría de los países y de las organizaciones internacionales hayan establecido límites de tolerancia muy bajos para los residuos de estas sustancias en los vegetales, sobre todo para aquellos que el hombre ingiere sin cocinar, tales como frutas y verduras. Esto

se hace con fines agrícolas y de salud pública para que exista un equilibrio ecológico adecuado (1).

Se entiende por residuos a las cantidades residuales de pesticidas y sus productos tóxicos de transformación que se encuentran en las plantas, alimentos y medio ambiente como consecuencia inmediata de medidas fitosanitarias de tipo químico (15).

Una vez que ha sido aplicado el pesticida a la planta, forma primero un depósito de ingrediente activo el cual o se queda en la superficie de la planta o se almacena en los tejidos de ésta. El depósito se convierte en residuo tan pronto como está sujeto a influencias fisiológicas las cuales conducen a disminuir su concentración. A este efecto de dilución se le conoce de forma incorrecta como "acabamiento". En la mayoría de los pesticidas este acabamiento se lleva a cabo rápidamente como un resultado de influencias físicas (viento, lluvia, transportación) así como también por ataque químicos y enzimáticos (hidrólisis, oxidación, reducción, isomerización y conjugación). La vida media del residuo, una expresión numérica del porcentaje de acabamiento, comprende a menudo sólo unas horas o días.

Una excepción a esto lo representan los pesticidas organoclorados. Cuando el acabamiento se lleva a cabo despacio, puede significar el que cantidades considerables de residuos

sean llevadas al próximo período de vegetación; si después el pesticida es agregado nuevamente el peligro de acumulación de residuos aumenta (10).

Los pesticidas pueden estar en contacto con el hombre y los animales domésticos accidentalmente o como residuos en los alimentos, el agua y el aire (7).

La toxicidad de los pesticidas presenta distintos aspectos según su diferente trascendencia. Por lo que a sus efectos más inmediatos se refiere, se consideran tres clases de toxicidad:

- 1) Toxicidad oral aguda: se presenta después de la primera ingestión del producto pesticida, se expresa en términos de LD_{50} (dosis letal media), que significa la cantidad de tóxico que es necesario inocular para producir la muerte del 50% de los animales utilizados para el ensayo.
- 2) Toxicidad dérmica: se adquiere por contacto o absorción del pesticida por la piel, y se expresa también en términos de LD_{50} .
- 3) Toxicidad crónica: se presenta debido a la administración de dietas alimenticias preparadas con dosis variadas del tóxico, y se averiguan los niveles de peligro del pesticida a través de su administración repetida a lo largo del tiempo.

Existen además otras clases de riesgos como son: toxicidad por inhalación, riesgos a ojos, efectos en la reproducción,

efectos en la formación de tumores malignos y toxicidad a otros animales (3).

Los químicos han encontrado a la fecha que generalmente la acumulación en humanos se debe a los hidrocarburos clorinados, por ser estables y lipofílicos, ya que los derivados fosfóricos se transforman más fácilmente en productos inocuos para el organismo vivo; que los niveles de cualquier pesticida varían geográficamente; que los cambios de los niveles estables de pesticidas en la mayoría de los casos son mínimos y que el factor determinante en la distribución de los pesticidas en el cuerpo es el contenido de grasa acumulado en el tejido adiposo; aunque también por otro lado se ha visto que influyen otros factores como: sexo, edad, raza, hábitos alimenticios, estado de vida y estado fisiológico (3,7).

Desde 1820 Lassaigne inició el estudio de la química de los compuestos organofosforados, pero no fue hasta 1932 que Lange y Gerde V. Krueger se dieron cuenta de las propiedades altamente tóxicas de estos compuestos. Durante la Segunda Guerra Mundial, Schrader fue el primero en notar los efectos acaricidas e insecticidas de estos compuestos, y después de esto, junto con él, muchos científicos iniciaron el estudio de esta clase de insecticidas (5).

Todos los derivados fosfóricos presentan una similitud en su

acción sobre la colinesterasa. El impulso nervioso producido por una excitación externa se transforma en movimiento muscular por intermedio de la acetilcolina, que es la que impéle al músculo a realizar el movimiento conveniente, esta substancia interviene como transmisor del mensaje recibido para transformarlo en movimiento. La acetilcolina es un tóxico muy fuerte y su acumulación en el organismo produce la muerte, es por esto que una vez cumplida su función es destruída por la enzima colinesterasa. Si se inhibe el mecanismo de acción de la colinesterasa se provoca la acumulación de acetilcolina y la muerte se produce cuando se sobrepasa el máximo tolerado. Si a la colinesterasa se le presenta un sustituto de la acetilcolina actúa sobre éste. Los derivados fosfóricos actúan como inhibidores de la colinesterasa comportándose como sustitutos de la acetilcolina lo que les confiere su acción tóxica (3).

Estos insecticidas pueden considerarse como derivados del ácido fosfórico y la sustitución del átomo de hidrógeno de todos los grupos hidroxilos por una molécula de fosfato origina compuestos fosfatados, los cuales además pueden presentar otras sustituciones químicas formándose así los tionofosfatos, tiolfosfatos, tionotiolfosfatos, fosfonatos, fluorofosfoidatos y los amidofosfatos. En general los fosfatos orgánicos utilizados como insecticidas, presentan dos radicales orgánicos iguales variando sólo el tercero (3).

La revolución en el desarrollo de los insecticidas organoclorados se inició cuando Müller descubrió las propiedades insecticidas del DDT. Dentro de los derivados clorados el DDT ocupa un lugar privilegiado debido a que da lugar a un grupo de compuestos análogos a él.

El lindano le sigue en importancia al DDT. Es una mezcla de isómeros que difieren entre sí por las posiciones en el espacio de sus átomos de Cl e H₂. No se emplea en alimentos por su olor a moho.

Otro grupo lo forman los derivados ciclodiénicos, comprendiendo tres tipos de insecticidas caracterizados por una estructura química similar, que consiste en un anillo cíclico con doble enlace y un puente metilénico, el cual puede estar unido o no a otro anillo u otros grupos de cada molécula.

Los tres grupos son derivados de dimetanonaftaleno, derivados del indano y derivados del bicicloheptano.

Otro grupo lo forman los terpenos clorados y sólo pertenecen a este grupo el toxafeno y el strobane; su fórmula química no está definida.

Los otros derivados clorados son los que no se adaptan a ninguno de los grupos anteriores, están formados por cetonas policíclicas y policloradas (3).

Se desconoce el modo preciso de acción de los insecticidas organoclorados. Desde el punto de vista toxicológico, atacan el sistema nervioso central alterando los síntomas de comportamiento y neuromusculares. Causan alteraciones dege-

nerativas en el hígado y riñón (7).

Las técnicas analíticas están adquiriendo mayor importancia en la química de los pesticidas, y en particular en la introducción del concepto de residuos de pesticidas. El problema para los toxicólogos consiste en que los residuos están presentes en cantidades extremadamente pequeñas en materiales generalmente heterogéneos incluyendo los materiales biológicos (7).

Entre las técnicas analíticas empleadas para la determinación de residuos de pesticidas, está el método cromatográfico, el cual esencialmente consta de tres pasos:

- 1) La extracción y purificación para eliminar previamente el material no deseado en las muestras.
- 2) La separación de la mayoría de los derivados insecticidas en cuestión.
- 3) La detección del producto químico con la mayor sensibilidad posible sin interferencia de otras sustancias (7).

Los análisis cromatográficos muchas veces no son suficientes para identificar residuos de pesticidas, pues en la práctica éstos son metabolizados o convertidos en productos desconocidos y para esto se emplean métodos químicos, biológicos o espectroscópicos.

- 1) Químicos: los más comunes se basan en reacciones color-

métricas las cuales han sido estudiadas adecuadamente por Gunther (1962) y Beckman (1963) (7).

2) Biológicos: el método más usado es el que se basa en la inhibición de la colinesterasa para residuos organofosforados; por otra parte, los bioensayos han sido empleados como un suplemento de los métodos analíticos, pues éstos no pueden identificar sustancias específicas aunque sí las pueden separar (7).

3) Espectroscópicos: su uso es limitado por su poca sensibilidad general y su requerimiento de pureza. La sensibilidad es limitada sólo por la cantidad de la muestra, y se puede incrementar si se usa cromatografía de gases conectada al espectrómetro de masas (7,18).

Otros métodos más específicos y nuevos para el análisis de residuos son:

La técnica de dilución automática del isótopo subtoicométrico, que emplea un sistema de dos detectores, es simple, rápido y de buen control y correlación (18).

La espectrofotometría infrarroja se usa para la identificación de cantidades en microgramos de compuestos orgánicos.

Las técnicas más usadas son la microreflectancia interna múltiple y la de micropastillas de bromuro de potasio (18).

También se pueden utilizar técnicas integradas como la del sistema de cromatografía de gas-detector de flama de ioniza-

ción-espectrómetro de masa.

Diez años han pasado desde que se demostró que la cromatografía en capa fina podría resolver mezclas de pesticidas y podría ser aplicada para detectar y estimar los residuos de algunos insecticidas organoclorados y organofosforados (18).

En la actualidad la cromatografía de capa fina, es frecuentemente empleada para la determinación de residuos de pesticidas en el estudio de la contaminación ambiental de muestras de desperdicios, agua, plantas, así como también para el control de frutas, vegetales y alimentos para animales y el hombre (14).

Los métodos cromatográficos permiten fraccionar los componentes de una mezcla, ya que dependen de la migración selectiva y diferencial de los solutos a través de un sistema de dos fases, una sólida estacionaria (adsorbente) y otra fluída (eluyente). El adsorbente retiene selectivamente sobre su superficie gases, líquidos o sólidos arrastrados por la fase fluída móvil (4).

En la cromatografía de adsorción se lleva a cabo la separación de una mezcla de sustancias debido a las diferentes características polares de ellas, que les permiten formar enlaces con la superficie activa del adsorbente, por la que las sustancias polares se unen electrostáticamente (12).

El objetivo de este trabajo es la estandarización del método de detección de residuos de pesticidas en el repollo debido a la importancia de poseer alguna información que nos indique el grado de contaminación por residuos de pesticidas al que están expuestos los consumidores y en general toda la población por la contaminación ambiental que causan éstos.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

En este estudio se realizó la estandarización para la detección de pesticidas organoclorados y organofosforados en el repollo por medio de la técnica de cromatografía en capa fina.

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis Clínicos de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey, en el transcurso de Enero a Abril de 1982.

Se utilizaron estándares de referencia con una concentración entre el 50 y 100%, para poder identificar claramente que clases de pesticidas contenía el repollo.

Los pesticidas que se emplearon como estándares y cuyas fórmulas así como también algunas características físicas y químicas se mencionan en las tablas I y II, fueron:

Pesticidas Organoclorados

- 1) DDT
- 2) lindano
- 3) toxafeno

Pesticidas Organofosforados

- 1) malatión
- 2) etiión
- 3) dioxatiión
- 4) gusatiión
- 5) diazinón

A. MATERIALES

Rotavapor 115V, 50-60 CY, Buchler Instruments.

Es un evaporador rotatorio que trabaja a presión reducida por medio de una bomba. Tiene un refrigerante en forma espiral y un baño de temperatura constante.

Columnas cromatográficas.

Son columnas de diferentes tamaños, unas de 400 mm de largo

TABLA I. ESTRUCTURA Y PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS ESTANDARES EMPLEADOS.

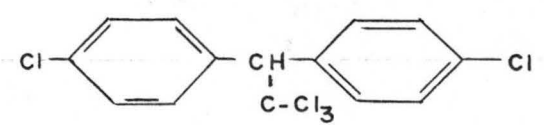
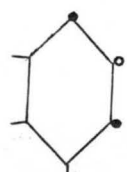
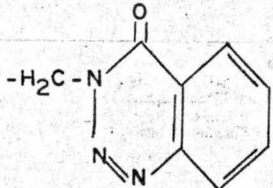
Insecticidas Organoclorados	Estructura Química	Propiedades Físico-Químicas
DDT	<p>pp'-diclorodifenil-1,1,1, tricloroetano</p> 	<p>sólido, producto técnico p.f = 89° ó más isómero pp' puro p.f.=108-109°C p. vap. 1.9×10^{-7} mm Hg/20°C soluble en agua = 0.0012 ppm solubilidad limitada en aceites e hidrocarburos alifáticos. Soluble en solventes orgánicos.</p>
LINDANO (HCH, BCH)	<p>Hexaclorociclohexano</p> 	<p>Sólido p.f. = 84°C sensible a oxidación soluble en disolventes aeromáticos menos alcoholes e hidrocarburos parafinados.</p>
TOXAFENO	<p>Canfeno policlorado, fórmula no definida $C_{10} H_{10} Cl_8$</p>	<p>Sólido céreo amarillento contenido en cloro 67-69% p.f. = 65-95°C insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos.</p>

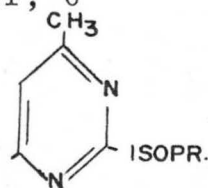
TABLA II. ESTRUCTURA Y PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LOS ESTANDARES EMPLEADOS.

Insecticidas Organofosforados	Estructura Química	Propiedades Físico-Químicas
MALATION	<p>Dietil succinato</p> $\begin{array}{c} \text{-CH-COO ETILO} \\ \\ \text{CH}_2\text{-COOETILO} \end{array}$	<p>líquido. p.e. = 156-157/0.7 mm p.f. prod. sol. = 2. 8°C p. esp. = 1.23 p. vap. = 4×10^{-5} mm/30°C soluble en agua = 145 ppm. poco soluble en keroseno soluble en solventes orgánicos</p>
ETION	<p>0,0,0',0', tetraetil,-s,s' metilenditionotiofosfato</p> $\begin{array}{c} \text{EtO} \quad \text{S} \\ \diagup \quad \\ \text{P} - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{P} \\ \diagdown \quad \\ \text{EtO} \quad \text{OEt} \end{array}$	<p>líquido. p.f. = 12 a -15°C p. esp = 1.22-1.23 p. vap. = 1.5×10^{-6} mm/25°C muy poco soluble en agua soluble en la mayoría de los solventes orgánicos.</p>
GUSATION (ETILA ZINFOS)	<p>3,4 dihidro,4,oxo,1,2,3, benzotriazin,3,metil</p> 	<p>sólido cristalino pardo ámbar p.f. = 53°C p.e. = 111°/0.001 mm p. esp. = 1.28 p. vap. = 2.2×10^{-7} mm/20°C insoluble en agua, soluble en disolventes orgánicos.</p>

BIBLIOTECA UNIVERSITARIO DE MONTERREY

DIAZINON

2, isopropil, 4, metilpi-
rimidinil, 6



líquido.

p.e. = 83-84°/0.002 mm

p.esp. = 1.116-1.118

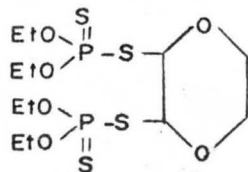
p. vap. = 1.4×10^{-4} mm/20°

soluble en agua = 40 ppm.

soluble en solventes orgánicos

DIOXATION
(DELNAV)

0,0,0',0' tetraetil bis
(tionofosfatotiol)s,s',
1,4 dioxan-2,3,ilidin



líquido pardo

P. esp. = 1.257

inestable en presencia de hierro
estano y otros metales

prácticamente insoluble en agua

poco soluble en solventes orgánicos

por 35 mm de diámetro y otras de 240 mm de largo por 25 mm de diámetro.

Tanque de cromatografía.

Es una cuba de vidrio, la cual se cubre con un vidrio. Se emplearon cubas de varios tamaños. Es importante que las cubas queden bien cerradas, de preferencia se sellan con cinta adhesiva para impedir que el solvente se evapore y el tanque pueda tener una buena saturación. Aquí se colocan los cromatofolios o cromatoplasmas para que se desarrolle la cromatografía.

Cromatofolios Al de Silicagel 60 F 254 para cromatografía de capa fina, Merck.

Se trata de una lámina de aluminio duro cuya superficie se ha activado por medio de un tratamiento previo especial. El espesor de la lámina es de 0.1 mm lo que facilita su flexibilidad a la vez que es lo suficientemente rígida para no doblarse en las cámaras de desarrollo habituales. Su tamaño es de 20 x 20 cm y el espesor de la capa del adsorbente es de 0.2 mm (11).

B. METODOS

Recolección de muestras.

Todas las muestras se obtienen de diferentes lugares en un

tiempo determinado. La compra se hace en la misma forma en que lo hace un consumidor potencial, eligiendo las unidades de mejor apariencia, entre las que se encuentran a la venta.

Si la muestra no se utiliza de inmediato, se envuelve con papel aluminio y se conserva en el refrigerador (1,7).

Activación de los adsorbentes.

Los adsorbentes utilizados en la columna cromatográfica deben ser activados antes de colocarlos; se activan a 110° C por 30 minutos.

Prelavado y activación de los cromatofolios.

Se lleva a cabo en el tanque de cromatografía con una solución de acetona-agua al 50%. Se colocan tiras de papel filtro Watman No. 1 humedecidas con el solvente, en las paredes del tanque y tocando la orilla del cromatofolio.

Se coloca el cromatofolio y se sella el tanque para que corra el eluyente. Después se secan a 80° C por 45 minutos.

Se enfrían y se almacenan en el desecador. Los cromatofolios deben ser usados en la misma semana en que se prelavaron y activaron (20).

Detección de los residuos de pesticidas.

El análisis de residuos de pesticidas se puede dividir en tres etapas:

- 1) Extracción del pesticida del repollo
- 2) Purificación del extracto
- 3) Identificación del pesticida

1) Extracción.

Se licúan 50 g de muestra, a alta velocidad, por 5 minutos, se le agragan 50 g de sulfato de sodio anhidro y 150 ml de solvente para extracción.

La mezcla se filtra al vacío a través de un Buchner y el disolvente se recoge en un matraz kitasato. El residuo se extrae dos veces más, de la misma manera, con porciones de 50 ml del solvente de extracción cada una. Los filtrados reunidos se transfieren a un matraz de cuello esmerilado y fondo redondo y se concentran en el rotavapor hasta un volumen aproximado de 10 ml a una temperatura de 60-70° C.

Los extractos se pueden conservar a 0° C en el congelador (1).

2) Purificación.

El concentrado obtenido de la extracción se transfiere cuantitativamente a una columna cromatográfica preparada con fibra de vidrio y el adsorbente previamente activado, se lava con 20 ml de benceno y de 40 a 50 ml de una mezcla de acetato de etilo-benceno 25:75, de los extractos purificados se toman de 10 a 100 microlitros con una microjeringa para el análisis de cromatografía de capa fina (1).

3) Identificación.

Para el análisis se aplican 5 microlitros de cada estándar y de cada muestra, con espacio suficiente entre cada aplicación, de preferencia 2 cm entre cada una y dejando un margen de 2 cm en ambos extremos del cromatofolio.

Se coloca el cromatofolio en el tanque de cromatografía el cual se presatura colocando el solvente desarrollador 30 minutos antes del corrimiento; una vez que se desarrolla la separación, se deja secar la placa y se revela con los agentes reveladores cromogénicos.

Los pesticidas se identifican relacionando sus R_f con los de los estándares.

REACTIVOS

I.- Solventes empleados en la extracción:

- (1) cloroformo-metanol 9:1
- (2) acetonitrilo
- (3) hexano

II.- Adsorbentes empleados en la columna cromatográfica:

- (1) Silicagel 60 G
- (2) Silicagel 60
- (3) óxido de aluminio anhidro
- (4) carbón activado

III.- Solventes desarrolladores:

- (1) cloroformo-metanol 9:1
- (2) hexano-acetona 8:2
- (3) cloroformo-benceno 5:5

IV.- Reveladores cromogénicos:

- (1) Acido fosfomolibdico al 10% en etanol

Se rocía la placa y se deja secar al aire, después se calienta a 120^o C por 1-2 minutos hasta que el color óptimo se obtenga. Aparecen manchas azules en fondo amarillo. Es muy sensible a la luz, se debe guardar en refrigerador y procurar que el área donde se use sea ventilada.

- (2) Solución Kenacid Blue R

Kenacid Blue R	0.1 g
Acido acético	10 ml
Etanol	45 ml
Agua destilada	45 ml

Aparecen manchas azules y blancas sobre fondo azul más claro (6).

- (3) Rodamina B en etanol

Sol. A - solución de Rodamina B etanólica al 0.025-0.05%

Sol. B - solución de Rodamina B etanólica al 0.25%

Después de rociar se coloca en luz u.v. hasta que aparezcan las manchas (16).

(4) Solución etanólica de nitrato de plata al 1%

R E S U L T A D O S

El método de análisis se realizó repetidas veces, variando condiciones, tales como: eluentes, solventes de extracción, agentes reveladores, volúmenes de aplicación tanto de la muestra como de los estándares y concentraciones de los estándares.

La estandarización se logró en las siguientes condiciones:

g de muestra	50 g
g de agente higroscópico	50 g
ml solvente de extracción	250 ml
solvente de extracción	hexano

eluyente	hexano-acetona 8:2
agente revelador	Kenacid Blue R
vol. aplicado de cada estándar	5 microlitros
vol. aplicado de muestra	20 microlitros

Los Rf obtenidos bajo estas condiciones se observan en la tabla III.

Los pesticidas identificados en el repollo por sus Rf y la similitud de las manchas fueron: malatión (Rf=0.21), dioxatión (Rf=0.31), gusatión (Rf=0.22).

Algunas otras manchas de pesticidas que no se pudieron identificar por no poseer los estándares, se consultaron en bibliografía y se suponen por los valores de sus Rf. Estos fueron: BHC, DDT, clordano, thiodan o endosulfan.

TABLA III. VALORES DE LOS R_f DE LOS ESTANDARES EN RELACION AL TIEMPO DE MIGRACION Y TEMPERATURA

TIEMPO DE MIGRACION (MIN.)	50	45	40	38	36	35	35	29	28	27	25
TEMPERATURA (°C)	25	24	17	34	28	32	26	20	32	34	17
PESTICIDAS	VALORES R_f *										
DDT	-	0.91	0.54	0.83	0.80	0.80	0.86	0.58	0.68	0.84	0.53
TOXAFENO	-	0.90	0.54	0.84	0.84	0.81	0.87	0.54	0.66	0.86	0.61
LINDANO	-	0.77	0.40	0.69	0.64	0.65	0.72	0.50	0.55	0.64	0.45
MALATION	0.31	-	0.20	0.41	0.33	0.41	-	-	0.32	0.39	-
ETION	0.51	0.68	0.40	0.66	0.58	0.66	0.66	-	0.52	0.66	0.46
GUSATION	0.17	0.23	0.09	0.24	0.18	0.25	0.20	-	0.20	0.22	-
DIAZINON	-	0.61	0.34	0.61	0.54	0.59	0.64	-	0.50	0.62	-
DIOXATION	0.33	0.40	0.23	0.43	0.34	0.42	0.40	-	0.35	0.41	0.30

*Distancia recorrida eluente 11.5 cm.
(hexano-acetona 80:20)

D I S C U S I O N Y C O N C L U S I O N E S

La importancia de este método cromatográfico radica en la identificación de residuos de pesticidas en el repollo de una forma rápida y sencilla.

Los resultados que se pueden lograr con este método son:(7)

- 1.- Demostrar que el vegetal está contaminado
- 2.- Determinar la clase de pesticidas contaminantes
- 3.- Identificar los pesticidas presentes
- 4.- Determinar el grado de contaminación

La cromatografía en capa delgada puede presentar discrepancias en los valores del Rf debido a los cambios en las condiciones ambientales como la temperatura y la humedad relativa, cambios mecánicos, variaciones en los adsorbentes; por lo que se deben estandarizar todas estas variables para realizar una buena caracterización.

Como el valor del Rf no es una prueba definitiva de identificación, el uso de una sustancia patrón y el reactivo cromogénico son de gran ayuda.

Cuando hay un descenso de humedad en el ambiente, se presenta un incremento de actividad en la dirección del flujo del eluyente, a lo que se le conoce como gradiente de actividad "antiparalelo", que aunado a una temperatura alta provoca la disminución del tiempo de corrimiento de la cromatografía, como se observa en la tabla III (7).

Respecto a los solventes de extracción el elegido fue el hexano por su alta volatilidad, debido a que aceleraba el proceso de concentración (20 minutos aproximadamente cada extracto).

Para demostrar la ausencia de pesticidas en las muestras de repollo, se procedió a eliminar la etapa de purificación, lo que llevó a detectar la presencia de varios pesticidas. Con esto se comprobó la ineficacia del adsorbente utilizado

en la columna cromatográfica así como también se confirmó la extracción de los tóxicos en el repollo.

La modificación que se hizo al método, suprimiendo la purificación del extracto puede ser útil como prueba preliminar.

Se eligió la mezcla de hexano-acetona 8:2 como eluente por su buena resolución.

La estandarización de la etapa de identificación se realizó con el agente cromógeno Kenacid Blue R, por revelar todos los estándares utilizados y proporcionar una coloración bastante satisfactoria y clara.

La Rodamina B etanólica también proporciona buenos resultados pero no revela el total de los estándares empleados. Revela solamente los siguientes: DDT, toxafeno, lindano, etiión, dioxatiión.

El nitrato de plata etanólico se comportó como la Rodamina B, los estándares identificados fueron gusatiión, malatiión, etiión, dioxatiión.

El ácido fosfomolíbldico solo identificó al dioxatiión.

Al llevar a cabo la medición de los Rf, los valores obtenidos concordaron con los encontrados en al bibliografía, por lo que se considera satisfactorio el estudio.

En la actualidad, la población mundial se ve constantemente

afectada por la contaminación de residuos de pesticidas en los alimentos, debido a esto considero de gran utilidad esta investigación ya que representa el inicio de una serie de estudios toxicológicos que contribuirán de alguna manera al bien de todos nosotros.

R E S U M E N

En este estudio se obtuvo la estandarización del método de detección e identificación de varios residuos de pesticidas organoclorados y organofosforados en el repollo.

Se utilizaron ocho estándares de uso común en la agricultura para identificar los pesticidas del repollo por medio de la comparación de sus Rf.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Albert, L., M.G. Martínez, M.E. González. 1979. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS I. RESIDUOS DE INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN ALGUNOS ALIMENTOS MEXICANOS. Rev. Soc. Quím. Méx. 23:189-196.

- 2.- Antoine, O., G. Mees, 1971. TEST DE ROUTINE POUR LA DETERMINATION DES INSECTICIDES ORGANO-PHOSPHORES PAR LA CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE. J. of Chrom. 58:247-256.

- 3.- Barberá, C. 1976. PESTICIDAS AGRICOLAS. 3a. ed. Editorial Omega, España.
- 4.- Domínguez, A.X. 1978. EXPERIMENTOS DE QUIMICA ORGANICA. Editorial Limusa, México.
- 5.- Fest, C., K.J. Schmidt. 1973. THE CHEMISTRY OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin Publishers, Alemania.
- 6.- Martínez C., Y.M., D.T. Ollervides V. ESTANDARIZACION DEL METODO ELECTROINMUNOENSAYO PARA LA CUANTIFICACION DE LA INMUNOGLOBULINA A SERICA, U.D.E.M., Monterrey, N.L. 1981.
- 7.- Matsumura, F. 1975. TOXICOLOGY OF INSECTICIDES. Plenum Press, U.S.A.
- 8.- Medina C., M.D., M.I. Maldonado G. CARACTERIZACION DE LOS LIPIDOS DEL SUERO POR CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA, U.D.E.M., Monterrey, N.L. 1979.
- 9.- Merck E., INFORMACION SOBRE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA I. Darmstadt (Rep. F. de Alemania).
- 10.- Merck E., SOLVENTS FOR PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS REA-

GENTS. Darmstadt (Rep. F. de Alemania).

- 11.- Merck E., CROMATOFOLIOS AL PARA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA. Darmstadt (Rep. F. de Alemania).
- 12.- Merck E., PRINCIPIOS DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (CCF). Servicio Informativo. No. 2. México.
- 13.- Randerath, K. 1974. CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA. Ediciones Urmo, España. Enciclopedia de la Química Industrial, Tomo 8.
- 14.- Sandroni, S., H. Schlitt. 1971. A SCREENING METHOD FOR ORGANOCHLORINE AND PHOSPHORUS PESTICIDE RESIDUES IN VEGETABLES USING THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY. J. of Chrom. 55:385-394.
- 15.- Sieper, H. DISOLVENTES PARA EL ANALISIS DE RESIDUOS. Kontakte (Merck). No. 3,74.
- 16.- Stahl, E. 1969. THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY. 2nd. ed. Springer International Student Edition, U.S.A.
- 17.- Stefanac, Z., B. Stengl, Z. Vasilic. 1976. QUANTITATIVE DETERMINATION OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES BY THIN-LAYER DENSITOMETRY. J. of Chrom. 124:127-133.

18.- Tahori, A.S. 1971. METHODS IN RESIDUE ANALYSIS. Gordon and Breach Science Publishers, Nessziona (Israel).

19.- Tewari, S.N., I.C. Sharma. 1977. ISOLATION AND DETERMINATION OF CHLORINATED ORGANIC PESTICIDES BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY AND THE APPLICATION TO TOXICOLOGICAL ANALYSIS. J. of Chrom. 131:275-284.

20.- Association of Official Analytical Chemists. 1980. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. 13th. ed. sect.29.000. Association of Official Analytical Chemists of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.