

Persistencia de los Insecticidas Organofosforados Malathion y Chlorpirifos en Guayaba (*Psidium guajava* L.)

J. Sánchez¹, G. Ettiene², I. Buscema², D. Medina².

¹Instituto Universitario de Tecnología de Maracaibo (IUTM).

²Departamento de Química, Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia, Apdo. 15205.

Resumen

En este trabajo se evaluó la persistencia de malathion y chlorpirifos en guayabas fisiológicamente maduras, cultivadas en la Granja Canaima, municipio Mara, estado Zulia en un área de 147 m² con tres repeticiones y un testigo. La dosis aplicada de las formulaciones comerciales fue de 2 L/ha (malathion) y 1,5 L/ha (chlorpirifos). Se midieron los niveles residuales de los OPs en el tiempo, 1 h después de la aplicación (día 0) hasta el día 15. Se optimizó la extracción con acetato de etilo-acetona (90:10) y para la cuantificación se empleó cromatografía de gas capilar acoplada a un detector Nitrógeno-Fósforo (NPD), obteniéndose porcentajes de recuperación de 81,50% ± 8,22 y 90,50% ± 5,83, con coeficientes de variación de 10,09 y 6,44%. Se obtuvo límites de detección del método de 0,0165 µg/g para malathion y 0,0204 µg/g para chlorpirifos. La disipación de los insecticidas siguió una cinética de primer orden con tiempos de vida media de 0,29 y 2,35 días, disipándose malathion un 100% después del tercer día y chlorpirifos, después del día 11. En tiempos de tolerancia Codex, el tiempo límite de aplicación antes de la cosecha resultó 2 días para malathion y 3 días para chlorpirifos.

Palabras clave: Insecticidas organofosforados, guayaba, persistencia, cromatografía de gases.

Introducción

Uno de los principales cultivos frutícolas del estado Zulia es la guayaba (*Psidium guajava* L.), específicamente en el municipio Mara, donde los productores para proteger sus cultivos de las plagas que los

atacan (como ácaros, moscas de la fruta y mota blanca) hacen aplicaciones constantes de insecticidas organofosforados cada siete días, aproximadamente (9). Esta actividad puede traer como

consecuencia que niveles residuales de estos productos pueda estar presente en los frutos de guayaba al cosecharlos, sin embargo, en el comercio, son poco comunes los efectos nocivos sobre el sabor (18).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), como comisión mixta (6), establecieron un programa conjunto sobre normas alimentarias llamado "Codex Alimentarius", el cual establece los límites máximos de residuos (LMRs) en los alimentos y controla los residuos de insecticidas que resultan de su empleo autorizado sobre los alimentos. Este control de calidad se debería cumplir para la comercialización de productos agrícolas tanto en el ámbito nacional como internacional y su cumplimiento estricto garantizaría que los productos agrícolas lleguen al mercado con niveles de residuos de insecticidas por debajo del LMRs (4,11). Por lo que es necesario determinar el tiempo que debe transcurrir entre la aplicación del insecticida y la cosecha. Este plazo de espera está en función del tipo de cultivo, tipo de insecticida, toxicidad, poder residual, mecanismo de acción y las condiciones meteorológicas de la zona de cultivo (10,18). Sí se considera que las plantas de guayaba (*Psidium guajava* L), tienen frutos en diferentes estados fisiológicos y por lo general la cosecha es constante cada dos o tres veces por semana, la situación puede ser delicada por

cuanto en muchos casos se cosecha sin respetar los plazos de espera que deben oscilar entre 15 y 21 días. Esta realidad, justifica la necesidad de conocer la persistencia de insecticidas OPs en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L), bajo las condiciones ambientales del municipio Mara del Estado Zulia. Estudios de persistencia de insecticidas OPs se han realizado en otros países en muestras de tomate y pimentón (1, 2, 3), en Venezuela los estudios de persistencia se han realizado en cultivos de tomate (17) y en otras matrices, tales como agua de río (15), mosto y vino de uvas (7).

Entre las técnicas analíticas empleadas comúnmente para la detección y cuantificación de residuos de insecticidas OPs en productos agrícolas destacan la cromatografía de gases capilar acoplada a los detectores nitrógeno-fósforo (NPD) (19) y fotométrico de llama FPD (3), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (8).

Este trabajo tuvo como objetivo la evaluación de la persistencia de los insecticidas organofosforados malathion y chlorpiryphos en guayaba (*Psidium guajava* L) fisiológicamente maduras bajo las condiciones ambientales del municipio Mara, empleando cromatografía de gas capilar con detección NPD.

Materiales y métodos

El estudio de persistencia se realizó sobre plantas de guayaba (*Psidium guajava L*) cultivadas en la Granja Canaima, ubicada en el sector El Derrote en la margen derecha del caño “El Derrote”, parroquia Luis de Vicente, municipio Mara del estado Zulia. Siguiendo un procedimiento de aleatorización se seleccionaron ocho (8) plantas sembradas a una distancia de 7x7 correspondiente a un área de 147 m². Se realizaron un total de tres repeticiones.

Los insecticidas se aplicaron conforme a lo establecido por el fabricante en cuanto a dosis y tomando las previsiones de rigor establecidas por las normas COVENIN (5). Las dosis utilizadas fueron: 2 L/ha de Malathion 57, equivalente a 114 g de ingrediente activo/ha y 1,5 L/ha para Pirinet (Chlorpiriyphos), correspondiente a 68,7 g de compuesto activo/ha. Se aplicó una dilución de 400 L/ha y en función del área efectiva del ensayo se aplicaron 8 litros de mezcla, que contenían 0,030 L de Malathion y 0,020 L de Chlorpiriyphos.

Una hora después de la aplicación de las formulaciones comerciales se tomaron muestras de guayaba colectándose de 2 a 3 frutas por planta lo que equivale a aproximadamente 2 kg de guayabas cosechadas en ocho (8) plantas. Estas muestras correspondieron al día cero (0). Posteriormente, se tomaron muestras inter diarias los días: uno, tres, cinco, siete, nueve, once, trece y quince, para un total de nueve

muestreos. Previo a la aplicación se tomó una muestra blanco para verificar que no existían residuos de insecticidas en las frutas. Las muestras se recolectaron en bolsas de polietileno de color negro, limpias y secas, se etiquetaron y se trasladaron al laboratorio para su análisis cromatográfico. Es importante señalar que durante el periodo evaluado no se registraron precipitaciones en la unidad de estudio.

Se emplearon estándares de insecticidas de alta pureza (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Alemania), malathion (98,5%) y clorpiriyfos (99,2%), para preparar soluciones madre de 1000 µg/ml de cada plaguicida en acetato de etilo, grado HPLC (J.T. Baker), a partir de las cuales se prepararon por dilución soluciones de calibración en acetato de etilo grado HPLC (J.T. Baker) y soluciones de salpicado en metanol (J.T. Baker) grado HPLC. La acetona empleada como solvente de extracción fue grado HPLC (J.T. Baker), el sulfato de sodio anhidro y el trifenil fosfato (99% de pureza) usado como estándar interno, fue grado análisis (Riedel de Hæn).

Las determinaciones cromatográficas se realizaron en un cromatógrafo de gas, Auto System (Perkin-Elmer), equipado con un detector nitrógeno-fósforo, un muestreador automático (Perkin-Elmer), una columna capilar de 30 m x 0,53 mm ID x 1,2 µm de espesor de película de 5% fenil metil silicona

(ALLTECH). El registro de los cromatogramas y la integración de las áreas de los picos se realizó con un computador personal, equipado con un software (Turbochrom Navigator 4, Perkin Elmer). El inyector y el detector se operaron a 250 y 280°C, respectivamente. Las muestras se inyectaron en el modo splitless. El programa de temperatura del horno fue: 60°C por 0,80 min, rampa 1: 40°C/min hasta 160°C, rampa 2: 3,5°C/min hasta 230°C, rampa 3: 8°C/min hasta 280°C, sostenido por 1 min. Se empleó helio como gas de arrastre, a 10 mL/min e hidrógeno y aire como gases del detector a 1,70 y 100 mL/min, respectivamente, todos de alta pureza (AGA de Venezuela). El umbral de trabajo del detector fue 1,0 mV. La cuantificación se realizó por el método del estándar interno.

La extracción de los insecticidas organofosforados se realizó inicialmente según el procedimiento de extracción descrito por Molero *et al.* (17) para muestras de tomate, con dos modificaciones. Se homogeneizaron 100 g de muestra de guayaba en un mezclador eléctrico. Se pesaron sub muestras de 4 gramos, se adicionaron 10 mL de acetato de etilo/acetona (90:10), 2 gramos de sulfato de sodio anhidro grado analítico y 0,2 gramos de cloruro de sodio grado analítico, se agitó la mezcla por 10 minutos y posteriormente se centrifugó a 2000 rpm durante 4 minutos. De la capa superior del extracto se separaron 2 mL del extracto y se transfirieron a un vial. Se adicionó el estándar interno (TPP)

y se inyectó por duplicado 1 µL en el cromatógrafo de gases.

La eficiencia de la técnica de extracción se determinó calculando los porcentajes de recuperación. Para ello muestras de guayaba blanco, se salpicaron con una solución metanólica de los 2 insecticidas organofosforados a concentraciones entre 0,2 y 8,0 µg/mL y se sometieron al procedimiento de extracción, antes descrito.

El límite de detección se calculó según el criterio EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos): $Y - YB = 3SB$ (16). Donde Y, es la señal del instrumento significativamente diferente a la señal del blanco o señal de fondo, YB, es la señal del blanco y SB, es la desviación estándar del blanco. Para el cálculo estadístico del límite de detección de malathion y chlorpiryphos se prepararon soluciones patrón a concentraciones entre 0,010 y 0,040 µg/mL, las cuales se inyectaron por triplicado en el cromatógrafo de gases.

Se calcularon los tiempos de vida media ($t_{1/2}$) de las concentraciones de malathion y clorpiryphos empleando la siguiente expresión (2):

$$t_{1/2} = \frac{\ln(1/2)}{K}$$

El tiempo de vida media es el tiempo en el cual la concentración del insecticida es igual a la mitad de la concentración inicial. El valor de K se obtiene de la curva de degradación de primer orden, K es la pendiente de la recta.

Resultados y discusión

El estudio de recuperación de los dos insecticidas en estudio en muestras de guayaba (*Psidium guajava*), mostró una eficiencia entre 81,5 y 90,50%, para los niveles de concentración evaluados, con desviaciones estándar de 8,23 y 5,83 y coeficientes de variación promedios de 10,09 y 6,44%. Estos resultados indican una aceptable precisión de la extracción empleando la mezcla acetato de etilo/acetona (90:10) y cromatografía de gas, resultando eficiente para el análisis de los dos insecticidas organofosforados en estudio, lo que permitiría procesar un gran número de muestras simultáneamente, con cortos tiempos de análisis (aproximadamente 50 minutos para cuatro muestras), y

permitir su aplicación en laboratorios de control de calidad de frutas y sus derivados, que se comercializan tanto nacional como internacionalmente. La figura 1 muestra un cromatograma típico de un extracto de guayaba (*Psidium guajava*) salpicado con malathion y chlorpiryphos a niveles entre 0,05 y 2,0 mg/g.

Persistencia de Malathion

La concentración promedio de residuos de malathion en guayaba el día cero, una hora después de la aplicación fue de $0,41 \pm 0,28$ mg/kg. El día 1 se observó una rápida disminución de la concentración de los residuos de malathion hasta $0,04 \pm 0,02$ mg/kg (figura 2). Este comportamiento puede deberse a que malathion es un plaguicida de

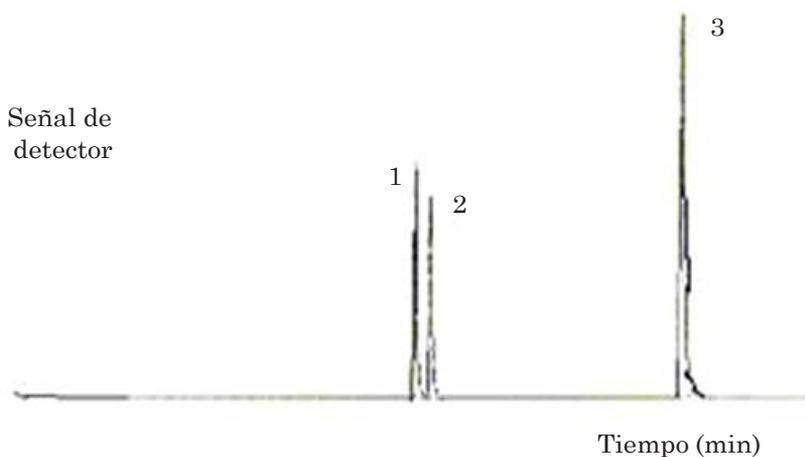


Figura 1. Cromatograma típico de la determinación de los insecticidas organofosforados de un extracto de guayaba (*Psidium guajava*). (1) Malathion, tiempo de retención 18,385 min. (2) Chlorpiryfos, tiempo de retención 19,531 min. (3) Trifenilfosfato, tiempo de retención 28,182 min (Estándar Interno).

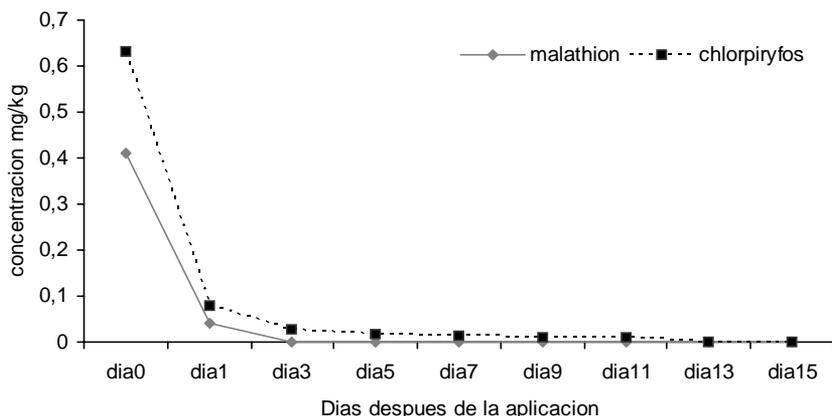


Figura 2. Tendencia en la disminución de la concentración de residuos de Malathion y Chlorpiryphos en Guayaba.

contacto que se disipa muy rápidamente debido quizás, a su volatilización (13). El día 3 no se detectaron residuos de malathion. Resultados similares se obtuvieron para malathion en estudios de persistencia realizados en tomates cultivados en granja y en mosto y vino de uvas (7, 19).

La velocidad de disipación de malathion en guayaba siguió una cinética de primer orden (figura 3) y un tiempo de vida media de 0,29 días. La ecuación de regresión lineal para la dosis aplicada fue: $Y = 0,8916 - 2,3273t$, con un $R^2 = 1,000$, con una probabilidad de significancia estadística $P \leq 0,01$.

Cuando se comparan las concentraciones de malathion registradas entre el momento de la aplicación (día 0) y el día 1, se puede observar que el valor correspondiente al día cero, (0,41 mg/kg) está por debajo del LMRs para guayaba el cual es de 0,5 mg/kg y por encima de la

ingestión diaria admisible (IDA) que corresponde a 0,02 mg/kg. Por su parte los residuos encontrados el día 1 se mantienen por encima del IDA. Para el día 3 no se registraron residuos de malathion por encima del límite de detección del método (0.0165 mg/kg) lo cual permite deducir que a partir de este momento la fruta contiene valores de este plaguicida por debajo de los valores críticos establecidos en el Codex Alimentarius y por lo tanto no representa peligro alguno para los consumidores. (6)

Persistencia de Chlorpiryphos.

La concentración promedio de Chlorpiryphos el día cero, una hora después de la aplicación fue de 0.63 ± 0.40 mg/kg, observándose un fuerte descenso de la concentración a 0.081 ± 0.052 mg/kg el día 1, correspondiendo a un 87% de disipación con relación a la concentración del día cero. A partir del día 3 las concentraciones siguieron disminuyendo, registrando una concentración de

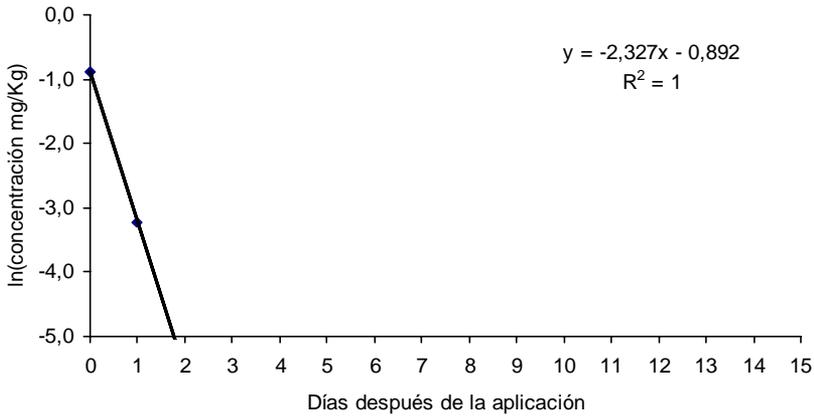


Figura 3. Demostración de la cinética de primer orden en la degradación de Malathion en Guayaba.

0,027 \pm 0,012 mg/kg, que corresponden a un 96% de disipación con respecto a la concentración inicial. La disipación del producto continuó en forma gradual durante los días 5, 7 y 9 donde se registraron concentraciones de 0,016, 0,015 y 0,012 mg/kg, correspondiente a una reducción en la concentración del producto en la fruta de 97,46, 97,61 y 98,0%.

El día 11 se registró una concentración promedio de residuos de 0,011 \pm 0,001 mg/kg equivalente a un porcentaje de disipación del producto de 98,25%. Para los días subsiguientes trece y quince no se detectaron residuos del producto en las muestras de fruto analizadas. (figura 2).

Es importante señalar que la velocidad de disipación de los insecticidas varía de acuerdo a varios factores entre los cuales destacan: humedad, aire, luz, temperatura,

volatilización, lavado, modo de acción del insecticida en la planta (sistémico o de contacto) y la actividad metabólica propia de la planta (18, 20). Chlorpiryphos se clasifica como un insecticida de contacto, pero presenta un ligero poder de penetración en el tejido sin llegar a traslocarse en el interior de la planta (9, 14). Por lo que es probable que esta sea la razón por la cual persiste bajo las condiciones del estudio durante 13 días y no logra disiparse en fruto de guayaba en el período de tiempo al que se disipan otros insecticidas organofosforados de contacto como es el caso de malathion y parathion (7, 17). Este comportamiento se justifica ya que los insecticidas sistémicos al penetrar el fruto, sufren en menor magnitud los efectos degradativos del ambiente que rodea las plantas, de allí que persistan durante mayor tiempo.

La velocidad de disipación de chlorpiryphos en guayaba siguió una

cinética de primer orden (figura 4) con un tiempo de vida media de 2,32 días. La ecuación de regresión lineal para la dosis aplicada fue: $Y = -1,8702 - 0,2981t$, con un $R^2 = 0,6979$ y con una probabilidad de significancia estadística $P \leq 0,01$.

Al comparar las concentraciones de chlorpiryphos registradas desde el momento de la aplicación (día 0) hasta el día 11, se puede observar que todas las concentraciones registradas están por encima del IDA establecido como nivel crítico por el Codex Alimentarius para las frutas de guayaba (0,010 mg/kg). Al comparar las concentraciones promedio de los residuos del insecticida con el LMRs establecido en 0,5 mg/kg se puede observar que a partir del día 3 (0,027 mg/kg), los residuos se encontraron por debajo del límite crítico establecido, es decir que de acuerdo a estos resultados a partir del día 3 estas frutas pueden ser comercializadas, según se interpreta de lo expresado en el Codex

Alimentarius (6).

El análisis de los resultados obtenidos para la vida media de los insecticidas en guayaba, muestra que el plaguicida chlorpiryphos se comportó como un insecticida sistémico por lo que persistió durante mayor tiempo que el insecticida de contacto malathion. La prueba de Tukey, aplicada a las concentraciones medias de los dos insecticidas medidos en guayaba, mostró diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

Residuos de Insecticidas y Calidad de los Frutos de Guayaba

En función de los resultados obtenidos y tomando en cuenta que la calidad de los alimentos y en este caso el de los frutos de guayaba puede verse afectado por agentes externos que en algunos casos pueden causar diferentes patologías en los consumidores dependiendo de la concentración y la frecuencia con que se consuma (12) y luego de comparar los resultados obtenidos con los LMRs establecidos por el Codex Alimentarius, se puede inferir

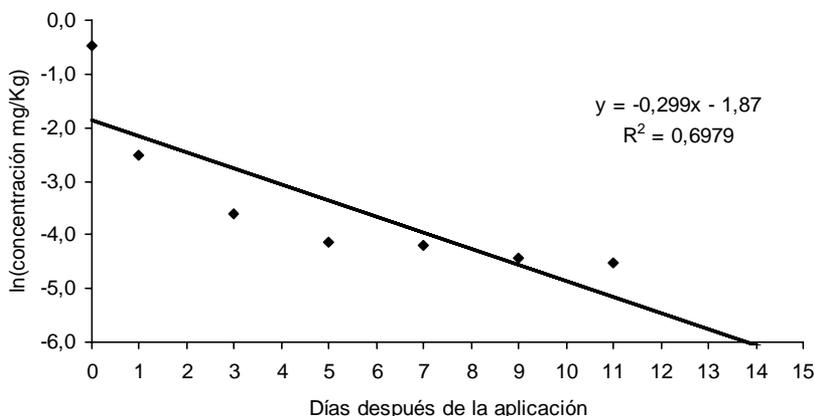


Figura 4. Demostración de la cinética de primer orden en la degradación de Chlorpiryphos en Guayaba.

que la calidad de la guayaba se ve afectada por agentes externos que la contaminan, en este caso residuos de chlorpiryphos permanecen once días después de la aplicación, siendo la fase crítica los tres primeros días, ya que los niveles del plaguicida están por encima del LMRs (0,5 mg/kg). Sin embargo, hasta el día 11, se registran valores por encima del IDA (0,01 mg/kg).

En el caso de malathion, para el

día 1 los niveles residuales obtenidos (0,04 mg/kg) están por debajo del LMRs (0,5 mg/kg). Después del segundo día, bajo las condiciones de estudio, no deben presentarse situaciones de riesgo al consumir frutos que fueron tratados con malathion y por lo tanto la calidad del fruto desde el punto de vista de residuos de insecticidas, no está afectada a partir de este momento.

Conclusiones

La disipación de los dos insecticidas estudiados, medidos en guayaba (*Psidium guajava*) siguió una cinética de primer orden. Para una sola aplicación de los insecticidas sobre las plantas, el tiempo de vida media fue de 0,29 días para malathion y 2,35 días para chlorpiryphos.

Al comparar las concentraciones de los insecticidas con el LMRs

establecido en el Codex Alimentarius bajo las condiciones de estudio, después del tercer día, ninguno de los insecticidas afecta la calidad del fruto ya que malathion se disipa por completo y los niveles residuales de chlorpiryphos están por debajo del LMRs, por lo tanto la ingesta de estas frutas no debe constituir un riesgo para el consumidor.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento al CONDES-LUZ y

FONACIT por el cofinanciamiento No. (0212-99).

Literatura citada

1. Adnan, I, Al Samarice, Kloud A. M. Shaker y Mabriouk A. Al-Bassomy 1988. Residue level of three organophosphorus insecticides in sweet pepper grow in commercial greenhouses. *Pestic. Sci* 22:189-194.
2. Antonious, G. y Snyder, J. 1994. Residues and half-lives of Acephate, Methamidophos and Pirimiphos-Methyl in leaves and fruit of greenhouse-grown tomatoes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52: 189-194.
3. Bicchi, C., D'Amato, A. y C. Balbo. 1997. Multiresidue method for quantitative Gas Chromatographic determination of pesticide residues in Sweet Cherries. *J. of AOAC Int.* 80 (6):1281-1286.
4. Centro de Comercio Internacional. UNCTAD/GATT.1995. Control de calidad en la Industria Alimentaria. Manual de Introducción. Ginebra.

5. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1992. Residuos de plaguicidas en Alimentos. Definiciones y Terminología. Caracas, Venezuela.
6. FAO/OMS. CODEXALIMENTARIUS.1993. Residuos de Plaguicidas en Alimentos. Programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Vol 2.
7. Ettiene, G., A. Prieto, D. Medina, I. Buscema, L. Sandoval, y L. Hunda. 1996. Residuos de Insecticidas Organofosforados en Mosto y Vino de Uvas. Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia. 20 (3): 223-230.
8. Fillion, J., F. Sauvé, y J. Selwyn. 2000. Multiresidue Method for the Determination of Residues of 251 Pesticides in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. J. of AOAC Int. 83 (3): 698-713.
9. International Group of National Associations of Manufacturers of Agrochemical Products. (GIFAP). 1988. Normas para el empleo seguro y eficaz de los insecticidas. Bélgica.
10. International Regulatory Aspects for Pesticide Chemicals. 1981. Toxicity profiles CRC Press Inc Florida, 2nd edición.
11. Juran , J. M. y Gryma, F. M. 1997. Manual de control de calidad. Vol 1, 4^a edición. Mc Graw Hill. México.
12. La Dou, J. 1995. Medicina Laboral. Manual Moderno. México, D.F.
13. Liapis, K. G. Milladis, y P. Aplada-Sarlis. 1994. Persistence of Monocrotophos residues in green house tomatoes. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53: 303-308.
14. Martínez, I. 1974. Toxicología Ambiental de los Insecticidas. Facultad de Agronomía La Universidad del Zulia. Trabajo de Ascenso.
15. Medina, D., A. Prieto, G. Ettiene, I. Buscema, A. Abreu de V. 1999. Persistence of organophosphorus pesticide residues in Limón River waters. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63:39-44.
16. Miller, J.C. y J.N. Miller. 1993. Estadística para Química Analítica. 2^{da} Edición. USA. Iberoamericana Addison-Wesley .
17. Molero D. 1996. Evaluación de residuos de plaguicidas organofosforados en tomates. Trabajo de grado para optar al título de Magíster Scientarium en Ciencias del Ambiente. Facultad de Ingeniería La Universidad del Zulia.
18. Palenzuela, J.1990. Efectos de plaguicidas en la fisiología de frutas y hortalizas. Editorial. Limusa. México.
19. Prieto, A., D. Molero, G. González, I. Buscema, G. Ettiene, y D. Medina. 2002. Persistence of methamidophos , diazinon and malathion in tomatoes. Bull. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 69:479- 485.
20. Primo, Y. y D. Carrasco. 1977. Química Agrícola II, Plaguicidas y Fitorreguladores. Editorial Alhambra, S.A. Primera edición. Capítulos 1 y 4. España.