



CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, 26 de noviembre 2015

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Luis Fernando Perdomo Cedeño, con C.C. No. 1004491912,

_____, con C.C. No. _____,

_____, con C.C. No. _____,

_____, con C.C. No. _____,

Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado o _____

Titulado: Determinación por cromatografía de gases acoplado a masas de residuos de algunos plaguicidas en lulo (*solanum quitoense*) cultivado en el corregimiento de zuluaga municipio de Garzón (Huila).

Presentado y aprobado en el año 2015 como requisito para optar al título de Licenciado en ciencias naturales: física, química y biología;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.

• Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.



| | | | | | | | |
|--------|--------------|---------|---|----------|------|--------|--------|
| CÓDIGO | AP-BIB-FO-06 | VERSIÓN | 1 | VIGENCIA | 2014 | PÁGINA | 2 de 2 |
|--------|--------------|---------|---|----------|------|--------|--------|

• Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____



GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS

DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO



CÓDIGO

AP-BIB-FO-07

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 3

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Determinación por cromatografía de gases acoplado a masas de algunos plaguicidas organoclorados en lulo (*solanum quitoense*) en el corregimiento de zuluaga municipio de Garzón (H)

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido

Primero y Segundo Nombre

Perdomo Cedeño

Luis Fernando

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido

Primero y Segundo Nombre

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido

Primero y Segundo Nombre

Narvaez zamora

Luis Javier

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: LICENCIADO EN CIENCIAS NATURALES: FÍSICA, QUÍMICA Y BIOLOGÍA

FACULTAD: EDUCACIÓN

PROGRAMA O POSGRADO: LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES: FISICA, QUIMICA Y BIOLOGIA

CIUDAD: NEIVA (H)

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2015 **NÚMERO DE PÁGINAS:** 68

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):



GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS

DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO



CÓDIGO

AP-BIB-FO-07

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 3

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general X Grabados ___
 Láminas ___ Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin ilustraciones ___ Tablas
 o Cuadros X

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

| <u>Español</u> | <u>Inglés</u> | <u>Español</u> | <u>Inglés</u> |
|---------------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|
| 1. <u>cromatografía</u> | <u>chromatography</u> | 6. <u>Membrana</u> | <u>membrane</u> |
| 2. <u>espectrometría</u> | <u>spectrometry</u> | 7. <u>Plaguicidas</u> | <u>pesticides</u> |
| 3. <u>gas</u> | <u>gas</u> | 8. _____ | _____ |
| 4. <u>microextracción</u> | <u>microextraction</u> | 9. _____ | _____ |
| 5. <u>análisis</u> | <u>analysis</u> | 10. _____ | _____ |

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Colombia, a pesar de ser un país rico en todos los pisos térmicos y contar con las mejores condiciones para el desarrollo de cualquier cultivo, el sector agrícola es uno de los más abandonados por parte del gobierno nacional. Esto ha hecho que los campesinos manejen algunos cultivos sin ningún tipo de control, sobretodo en el manejo de sustancias químicas para el control de diferentes organismos que los atacan, las cuales en exceso general residuos que se acumulan en el fruto, lo que afecta directamente la salud humana. Por lo anterior se hace necesario un análisis que permita verificar la presencia de estos residuos, esta determinación se realiza en la pulpa del lulo del corregimiento de Zuluaga municipio de Garzón (H) mediante una técnica de separación conocida como, cromatografía de gases acoplado a masas, utilizando un nuevo método de micro extracción del analito en fase líquida mediante una membrana hueca de polipropileno.



ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Colombia, despite being rich in all climatic zones and have the best conditions for the development of any crop, the agricultural sector is one of the most neglected by the national government. This has caused some crop farmers manage without any control, especially in the management of chemicals for the control of different organisms that attack, which generally excessive residues accumulate in the fruit, which directly affects the Human health. Therefore an analysis to verify the presence of these residues is necessary, this determination is made from the pulp of the lulo village of Zuluaga municipality of Garzón (H) by a separation technique known as gas chromatography coupled to mass , using a new method of analyte microextraction liquid phase through polypropylene hollow membrane.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado: JUAN MANUEL PEREA ESPITIA

Firma:

Nombre Jurado: LUZ MARINA BOTERO ROJAS

Firma:

Nombre Jurado: EDUARDO PASTRANA BONILLA

Firma:

**DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO A
MASAS DE RESIDUOS DE ALGUNOS PLAGUICIDAS
ORGANOCORADOS EN LULO (*SOLANUM QUITOENSE*)
CULTIVADO EN EL CORREGIMIENTO DE ZULUAGA MUNICIPIO DE
GARZON (HUILA).**

LUIS FERNANDO PERDOMO CEDEÑO

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE EDUCACIÓN
PROGRAMA DE LICENCIATURA EN CIENCIAS NATURALES: FÍSICA,
QUÍMICA Y BIOLOGÍA
2015**

**DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO A
MASAS DE RESIDUOS DE ALGUNOS PLAGUICIDAS
ORGANOCOLORADOS EN LULO (*SOLANUM QUITOENSE*)
CULTIVADO EN EL CORREGIMIENTO DE ZULUAGA MUNICIPIO DE
GARZON (HUILA).**

LUIS FERNANDO PERDOMO CEDEÑO

**Trabajo para optar al título de
Licenciadas en ciencias naturales: física, química y biología**

Asesor: M. E. E. Luis Javier Narvárez Zamora

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE EDUCACIÓN
PROGRAMA DE LICENCIATURA EN CENCIAS NATURALES: FISICA,
QUÍMICA Y BIOLOGÍA
2015**

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, Huila 26 de noviembre del 2015

DEDICATORIA

A toda mi familia en especial a mis padres Margery y Carmelo por su apoyo incondicional, amor y entrega. A mi hermana Catalina por su acompañamiento y lealtad. A mis tías Jaidy y Nancy por el respaldo dado durante mi proceso académico.

A Felipe por su compañía que fue fundamental en la culminación de este gran sueño.

A todos mis amigos quienes de uno u otra forma han contribuido de muchas formas para llegar hasta aquí: María P, Camila, Laura M, Ana, Paula, Tatiana, Lipza, Natalia, Juli, Estefany, Laura C, Adriana, Isabel, Katherine, Liliana, Fabio, Omar, Sebastián, Mauro, Edwar y Gonzalo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, la salud y la fuerza para vivir cada momento y lograr culminar este proceso.

A mis padres por su buena disposición y apoyo económico en este logro.

Al profesor Luis Javier Narváz Zamora por su entrega, tiempo y amabilidad durante la carrera y la investigación.

Al coordinador de la maestría en química de la Universidad de Caldas profesor Milton Rosero, por su disposición y buena voluntad para el desarrollo del proyecto, al grupo de estudiantes de la maestría, Laura Yate, John Fiscal y Wilson Largo por su ayuda desinteresada y colaboración que fue fundamental para la investigación.

A Dagoberto Navarrete y toda su familia por su humildad y por la ayuda desinteresada durante el muestreo en el corregimiento de Zuluaga, al igual que todos los propietarios de los cultivos por permitirme ingresar a sus terrenos.

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

RESUMEN

INTRODUCCION

| | |
|---|----|
| 1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 14 |
| 2 DESCRIPCION DEL PROYECTO..... | 14 |
| 2.1 pregunta de investigación..... | 14 |
| 3 OBJETIVOS DE INVESTIGACION..... | 15 |
| 3.1 General..... | 15 |
| 3.2 Específicos..... | 15 |
| 4 JUSTIFICACIÓN..... | 16 |
| 5 MARCO TEORICO..... | 17 |
| 5.1 plaguicidas..... | 17 |
| 5.1.1 organoclorados..... | 17 |
| 5.2 cromatografía de gases..... | 18 |
| 5.3 acoplamiento GC-MS..... | 20 |
| 5.4.membrana hueca..... | 22 |
| 5.5 Solanum Quitoense L..... | 24 |
| 5.6 residuos de plaguicidas en alimentos..... | 25 |
| 6 ANTECEDENTES..... | 27 |
| 7. METODOLOGIA..... | 30 |
| 8. RESULTADOS Y ANALISIS..... | 34 |
| 8.1 resultados y análisis de muestra general dopada..... | 34 |
| 8.2 resultados y análisis de reproducibilidad..... | 38 |
| 8.3 Análisis y resultados de los cromatogramas de las siete muestras..... | 42 |
| 9. CONCLUSIONES..... | 53 |
| 10 RECOMENDACIONES..... | 54 |
| 11. PRESUPUESTO..... | 55 |

| | |
|------------------------------------|----|
| 12. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES..... | 56 |
| 13. REFERENCIAS..... | 57 |
| 14. ANEXOS | 59 |

LISTADO DE TABLAS

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1. Generalidades del Solanum Quitoense L..... | 24 |
| Tabla 2. Contenido nutricional Solanum Quitoense L..... | 25 |
| Tabla 3. Condiciones agroecológicas Solanum Quitoense L..... | 25 |
| Tabla 4. Taxonomía Solanum Quitoense L..... | 26 |
| Tabla 5. Cantidad de plantas de lulo sembradas por cultivo..... | 30 |
| Tabla 6. Condiciones de micro extracción según la técnica | 31 |
| Tabla 7. Condiciones cromatográficas según la técnica..... | 31 |
| Tabla 8. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra general dopada | 35 |
| Tabla 9. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 1..... | 43 |
| Tabla 10. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 2..... | 44 |
| Tabla 11. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 3..... | 45 |
| Tabla 12. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 4..... | 46 |
| Tabla 13. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 5..... | 47 |
| Tabla 14. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 6..... | 48 |
| Tabla 15. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 7..... | 49 |
| Tabla 16. Límite máximo de residuos de plaguicidas permitidos en alimentos..... | 68 |

LISTADO DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 1. Esquema de un cromatógrafo de gases..... | 19 |
| Figura 2 .curvas AERT para tres gases portadores de uso habitual..... | 20 |
| Figura 3. Principio de funcionamiento de separación mediante membrana líquida..... | 23 |
| Figura 4 cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas de la universidad de caldas..... | 33 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio a una concentración de 1 ppm..... | 34 |
| Gráfico 2. Espectro de masas del pico 2 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a ciclo hexano hexacloro..... | 36 |
| Gráfico 3. Espectro de masas del pico 6 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a spiro..... | 36 |
| Gráfico 4. Espectro de masas del pico 9 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a Dieldrin..... | 36 |
| Gráfico 5. Espectro de masas del pico 11 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a ciclo hexano hexacloro..... | 37 |
| Gráfico 6. Espectro de masas del pico 2 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a 1-ciclohexano-2,2-bis (p-clorofenil) etano..... | 37 |
| Gráfico 7. Espectro de masas del pico 2 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a DDT..... | 37 |
| Gráfico 8. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 1 | 38 |
| Gráfico 9. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 2. | 39 |
| Gráfico 10. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 3..... | 39 |
| Gráfico 11. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 4 | 40 |
| Gráfico 12. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 5..... | 40 |

| | |
|--|----|
| Gráfico 13. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 6 | 41 |
| Gráfico 14. Análisis de reproducibilidad de los 3 cromatogramas de la muestra número 7 | 41 |
| Gráfico 15. Cromatograma cultivo número 1..... | 43 |
| Gráfico 16. Cromatograma cultivo número 2..... | 44 |
| Gráfico 17. Cromatograma cultivo número 3..... | 45 |
| Gráfico 18. Cromatograma cultivo número 4..... | 46 |
| Gráfico 19. Cromatograma cultivo número 5..... | 47 |
| Gráfico 20. Cromatograma cultivo número 6..... | 48 |
| Gráfico 21. Cromatograma cultivo número 7..... | 49 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo A. cultivo número 1, Libardo Cabrera. 1200 plantas de lulo. | 59 |
| Anexo B. cultivo número 2, Robín Moreno. 6500 plantas de lulo..... | 60 |
| Anexo C. cultivo número 3, Robín Moreno. 6800 plantas de lulo..... | 61 |
| Anexo D. cultivo número 4, Edilberto Wilombo. 500 plantas de lulo..... | 62 |
| Anexo E. cultivo número 5, Dagoberto Navarrete. 1700 plantas de lulo..... | 63 |
| Anexo F. cultivo número 6, Ronald Carbayo. 1000 plantas de lulo..... | 64 |
| Anexo G. cultivo número 7, Ronald Carbayo. 1300 plantas de lulo..... | 65 |
| Anexo H. Grupo de investigación en cromatografía de gases y líquida, maestría en química, universidad de Caldas..... | 66 |
| Anexo I. resolución 1142..... | 66 |

RESUMEN

En Colombia, a pesar de tener una economía basada principalmente en la agricultura, se puede ver que es uno de los sectores más desprotegidos y con menos atención por parte del gobierno nacional. Entre las muchas problemáticas que se presentan se encuentra el uso equivocado que se le da a los diferentes cultivos por falta de programas que eduquen al cultivador al aplicar ciertas sustancias. Además el monitoreo y control de los efectos de este tipo de sustancias no es un tema que tenga mucha atención en la actualidad.

Por lo anterior se desarrolló un análisis en el cual se determinaron los niveles de residuos de plaguicidas organoclorados en lulo, en el corregimiento de Zuluaga, municipio de Garzón Huila. Con el fin de detectar la presencia de este tipo de plaguicidas, su concentración, y en caso de que las dos variables anteriores sean detectadas, verificar que no superen el límite máximo de residuos en frutas establecido para Colombia, tomando como referencia los estudios y límites planteados por el CODEX ALIMENTARIUS.

Este trabajo de investigación se desarrolló utilizando una técnica de separación llamada cromatografía de gases, con un detector de espectrometría de masas. El muestreo se realiza en los principales 7 cultivos del corregimiento, donde se hizo un muestro aleatorio por cuadrantes de acuerdo a la cantidad de plantas de lulo sembradas. En la fase experimental de laboratorio se utiliza una técnica bastante innovadora de micro extracción llamada micro extracción en fase líquida, en la cual se utilizó una membrana hueca hidrofóbica de polipropileno para concentrar mejor la muestra y garantizar que se tome bien el analito. En dicha determinación se observó que no hay presencia de ningún plaguicida del orden de organoclorados en ninguno de los 7 cultivos muestreados, teniendo 11 estándares en el laboratorio, los cuales son los más comunes de uso agrícola.

Esta investigación no solo provee el respaldo para los cultivadores por garantizar la calidad del producto que ofrecen, sino que abre nuevas opciones para hacer nuevos análisis, ya sea de nuevos análisis para determinar organofosforados, organonitrados u otros tipos de plaguicidas o analizar el por qué no quedan residuos en la planta después de estar expuesta a constantes y fuertes fumigaciones.

La presente investigación amplía la aplicación de conocimientos en química para desarrollar a problemáticas locales, regionales, nacionales e incluso mundiales, además de incentivar el uso de nuevas técnicas en análisis cromatográficos.

INTRODUCCIÓN

Un país mega diverso como Colombia donde existe un sinnúmero de especies animales y vegetales, cuenta con todos los pisos térmicos para el desarrollo de básicamente cualquier cultivo agrícola. Esta característica nos ha convertido en potencia agrícola por variedad, calidad y cantidad. Sin embargo, innumerables organismos vivos afectan directamente los cultivos, ocasionando la reducción de la calidad del alimento o su pérdida total; para esto se hace necesaria la aplicación de una serie de sustancias sintéticas llamadas plaguicidas, para garantizar la supervivencia de las plantas del cultivo; lo que ha llevado a que el cultivador haga un uso indiscriminado para el control de estos organismo

En el afán por generar grandes producciones de determinado alimento, el cultivador no toma medidas de precaución en las concentraciones que suministra a sus cultivos, lo que produce cosechas de alimentos contaminadas con residuos de plaguicidas, que afectan de muchas formas la salud de la población. El gobierno nacional a través del ministerio de agricultura ha generado diferentes espacios donde se le permite al cultivador adquirir los conocimientos necesarios respecto al manejo de sus cultivos, en la medida en que la cobertura nacional no esté completamente garantizada, se requieren estudios donde se verifiquen y monitoreen la calidad de los alimentos que se producen en nuestro suelo.

La presente investigación provee un aporte sumamente importante en esta problemática, ya que al ser una investigación de tipo experimental con un enfoque cualitativo y cuantitativo, donde se realizará un análisis de residuos de plaguicidas en lulo en los siete principales cultivos del corregimiento Zuluaga en el municipio de Garzón (H), por una técnica bastante convencional de separación llamada cromatografía de gases, acoplado a un detector de espectrometría de masas; lo que nos arrojará un resultado confiable en cuanto a la presencia de las moléculas de los organoclorados presentes (enfoque cualitativo) y la concentración de estas (enfoque cuantitativo). Además se experimenta un nuevo tipo de micro extracción para la introducción de muestras en el cromatógrafo, técnica que es impulsada por la química verde, ya que involucra el uso a nivel micro en solventes.

Al final del análisis se espera verificar la calidad del fruto, es decir la correcta administración de los diferentes plaguicidas aplicados a los cultivos, se toman las medidas necesarias para garantizar la calidad de la muestras a transportar al laboratorio.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso incorrecto de la cantidad de plaguicidas que son aplicados a los cultivos, en especial el lulo que requiere muchos de estos, generalmente se presenta por una sobredosificación en el manejo de diferente herbicidas, fungicidas, insecticidas, entre otros; lo que produce una acumulación de residuos de estos en los frutos de la planta, que es lo que consume e ser humano y con el tiempo genera una serie de afecciones a la salud. Sin contar que el daño al suelo y por fenómenos naturales a cuerpos de agua y animales es considerable. Para determinar la presencia y concentración de estos residuos de plaguicidas, se realiza un análisis que permitirá dar una idea sobre el buen uso de estas sustancias para el control de plagas, para que en caso de ser positivo el resultado, los entes de control respectivo tomen medidas al respecto, ya que es la salud humana, y la conservación de algunos ecosistemas la que está en juego.

2. DESCRIPCIÓN DE PROYECTO

La intencionalidad ulterior de esta propuesta investigativa debe responder a la siguiente pregunta:

2.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Hay presencia de residuos de pesticidas en la pulpa de lulo cultivado en el corregimiento de Zuluaga en municipio de Garzón (Huila)?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la presencia de residuos de plaguicidas organoclorados presentes en la pulpa de lulo del corregimiento Zuluaga del municipio Garzón –Huila por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar los plaguicidas presentes en la pulpa de lulo.
- Cuantificar la concentración de residuos de plaguicidas en lulo del corregimiento Zuluaga del municipio Garzón -Huila
- Determinar que la concentración de residuos de plaguicidas en la pulpa de lulo del corregimiento Zuluaga del municipio Garzón –Huila
- Verificar que los proyectos del ministerio de agricultura como las buenas prácticas agrícolas (BPA), se estén desarrollando de manera apropiada para alcanzar los mejores estándares de calidad.

4. JUSTIFICACIÓN

El departamento del Huila es pionero en producción de frutas a nivel nacional, al punto de convertirse en despensa agrícola en lulo y granadilla que se surte en las centrales de abastos del país. El departamento administrativo nacional de estadística (DANE) dio un informe donde el 20 por ciento de productos agrícolas cultivados en el departamento que llegan a las principales plazas de mercado a nivel nacional son frutas como lulo que se cosechan en municipios como Garzón y Pitalito. Tal como lo dice: (LA NACION, febrero 18 del 2014), además; el consumo de frutas y verduras es primordial para mantener una dieta saludable, la cual tiene innumerables beneficios, entre ellos la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Además; (fomento de consumo mundial de frutas y verduras, OMS). Considerando lo anterior, se desea verificar que la producción de dicha fruta cumpla con los mejores estándares de calidad para el consumo humano, ya que en especies de frutas como el lulo (*Solanum quitoense*), son constantemente afectadas por diferentes organismos como: virus, bacterias, hongos e insectos que atacan todas las partes de la planta (raíz, tallo, hoja, flor y fruto), por esto se convierte en una de las especies frutales que está más expuesta a la aplicación de una gran variedad de plaguicidas; sin embargo, el manejo equivocado de los productos para el control de estos organismos que afectan la planta, puede generar una concentración de estos residuos en los frutos a nivel de trazas que afectan la salud humana, gracias a estudios realizados se ha demostrado que intoxicaciones crónicas y exposiciones a ciertas concentraciones de residuos de los plaguicidas, se asocian con algunas enfermedades respiratorias, trastornos de memoria, enfermedades en la piel, depresión, abortos, defectos de nacimiento, cáncer y enfermedades neurológicas tales como la enfermedad de Parkinson. (Riesgos a la Salud por Pesticidas en los Alimentos, center of ecogenetics and environmental health), también la exposición a los plaguicidas que son utilizados en la producción agrícola para la alimentación son suficientes para afectar a la espermatogénesis en el hombre (EL TIEMPO, mayo 2015). Se plantea la determinación de residuos de plaguicidas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS ya que provee un resultado confiable en la identificación y cuantificación de los residuos; otorgando un grado alto de confianza para la presencia o ausencia de los mismos, fortaleciendo los datos que se tienen para el consumo apto del lulo tanto nacional como aquel que se exporta; además de verificar los buenos resultados de los programas del gobierno en buenas prácticas agrícolas (BPA), que se encarga del correcto manejo de sustancias aplicadas en los cultivos.

5. MARCO TEÓRICO

A continuación se definen algunos conceptos básicos en la presentación del trabajo investigativo; se hace énfasis en los plaguicidas, su efecto en el consumo humano, los límites permisibles legalmente y las técnicas de extracción, análisis y cuantificación utilizadas con estas sustancias.

5.1 PLAGUICIDAS

La mayor parte de estas sustancias son sintéticas, porque se elaboran a partir de estructuras moleculares conocidas y sobre ellas se realizan modificaciones a nivel de laboratorio para conseguir potenciarlas en su efecto tóxico tanto a plantas como a animales. Los plaguicidas se utilizan para controlar organismos que afectan la vida de una plantación o un cultivo. Hay una clasificación establecida para los plaguicidas de acuerdo a su espectro de acción para combatir diferentes organismos que afectan determinada planta. Así, los insecticidas actúan sobre los insectos, los acaricidas los ácaros, los fungicidas los hongos, los herbicidas las malezas, los rodenticidas los roedores, los nemátocidas los nematodos, y los molusquicidas los moluscos. La categoría de los insecticidas es la más estudiada y desarrollada del último milenio, a partir de 1940 y durante la segunda guerra mundial se inició la síntesis de compuestos químicos, los principales insecticidas elaborados fueron: compuestos de arsénico, aceite de petróleo, nicotina y sulfuro, entre otros compuestos orgánicos sintetizados, el principal el DDT (dicloro difenil tricloroetano), Según su composición los insecticidas se clasifican según su composición química Así: organoclorados, organofosforados, organosulfurosos, carbamáticos y los denominados naturales. Tal como lo plantea, Campos, 2000, pág. 167.

5.1.1 ORGANOCLORADOS

Los plaguicidas organoclorados están compuestos por carbono, cloro e hidrógeno; El más conocido dentro de los insecticidas de este grupo es el denominado DDT; el cual fue restringido por la Environmental Protection Agency (EPA), de los Estados Unidos el primero de enero de 1973; es uno de los más efectivos, ya que es eficaz en el control de moscas y mosquitos, por tanto se empleó para controlar los vectores de enfermedades como la malaria. Fue el insecticida de mayor influencia en el último siglo en la agricultura y salud pública. A pesar del beneficio, en 1973, EPA lo consideró una amenaza para el medio ambiente, por su largo periodo de vida residual y su acumulación en la cadena alimenticia, ya que genera biomagnificación en los diferentes niveles tróficos. Gracias a su alta estabilidad

química, el DDT permanece en el suelo, cuerpos de agua, tejidos animales y plantas, durante largos periodos de tiempo. Además su insuficiente descomposición por efecto de microorganismos, enzimas, calor, o rayos ultravioletas; su poca solubilidad en agua, pero sí bastante soluble en tejido graso, donde se almacena en tejidos grasos, estructuras vegetales o animales donde no se metaboliza, sino que se biomagnifica a medida que cambia de nivel trófico, lo tal como lo plantea, Campos, 2000, pág. 16.

5.2 CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica analítica de separación que posee la capacidad de identificar muestras complejas, en la cual se ha desarrollado toda una instrumentación, que separando por elución y de manera continua produce una gran reproducibilidad de resultados. Dentro de las técnicas analíticas de separación, la cromatografía de gases es una de las más utilizadas ya que posee un nivel muy alto de sensibilidad y capacidad de separación en compuestos volátiles. Además es una ventaja que la separación se realice en fase gaseosa, donde permite establecer límites de utilización marcado principalmente por la estabilidad térmica de los compuestos a separar, sin embargo algunos compuestos cuyo peso molecular sea menos de 1000 en un rango de temperatura menos a 400 °C, la única limitación es la estabilidad térmica de la muestra. Tal como lo plantea, museo nacional de ciencias naturales, pdf, recuperado el 10 de junio del 2015, pág. 2

Para hacer una separación utilizando la técnica de cromatografía de gases, basta con inyectar una cantidad suficiente de la muestra a separar o identificar en una corriente de gas inerte a un nivel de temperatura elevado, dicha corriente pasa por una columna cromatografía en la cual los componentes de la mezcla se separan por un mecanismo de partición. Los componentes separados luego de salir de la columna, llegaran a un sistema de detección adecuado. Tal como lo plantea, museo nacional de ciencias naturales, pdf, recuperado el 10 de junio del 2015, pág. 2

Descripción del equipo

Un cromatógrafo de gases tiene los siguientes componentes (el esquema general de cromatógrafo de gases se muestra en la figura 1)

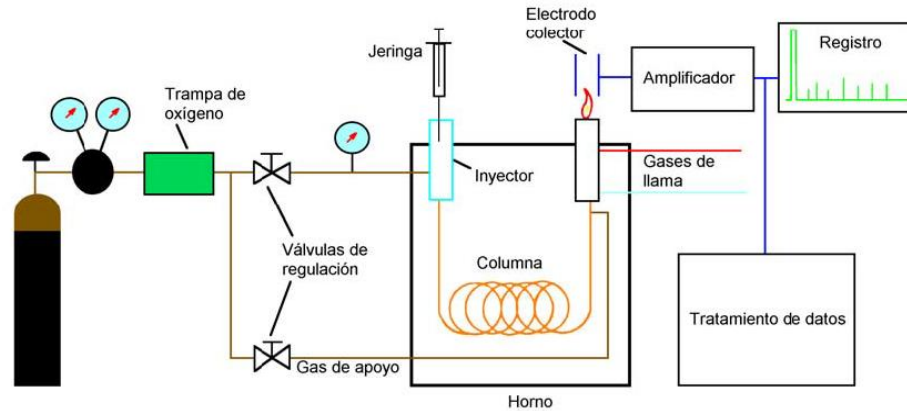


Figura 1. Esquema de un cromatógrafo de gases

Figura 1. Esquema de un cromatógrafo de gases (Museo nacional de ciencias naturales, recuperado el 10 junio del 2015, pág. 2: (www.mncn.com)¹

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases, son:

1. Fuente de gas
2. Sistema de inyección
3. Horno y columna cromatográfica
4. Sistema de detección
5. Sistema de registro (software y análisis de datos)

Los gases transportadores utilizados en el cromatógrafo no tienen ningún efecto negativo en la separación, ya que no influyen en los procesos de sorción- desorción o partición que ocurre en la columna, por lo cual su selectividad se mantiene estable. La naturaleza del gas portador tiene un nivel de dependencia, por lo que las curvas AEPT (figura 2) son distintas en cada uno de los gases, lo que influye directamente en la velocidad óptima de la fase móvil y por tanto en los tiempos de análisis.¹

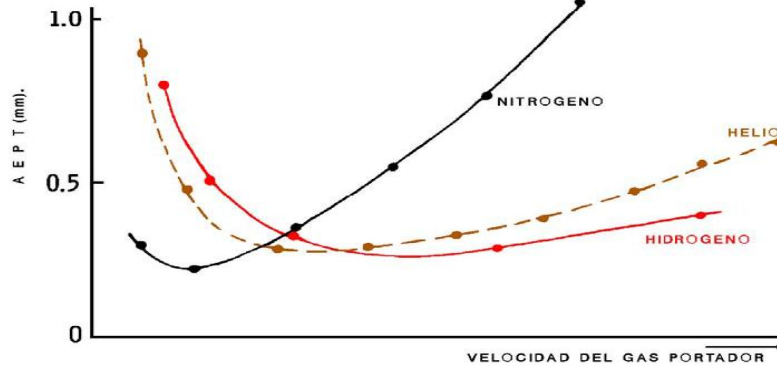


Figura 2. Curvas de AEPT para tres gases portadores de uso habitual

Figura 2. Curvas de AEPT para tres gases potadores de uso habitual (Museo nacional de ciencias naturales, recuperado el 10 junio del 2015, pág. 4: (www.mncn.com))

Ajeno al efecto que la naturaleza del gas portador puede llegar a desempeñar en la altura de plato, la selección de uno de los tipos de gases, estará determinada fundamentalmente por el sistema de detección que se utilice. Como fuentes de gas portador se acostumbra a utilizar cilindros de gas comprimido de alta pureza, con la capacidad de suministrar una presión de gas adecuada y constante; es de resaltar que, en muchos casos, es necesario eliminar las trazas de impurezas que pueda contener el gas (O_2 , H_2O fundamentalmente) que pueden afectar el sistema cromatográfico, por medio de filtros adecuados. El control de la velocidad del gas portador a través de la columna, se realiza por medio de válvulas que suministran un caudal constante (columnas empaquetadas) o que mantienen constante la presión en cabeza de columna (sistemas capilares)".¹

5.3 ACOPLAMIENTO CROMATOGRAFÍA DE GASES-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La cromatografía de gases tiene la capacidad de alcanzar la separación de mezclas o sustancias muy complejas, pero una vez separada, detectada, identificada incluso cuantificado uno a uno los compuestos de dicha muestra o

sustancia, el único dato que poseemos es el tiempo de retención de cada pico dentro del Cromatograma. Este dato puede volverse insuficiente para un resultado cien por ciento confiable, especialmente cuando los componentes de una muestra son muy numerosos como generalmente ocurre en cromatografía. Por otro lado, la espectrometría de masas ofrece la posibilidad de identificar indudablemente una sustancia pura, aunque generalmente no tiene la capacidad de separar los compuestos de la muestra con anterioridad, ya que el espectro tiene un nivel muy alto de complejidad por las superposiciones individuales de cada componente dentro de la muestra. Debido a estas deficiencias dentro de la técnica de cromatografía de gases y la espectrometría de masas, es necesaria una interacción o asociación entre las dos técnicas, cromatografía de gases y espectrometría de masas, la cual da la creación de una técnica combinada capaz de separar e identificar muestras muy complejas. Tal como lo plantea, M.C. Gutiérrez, M. Droguet. (2002) pág. 37

Sin embargo esta técnica binaria de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas precisa una serie de sistemas de conexión especiales. Inicialmente hablamos de dos técnicas que se desarrollan en fase gaseosa y emplean cantidades mínimas de muestras (microlitros) para el análisis lo que hace más fácil su interacción. Habría un inconveniente al momento del acoplamiento de las dos técnicas, es la corriente secundaria que proviene de la columna cromatográfica emerge a presión atmosférica, pero esta debe llegar al espectrómetro de masas a funcionar a un nivel de vacío superior. Tal como lo plantea, M.C. Gutiérrez, M. Droguet.(2002) pág. 37

En general, una mezcla de compuestos que se inyecta en el cromatógrafo de gases, es separada en la columna cromatográfica donde se obtienen cada uno de los compuestos individuales separados que pasan al tiempo por el espectrómetro de masas. Uno a uno estos componentes son registrados como pico cromatográfico para ser identificado por su respectivo espectro de masas. Para este proceso el espectrómetro de masas no solo funciona como detector, sino también registrando la corriente iónica total que se genera en la fuente iónica, la cual se representa como Cromatograma o TIC (total ion current).por tanto la corriente que generan la suma de cada uno de los iones produce un pico Gaussiano de área directamente proporcional a la concentración del compuesto detectado. Tal como lo plantea, M.C. Gutiérrez, M. Droguet.(2002) pág. 38

Cuando se presentan mezclas complejas, el Cromatograma puede tener unos números muy altos de picos, algunos de ellos muy próximos o similares, que provoca que se retarde un poco la detección y se reduzca un poco la confianza del

resultado en un compuesto específico o muy importante en el análisis. En casos donde se pretende identificar uno o más compuestos específicos, que tiene un espectro previamente identificado de forma rápida y precisa, se emplea una técnica llamada detección SIR (selected ion recoder), esta técnica solo identifica algunas masas, y no el total de los iones (TIC), de esta forma se incrementa la capacidad de selectividad y reduce considerablemente las interferencias. Tal como lo plantea, M.C. Gutiérrez, M. Droguet. (2002) pág. 38

5.4 MEMBRANA HUECA

Omitiendo el proceso de lixiviación, la extracción líquido líquido (LLE), es la técnica habitual con mayor antigüedad de extracción empleando disolventes. Cuando se trata de muestras acuosas, la LLE, es una de las técnicas más apropiada, común y versátil; por lo que ha estado presente en innumerables métodos de análisis. No obstante la técnica como tal, consume cantidades muy altas de solventes orgánicos, aumentando el costo y el impacto negativo ambiental por producción de desechos. Por esto se han desarrollado otras técnicas de extracción miniaturizadas, logrando evitar algunos problemas. Esta técnica se presenta de dos modos: reduciendo las dimensiones de la técnica tradicional (extracción en vial), y por el desarrollo de modalidades innovadoras de extracción (micro extracción en fase líquida (LPME)). La técnica de micro extracción alcanzado niveles de popularidad muy altos ya que no solo se emplean pocos volúmenes de solvente orgánico, sino también el mínimo contacto con la muestra. Tal como lo plantea, M.D. RAMOS PAYÁN, (2011) pág. 25

En 1990 se introdujo la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) muy convencional y económica en todo su empleo, pero además se desarrollaron otros procedimientos alternativos de micro extracción, en los que se resalta el uso de membranas líquidas soportadas, agrupadas bajo la denominación de LPME, esta técnica también engloba las ventajas de economía en solventes, desechos y presupuesto. Tal como lo plantea, M.D. RAMOS PAYÁN, (2011) pág. 27

El funcionamiento general de una membrana líquida soportada, consiste inmovilizar en el interior de los poros de un soporte microporoso la fase orgánica o extractante, y por el exterior de esta membrana se hacen circular la fase acuosa. (RAMOS, 2011). Para detallar mejor el procedimiento se presenta la figura número 3

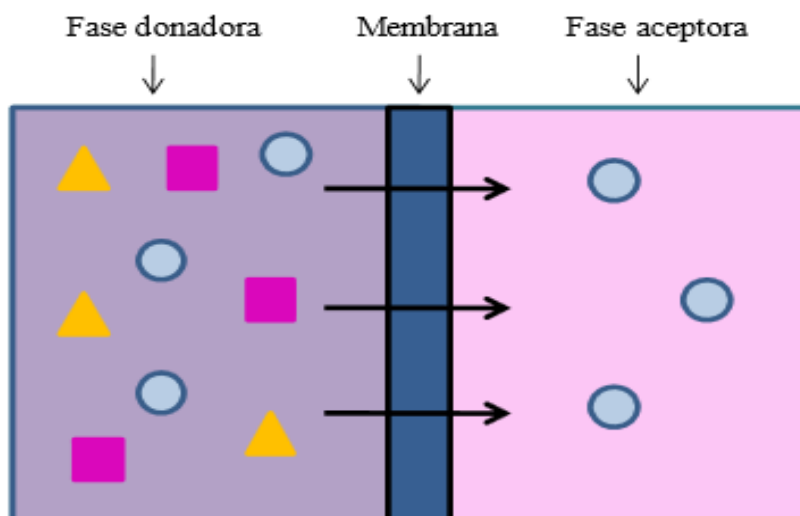


Figura N. 3 Principio de funcionamiento de separación mediante membrana líquida. M.D. RAMOS PAYÁN, (2011) pág. 27 (http://fondosdigitales.us.es/media/thesis/1743/I_T-PROV26-capitulo1.pdf).

La muestra está en contacto con un lado de la membrana, donde esta hace la función de barrera selectiva; por tanto los análisis pasan desde la fase donadora por la membrana hacia la fase aceptora. Tal como lo plantea, M.D. RAMOS PAYÁN, (2011) pág. 27

Con el objetivo de solucionar algunos de los problemas de otras técnicas de micro extracción, Audunsson en 1986 incluyó un concepto rotatorio sobre la técnica LPME, que luego mejorado por Thordarson y más tarde desarrollado por Pedersen-Bjergaard y Rasmussen en el año 1999. La nueva técnica denominada micro extracción en fibra hueca, en inglés (hollow fiber liquid phase microextraction, HF-LMPE); consta de la disposición de fibras huecas que sirven de cimiento a fases orgánicas inmiscibles en la fase acuosa de la muestra que posee el analito. Para esta técnica, los poros de esta fibra se empapan de un disolvente generalmente orgánico, en las cuales hay dos modalidades, en dos y tres fases, donde la diferencia radica en encontrarse una o dos interfaces en tres líquidos diferentes. Para el caso de las dos fases en producto final consta de una fase orgánica que coincide con técnicas de análisis como cromatografía de gases o cromatografía líquida; para el sistema de tres fases, el analito se obtiene de una fase acuosa (donadora) por medio de un disolvente orgánico que previamente fue inmovilizado por los poros de la fibra (fase orgánica) hasta llegar a una nueva fase acuosa (fase aceptora) que está en el interior de la fibra. En este sistema es

recomendable que las muestras estén en constante agitación mientras ocurre el proceso de micro extracción. La técnica HF-LMPE es considerada una de las más confiables donde se obtienen altos enriquecimientos, por ello, bajos límites de detección, que demanda quipos sencillos, de poco valor donde se obtienen muestras limpias. Tal como lo plantea, M.D. RAMOS PAYÁN, (2011) pág. 28

5.5 SOLANUM QUITOENSE

Se citan alguna información referente al fruto como: generalidades, contenido nutricional, condiciones agroecológicas, taxonomía.

Tabla N. 1 Generalidades del solanum quitoense L.

| | |
|--------------------|--|
| Nombre común | Lulo |
| Nombre científico: | (<u>Solanum quitoense L.</u>) |
| Genero | Solanum |
| Familia | Solanáceas |
| Tipo | Fruta |
| Origen | Originario de las vertientes oriental y occidental de la cordillera de los andes, en Perú, Ecuador y Colombia. |
| Países productores | Cultivado desde Chile hasta México, especialmente en Perú, Ecuador, Colombia, Panamá, Costa Rica y Honduras. |

Fuente: manual técnico del lulo, 2006

Tabla N. 2 Contenido nutricional

| Elemento o compuesto | Unidad | Total |
|----------------------|--------|-------|
| Agua | % | 87.0 |
| Proteínas | % | 0.74 |
| Grasas | % | 0.17 |
| Carbohidratos | % | 8.0 |
| Fibras | % | 2.6 |
| Cenizas | % | 0.95 |
| Calcio | Mg | 34.2 |
| Hierro | Mg | 1.19 |
| Vitamina C | Mg | 29.4 |
| Pectina | % | 1.28 |

Fuente: manual técnico del lulo, 2006

Tabla n. 3 condiciones agroecológicas

| | | | |
|---|--|--|---------|
| RADIACIÓN | H/día | 4-6 | |
| TEMPERATURA | °C | 14-18 | |
| PRECIPITACIÓN | mm | 1500-2000 | |
| HUMEDAD | % | 80% | |
| PENDIENTE | % | ≤ 40 % | |
| ZONA DE VIDA | bosque húmedo pre montano bosque muy húmedo pre montano bosque muy húmedo montano bajo | | |
| REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DEL SUELO | N | Kg/ha | 150 |
| | P ₂ O ₅ | Kg/ha | 20 |
| | K ₂ O | Kg/ha | 180 |
| | pH | | 5.5-6.5 |
| PROFUNDIDAD | Cm | 50-75 | |
| TEXTURA | clase | Franca, franco-arenoso, franco-arcillosa | |
| DISTANCIA DE SIEMBRA EN (m) | | 3x2, 3x2.5, 3x3 | |
| DENSIDAD DE SIEMBRA (plantas/Ha) | | 1666, 1333, 1111, 1923, 1538, 1282 | |
| VIDA UTIL | | 2 años | |
| COSECHA: inicia a los 9 y 11 meses, presenta picos en abril, mayo, octubre y noviembre. | | | |

Fuente: manual técnico del lulo, 2006

Tabla N. 4 taxonomía solanum quitoense L

| | |
|-------------|--|
| Reino | Vegetal |
| Subreino | Espermatofryta |
| División | Angiosperma |
| Subdivisión | Dicotiledónea |
| Clase | Simpétala |
| Subclase | Pentacíclica |
| Orden | Tubiflorales |
| Familia | Solanáceas |
| Genero | Solanum |
| Especie | Solanum quitoense Lam |
| Variedades | Quitoense quitoense (sin espina) Quitoense septentrional (con espina) |

Fuente: manual técnico del lulo, 2006

5.6 RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN LOS ALIMENTOS

A nivel nacional la norma que rige los límites máximos de residuos en alimentos se hace a través de la RESOLUCIÓN 1142 DE 2008, Gaceta Oficial No. 1577 de 25 de enero de 2008, donde se establece que: (ANEXO I)

6. ANTECEDENTES

A continuación se describen algunos trabajos del orden local, nacional e internacional sobre determinaciones de plaguicidas en alimentos:

- 2013, Polonia. Evaluación de residuos de plaguicidas en frutas y verduras de la región del sudeste de Polonia utilizando una técnica analítica de cromatografía de gases con detectores de captura de electrones y detector de nitrógeno-fosforo. Ewa S zpyrka *, Anna Kurdziel, Aneta Matyaszek, Magdalena Podbielska, Julián Rugar, Magdalena Słowik-Borowiec Laboratorio de Análisis de Residuos de Pesticidas, Estación Experimental Regional de en Rzeszow, Instituto de Plantas Instituto de Investigación Protección Nacional. Los residuos de plaguicidas encontrados fueron muchos, sin embargo su concentración no es perjudicial para la salud de niños y adultos. (<http://www.sciencedirect.com>)
- 2013, China. Determinación de múltiples pesticidas en frutas y vegetales usando un método rápido, fácil, barato, eficaz, robusto y seguro, modificados con nano partículas magnéticas y cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem. Yan-Fei, Liu-Qianqian, Fang-Weilia, YiDinga, Zi-JunYanga, Ming-LinWanga. Colegio de Ciencias de los Alimentos e Ingeniería de la Universidad Agrícola de Shandong, provincia de Shandong, China, Colegio de Protección Vegetal de la Universidad Agrícola de Shandong, China. la metodología modificada cumple con los requisitos para la determinación de plaguicidas múltiples en frutas y verduras y tendrá amplias aplicaciones en análisis de alimentos. (<http://www.sciencedirect.com/>)
- 2014, Brasil. Validación del método QuEChERS para el análisis de plaguicidas organoclorados en tamarindo (Tamarindos indica) productos: cascara, fruta y pulpa comercial. Mario Paz, LuísaCorreia-S, Helena Becker, ElisaneLonghinotti, Valentina F. Domingues, Cristina Delerue-Matos. Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidad Federal do Ceara (UFC), Cx. Postal 12200 CEP 60455-960 Fortaleza, CE, Brasil. Cromatografía de gases con detector de masas y captura de electrones. no hay presencia de residuos de plaguicidas, y se verificó el nuevo método CuEChERS para determinación de estos compuestos organoclorados. (<http://www.sciencedirect.com/>)

- 2013, Colombia. Aspectos prácticos de cromatografía de gases – espectrometría de masas para el análisis de residuos de plaguicidas en frutas exóticas. Julio César España Amórtegui, Jairo Arturo Guerrero Dallos .Departamento de química. Universidad Nacional de Colombia. Aumento del volumen de la inyección usando ventilación del disolvente para mejorar el sistema de detección de espectrometría de masas.se establece un tiempo de retro lavado para mejorar la sensibilidad de la detección de los residuos de plaguicidas en estas frutas. (<http://www.sciencedirect.com/>)
- 2010, Cundinamarca Colombia. Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en repollo (Brassica Oleraceae Van Capitata) por cromatografía de gases. Moreno Milton Leonardo, Guerrero Dallos Jairo Alberto. Revista colombiana de química. Universidad Nacional de Colombia. Determinación de organoclorados, órgano fosforados y organonitrados, extracción por homogenización con acetato de etilo en presencia de Na₂SO₄ Y NaHCO₃, inyección splitless pulsada, detector de microcaptura de electrones y nitrógeno-fosforo. El análisis de las muestras aleatorias del municipio de Madrid, el mayor productor de repollo en Cundinamarca, presenta patrones apropiados de residuos de plaguicidas. Base de datos, Universidad Nacional de Colombia (<http://sinab.unal.edu.co>)
- 2002, Colombia. Evaluación de la residualidad de plaguicidas en uchuva (Physalis peruviana L.) en el departamento de Cundinamarca. Rubén Danilo Bourdon García ;dir. Jairo Arturo Guerrero Dallos. Tesis (Químico), Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Metodología multiresiduo para la determinación de 13 plaguicidas (monocrotofos, dimetoato, clorotalonil, diclofluanid, metalaxil, tiabendazol, profenofos, iprodion, tetradifon, b - ciflutrina, l - cihalotrina, difenoconazol y deltametrina) en uchuva (Physalisperuviana L.), En el proceso de extracción de los plaguicidas de la matriz se utilizó acetato de etilo. Para el proceso de limpieza del extracto de la matriz, se utilizó cromatografía de permeación en gel (GPC); finalmente se realizó la evaluación de los plaguicidas por cromatografía de gases, con detección por micro-captura de electrones (mECD) y detector selectivo de nitrógeno y fósforo (NPD).de los resultados de las muestras de campo para los trece plaguicidas evaluados, se resalta que ninguno presentó residuos de plaguicidas a nivel detectable. Base de datos, Universidad Nacional de Colombia. (<http://sinab.unal.edu.co>)
- 2011, Quindio, Colombia. Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados por gc-uECD en frutos de PIÑA (Ananascomosus L.) variedad Golden MD2 en el departamento del Quindío. Magda Ivonne

Pinzón , Alfonso Londoño, Diana Blach, Jorge Andrés Gutiérrez, Andrés Mauricio Rojas. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Quindío. análisis de frutos de piña (*Ananascomosus L.*) variedad Golden MD2, procedentes del municipio de Montenegro, Quindío, Se identificaron y cuantificaron residuos de plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases con detector de micro captura de electrones; los plaguicidas se analizaron mediante cromatografía de gases, evidenciando como resultado la presencia de plaguicidas organoclorados como beta BHC, delta BHC, gama BHC, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfán I, Endosulfán II, 4,4 DDE, Endrín aldehído, Aldrín. Identificándose para todos los lotes analizados mayores concentraciones en la parte externa que la interna del fruto. Base de datos, Universidad Nacional de Colombia (<http://sinab.unal.edu.co>)

- 2011, Colombia .Validación de una metodología multiresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragrariaspp.*) por cromatografía de gases. Montañó Garcés, Mauricio, Guerrero Dallos, Jairo Arturo. Revistas electrónicas UN: Revista Colombiana de Química. se describe la validación de una metodología analítica multi residuo para la determinación simultánea de 19 compuestos organoclorados, organofosforados y organonitrogenados en fresa. Los plaguicidas se extrajeron con acetato de etilo, los extractos se limpiaron por cromatografía de permeación por geles (GPC), el análisis se llevó a cabo por cromatografía de gases de alta resolución (CGAR) con inyección en modo splitless pulsado y detección simultánea por micro captura electrónica (μ -ECD)y nitrógeno-fósforo (NPD) acopiados en paralelo; Se aplicó la metodología a muestras reales, encontrándose principalmente residuos de Captan por debajo de los límites máximos de residuos (LMR). Base de datos, Universidad Nacional de Colombia (<http://sinab.unal.edu.co>)
- 2013, Neiva, Huila, Colombia. la agricultura sostenible en Colombia, La medición de los niveles de pesticidas entre los pequeños productores locales. School of chemical science and engineering, Universidad Surcolombiana. Tove Kristensen, Helen Lund, Johan Lindberg. detección de residuos de fungicida estrobilurinatrifloxistrobina, en la parte comestible de la fruta de lulo (*solanum quito agreelam*) y en el suelo donde la fruta se cosechó, por cromatografía de gases con un detector de ionización en llama, con límite de detección mínimo de 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Detectándose presencia de trifloxistrobina en uno de los cuatro cultivos estudiados.

7. METODOLOGIA

La metodología empleada para esta investigación se establece buscando un nivel de confiabilidad máximo del estudio. Para esto, se divide en dos etapas que garanticen no solo la correcta recolección y transporte de muestras, sino también un análisis pertinente para respaldar la veracidad de la investigación:

ETAPA 1: RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Durante el proceso de observación e indagación no solo de los contenidos teóricos del proyecto, sino también del área de estudio; se seleccionan las 9 fincas del corregimiento con mayor cantidad de hectáreas de lulo sembrado dentro del corregimiento de Zuluaga. Los 9 cultivos se muestran en la tabla N.6

Tabla N.5. Cantidad de plantas de lulo sembradas por cultivo

| CULTIVO | PROPIETARIO | NUMERO DE PLANTAS |
|---------|---------------------|-------------------|
| 1 | Libardo Cabrera | 1200 |
| 2 | Robín Moreno | 6500 |
| 3 | Robín Moreno | 6800 |
| 4 | Edilberto Wilombo | 500 |
| 5 | Dagoberto Navarrete | 1700 |
| 6 | Ronald Carballo | 1000 |
| 7 | Ronald Carballo | 1300 |

Fuente: propia

Para los cultivos 1, 2, 3, 5 y 7 que tienen más de mil plantas, se seleccionan cuadrantes de 60 plantas donde se escoge de manera aleatoria una planta y de esta un lulo, y así hasta tomar un lulo de cada uno de los cuadrantes. Para los cultivos 4 y 6 de mil o menos plantas se hacen cuadrantes de 50 plantas y se realiza el mismo muestreo aleatorio. De esta forma cada lulo se va depositando en casa bolsa correspondiente para cada una de las 7 muestras.

Cada muestra de cada cultivo se deposita en bolsas ziploc previamente marcada con el nombre del respectivo cultivo. Luego se deposita en una de las neveras cuyo proceso de esterilización ya se ha efectuado, para así conservar

la fruta el mayor tiempo posible, sin exposición a la humedad, el calor u organismos que la afecten.

Al final de cada recolección en cada cultivo se hace una entrevista al propietario o cultivador, donde se registran algunos datos importantes para la investigación tales como: nombre, cantidad de hectáreas sembradas, fertilizantes y pesticidas suministrados, registro INVIMA, registro de BPA.

Finalmente se cierran muy bien las neveras para así, transportar las muestras hasta el laboratorio de Cromatografía ubicado en la Universidad de Caldas donde se realiza el análisis en el cromatógrafo. Con un recorrido completo de aproximadamente 36 horas.

ETAPA 2: ANALISIS DE LAS MUESTRAS

Para este análisis se emplea la técnica trace GC ultra acoplado a espectrometría de masas. Esta técnica tiene las siguientes condiciones

Micro extracción:

Tabla N.6. Condiciones de micro extracción según la técnica

| | |
|------------------------|------------|
| variable | |
| NaCl | 5 g |
| Velocidad de agitación | 300 |
| temperatura | 30 °C |
| Tiempo de extracción | 30 minutos |

Fuente: propia

Condiciones cromatográficas

Tabla N.7. Condiciones cromatográficas según la técnica

| | |
|--------------------------|---|
| Concentración MEC18 | 100ppb |
| flujo | 1 ml/min |
| Temperatura del inyector | 280 °C |
| mode | splitless |
| Temperatura del detector | 300 °C |
| Post run | 290 °C |
| rampa | Inicia en 150°C con un incremento de 4°C/min hasta 250 °C |

Fuente: propia

Se separan cada una de las muestras, se enumeran para luego tomar una a una y extraer la pulpa.

La pulpa se licua y luego se disuelve en agua, para extraer luego el analito.

Para la obtención del analito se utiliza una membrana hueca de polipropileno, la cual ya tiene el siguiente proceso de preparación:

- a) Se pre-acondiciona, sumergiéndola en acetona en baño de ultrasonido durante 10 minutos.
- b) Funcionalización de la membrana hueca como una barra de disolvente, introduciendo aproximadamente 10 mm de un alambre metálico con 30 mm de membrana hueca.
- c) Llenado de la membrana hueca con aproximadamente 30 μL de disolvente adecuado (1-octanol) mediante el uso de una jeringa Hamilton de 10 μL .
- d) Sellado de ambos bordes de la membrana hueca por presión mecánica con pinzas de laboratorio.

Sumergir la membrana en la muestra de pulpa de lulo licuada que esta disuelta en agua.

Poner la membrana en condiciones optimizadas ya establecidas para la extracción de plaguicidas (velocidad de agitación, concentración de sal temperatura, y tiempo de extracción). Aproximadamente 10 minutos.

Retirar la membrana después de un tiempo de extracción.

Cortar un extremo de la membrana hueca y recuperar el disolvente de extracción concentrado utilizando una jeringa Hamilton de 10 μL .

Finalmente se inyecta en el cromatógrafo de gases equipado con detector de espectrometría de masas GC-MS, 1 μl del disolvente con los análitos, después de cada prueba, la membrana hueca utilizada será descartada.

El análisis se realiza por triplicado por criterio estadístico y no llegar a provocar algún error en el resultado

La primera muestra en inyectarse es una muestra general de los 7 cultivos, la cual ha sido dopada con una solución que contiene todos los organoclorados presentes en el laboratorio, la muestra de 10 ml se concentra a 1 ppm con la solución de plaguicidas.

Luego de comprobar la sensibilidad del instrumento con el dopaje, se procede a realizar el análisis de los 7 cultivos por separado.

El cromatógrafo con que se realiza el análisis es un cromatógrafo de gases acoplado a masas modelo GCMS-QP2010 plus SYSTEM, CAT.NO 225-17610-92, SERIAL NO 020504650129 US, manufacturado por SHIMADZU USA. Con un inyector SHIMADZU AOC-20i. El detector del espectrómetro es un multiplicador de electrones. El gas portador utilizado fue helio (He) únicamente.



Figura N.4: cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas de la universidad de caldas

6. RESULTADOS Y ANALISIS

Luego de realizar el muestreo de los 7 cultivos, transportar cada una de estas al laboratorio, hacer la micro extracción con la membrana hueca de cada uno de los análisis y la respectiva corrida en el cromatógrafo se detectan los resultados presentados a continuación.

8.1 RESULTADOS Y ANALISIS DE MUESTRA GENERAL DOPADA

Antes de analizar cada Cromatógráma de cada muestra de cada cultivo, veremos el barrido de la muestra general dopada, la cual se realizó con una solución que contenía todos los organoclorados presentes en el laboratorio a una concentración de 1 ppm. Dicho resultado es el siguiente:

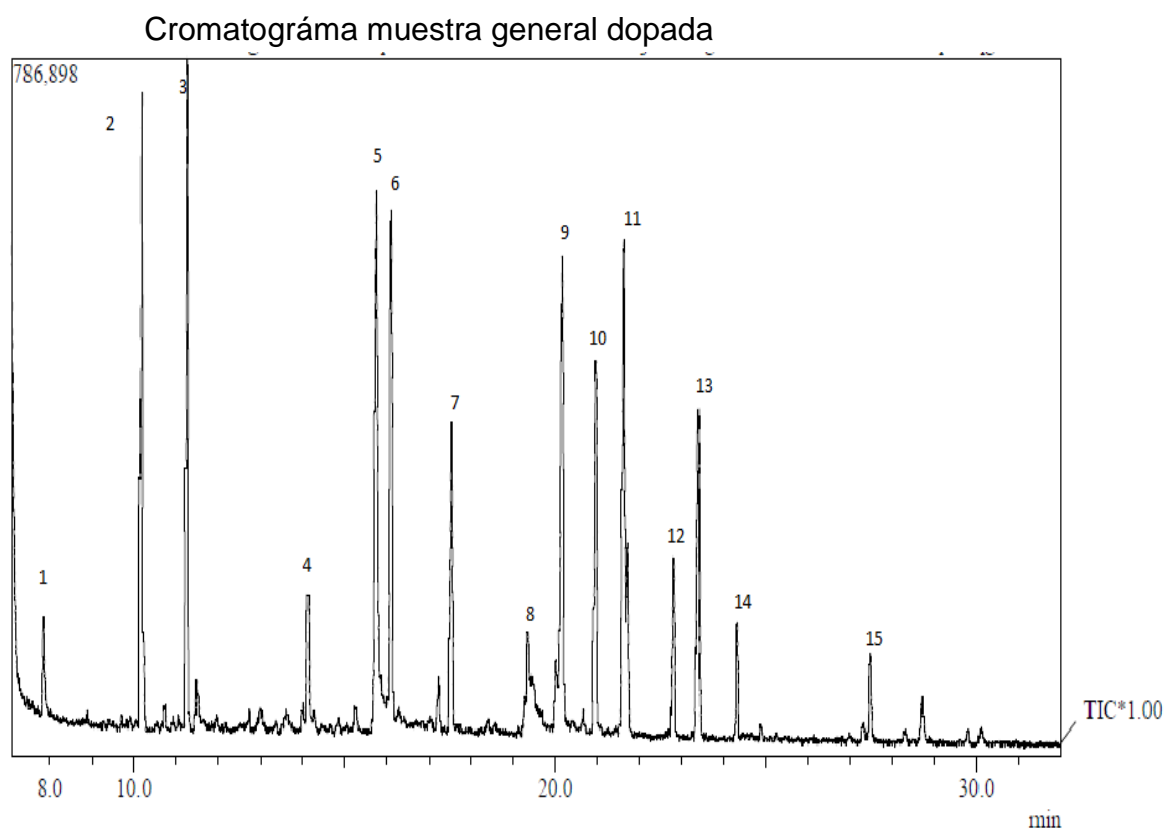


Grafico N. 1 Cromatógráma de muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio a una concentración de 1 ppm.

Tabla N.8. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra general dopada.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DE RETENCIÓN (MIN) |
|------|---|---------------------------|
| 1 | ácido nonadecánoico | 7.85 |
| 2 | ciclo hexano hexacloro | 10.16 |
| 3 | Ciclo hexano | 11.26 |
| 4 | 1,3 dioxon -5-ol,4,4,5-trimethyl | 14.14 |
| 5 | ácido haxadecánoico | 15.71 |
| 6 | Spiro | 16.00 |
| 7 | Heptacloro epóxido | 17.52 |
| 8 | 10-undecyn-1-ol | 19.33 |
| 9 | Dieldrin | 20.17 |
| 10 | 1-ciclohexano-1-methanol | 20.91 |
| 11 | 1-ciclohexano-2,2-bis(p-clorofenil) etano | 21.60 |
| 12 | ácido pentanoico | 22.83 |
| 13 | DDT | 23.40 |
| 14 | Octano, bromo | 24.32 |
| 15 | 2-bromo-6-metilpentano | 27.40 |

Del Cromatograma de la muestra general dopada podemos mencionar los picos más relevantes, tales como: los organoclorados correspondientes a los picos 2 ciclo hexano hexacloro con tiempo de retención 10.16 minutos, pico 6 spiro con tiempo de retención 16 minutos, pico 7 heptacloro epóxido con tiempo de retención 17.52 minutos, pico 9 Dieldrin con tiempo de retención 20.17 minutos, pico 11 1-ciclohexano-2,2-bis (p-clorofenil) etano con tiempo de retención 21.60 y el pico 13 DDT con tiempo de retención 23.40.

A continuación se presentan los seis espectros correspondientes a los seis picos de compuestos de cloro que contiene la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio.

Espectro del pico 2

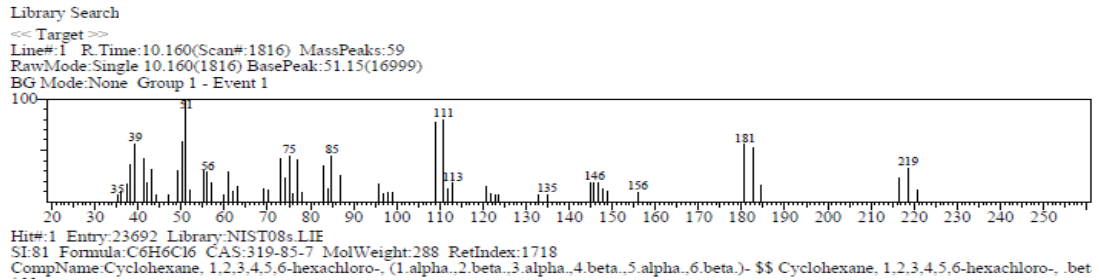


Grafico N. 2 espectro de masas del pico 2 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a ciclo hexano hexacloro.

Espectro del pico 6

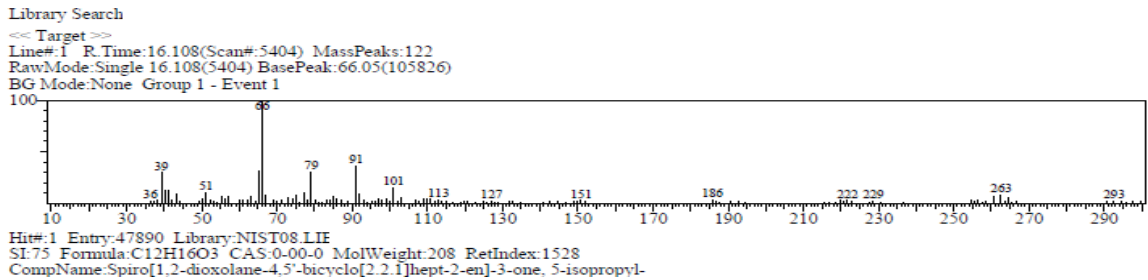


Grafico N. 3 espectro de masas del pico 2 de la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a spiro.

Espectro del pico 7

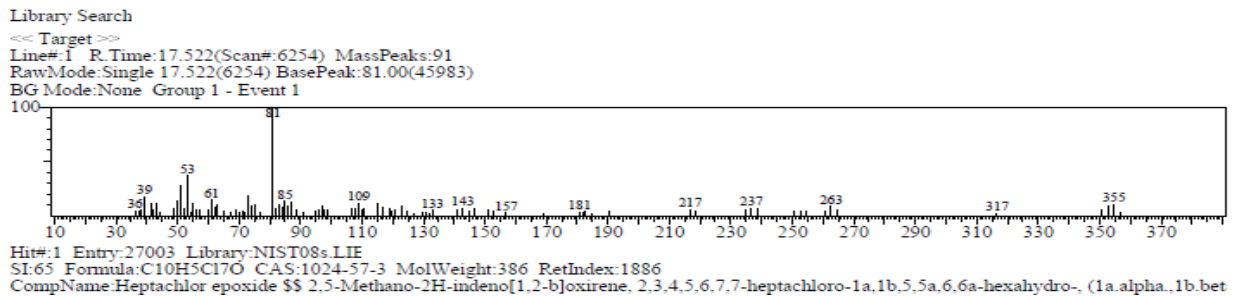


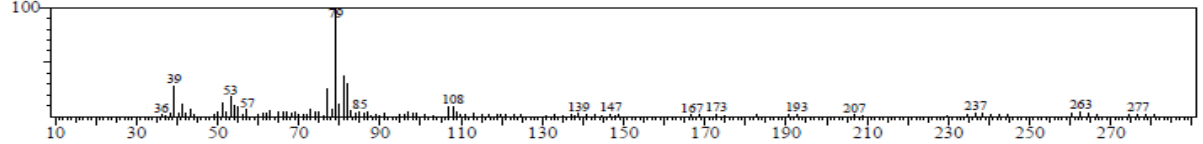
Grafico N. 4 espectro de masas del pico 7 la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a heptacloro epóxido.

Espectro del pico 9

Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:20.178(Scan#:7847) MassPeaks:105
RawMode:Single 20.178(7847) BasePeak:79.05(100869)
BG Mode:None Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:159114 Library:NIST08.LIE
SI:80 Formula:C12H8Cl6O CAS:56816-04-7 MolWeight:378 RefIndex:1862
CompName:1,2,3,4,10,10-Hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-exo-1,4-endo-5,8-dimethanonaphthalene

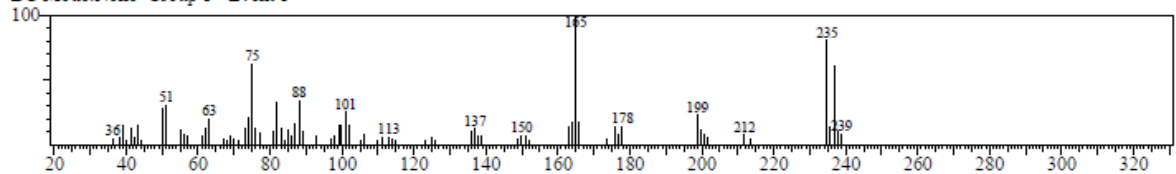
Grafico N. 5 espectro de masas del pico 9 la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a Dieldrin.

Espectro del pico 11

Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:21.607(Scan#:8703) MassPeaks:79
RawMode:Single 21.607(8703) BasePeak:164.90(35716)
BG Mode:None Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100194 Library:NIST08.LIE
SI:80 Formula:C14H11Cl3 CAS:2642-80-0 MolWeight:284 RefIndex:2087
CompName:1-Chloro-2,2-Bis(p-chlorophenyl)ethane \$\$ Benzene, 1,1'-(2-chloroethylidene)bis-4-chloro- \$\$ Ethane, 2-chloro-1,1-bis(p-chlorophenyl)-

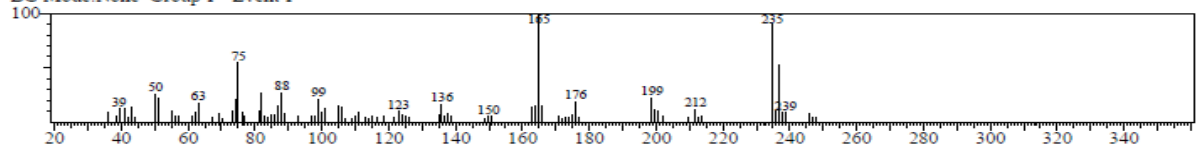
Grafico N. 6 espectro de masas del pico 11 la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a 1-ciclohexano-2,2-bis (p-clorofenil) etano.

Espectro del pico 13

Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:23.407(Scan#:9770) MassPeaks:89
RawMode:Single 23.407(9770) BasePeak:164.90(35247)
BG Mode:None Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26201 Library:NIST08s.LIE
SI:81 Formula:C14H9Cl5 CAS:789-02-6 MolWeight:352 RefIndex:2249
CompName:o,p'-DDT \$\$ Benzene, 1-chloro-2-[2,2,2-trichloro-1-(4-chlorophenyl)ethyl]- \$\$ Ethane, 1,1,1-trichloro-2-(o-chlorophenyl)-2-(p-chlorophenyl)-

Grafico N. 7 espectro de masas del pico 13 la muestra general dopada con los organoclorados presentes en el laboratorio, correspondiente a DDT.

Los picos correspondientes a los compuestos de algunos de los estadios de maduración del lulo son el pico 1 correspondiente al ácido nonadecánoico con tiempo de retención 7.85, el pico 5 como el ácido haxadecánoico con tiempo de retención 15.71, y el pico 12 el ácido pentanoico con tiempo de retención 22.83; estos tres picos son ácidos carboxílicos saturados que hacen parte de aceites y grasas vegetales.

Hay otros picos como el 10, 1-ciclohexano-1-metanol con tiempo de retención de 20.91 minutos. Correspondientes a moléculas que se presentan como interferencias dentro del análisis, estas pueden presentarse por los objetos en que se transporta la muestra, solventes del cromatógrafo, solventes de la membrana o ciertos materiales con los cuales entra en contacto durante su manipulación, el cromatógrafo al poseer una gran sensibilidad los detecta.

8.2 RESULTADOS Y ANALISIS DE REPRODUCIBILIDAD

Luego de realizar el respectivo análisis por triplicado de las 7 muestras en el cromatógrafo, se hace el análisis de reproducibilidad para verificar que los tres cromatogramas de cada muestra sean similares, respaldando el resultado.

Para el cultivo número 1, la gráfica de reproducibilidad es:

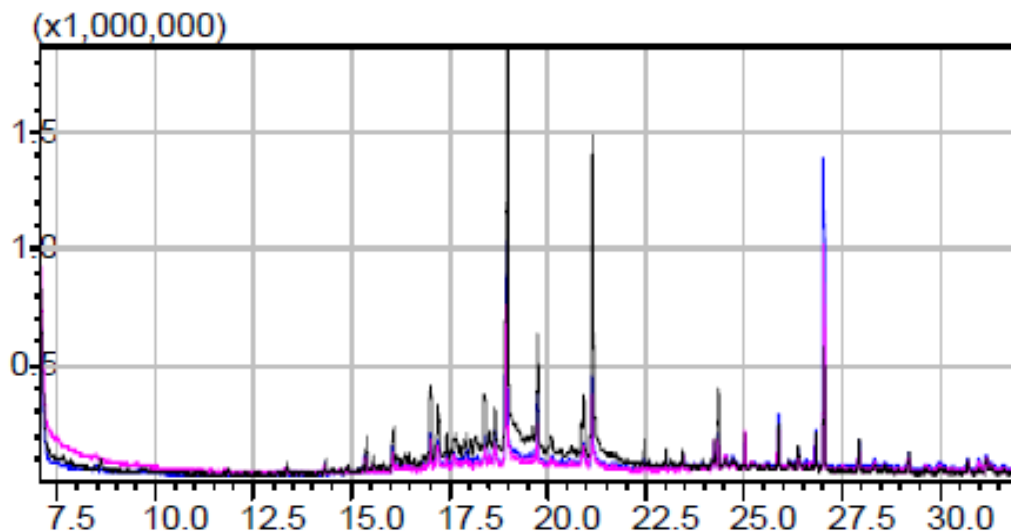


Grafico N. 8 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo.

Para el cultivo número 2, la gráfica de reproducibilidad es:

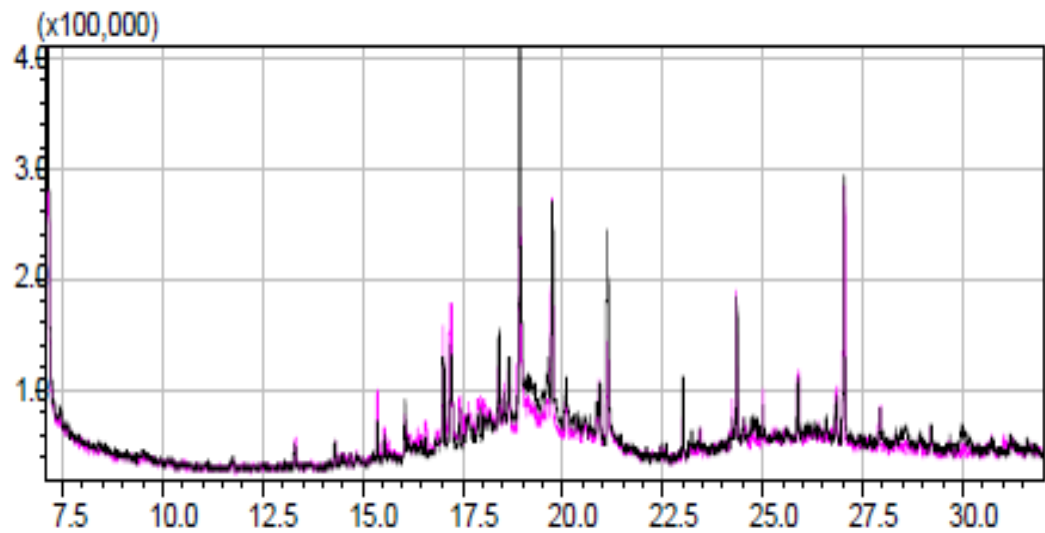


Grafico N. 9 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 2

Para el cultivo número 3, la gráfica de reproducibilidad es:

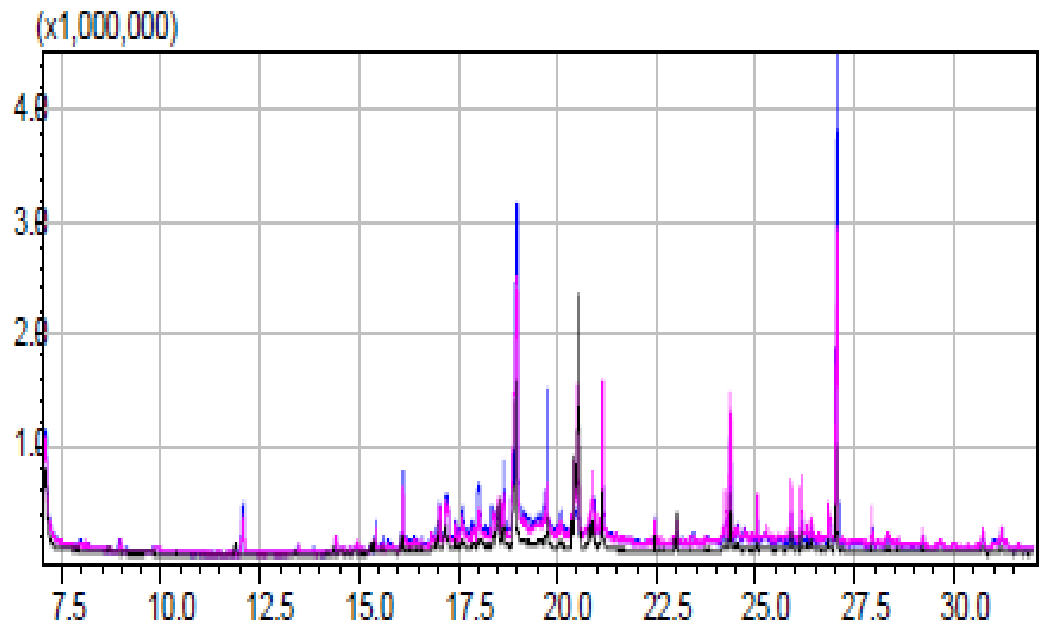


Grafico N. 10 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 3.

Para el cultivo número 4, la gráfica de reproducibilidad es:

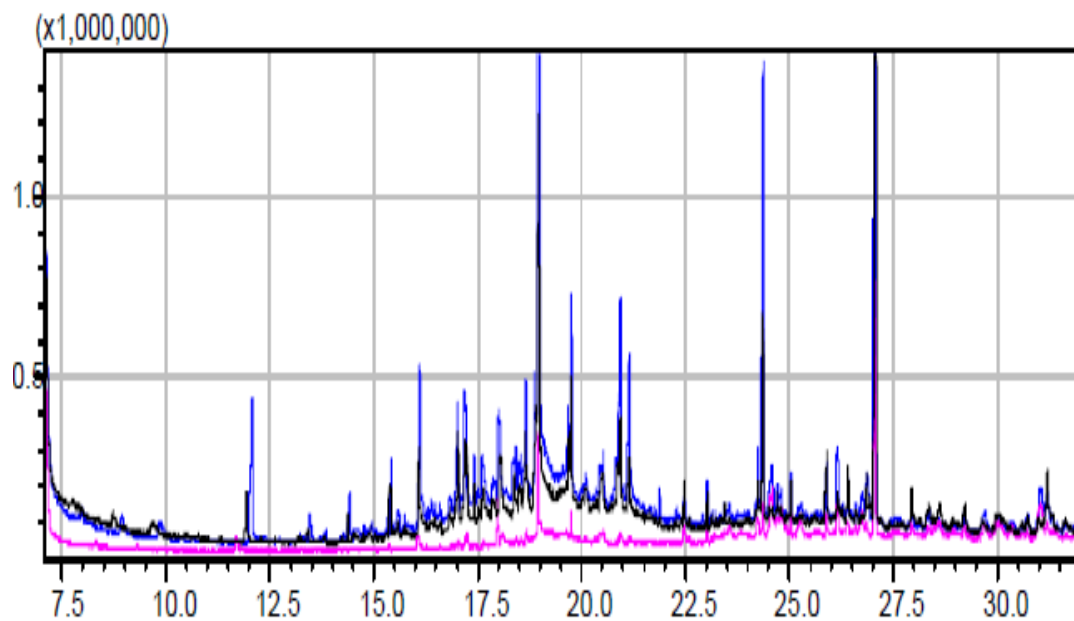


Grafico N. 11 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 4.

Para el cultivo número 5, la gráfica de reproducibilidad es:

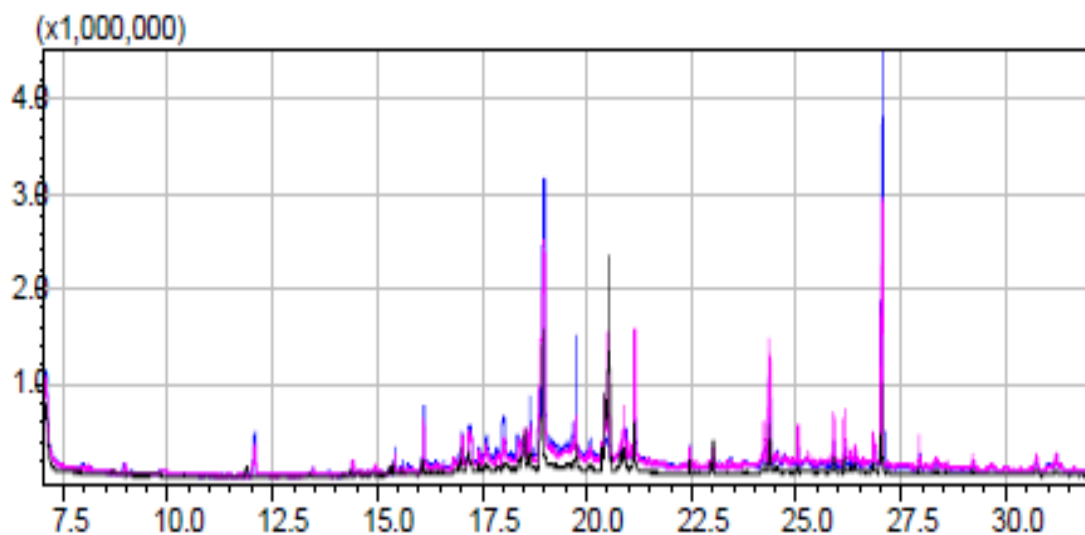


Grafico N. 12 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 5.

Para el cultivo número 6, la gráfica de reproducibilidad es:

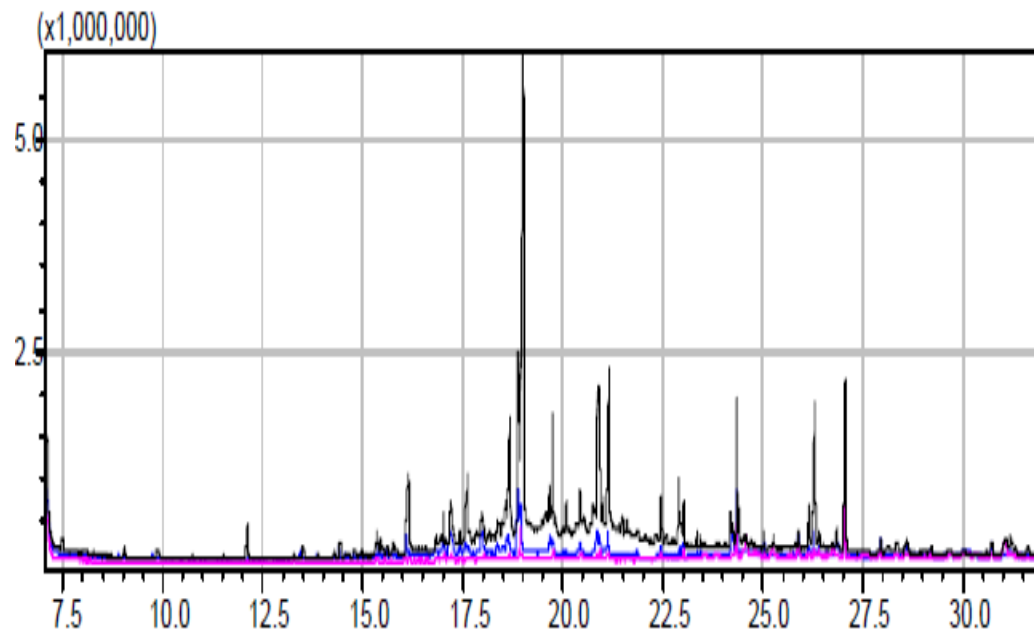


Grafico N. 13 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 6.

Para el cultivo número 7, la gráfica de reproducibilidad es:

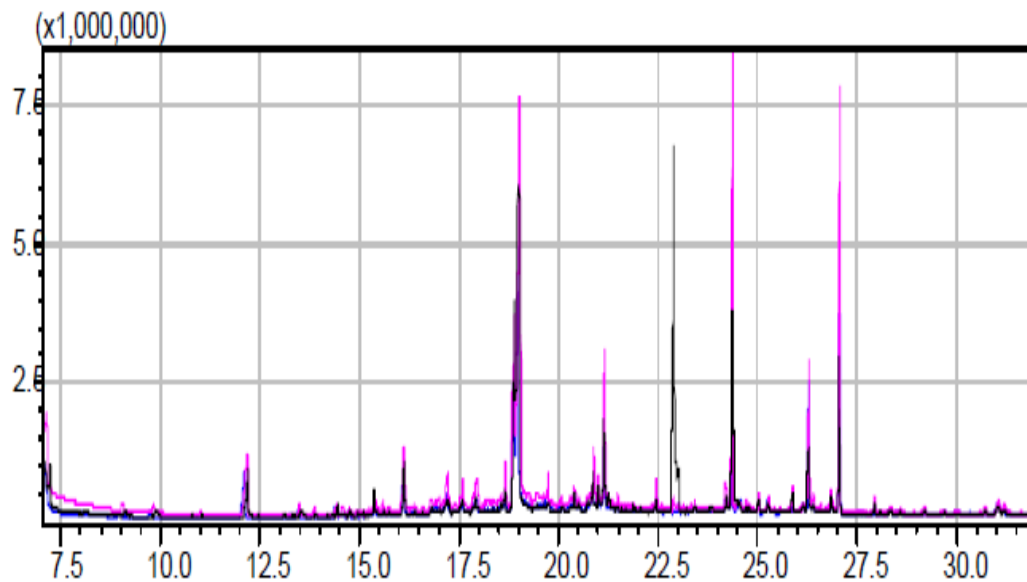


Grafico N. 14 análisis de reproducibilidad de los tres cromatogramas para las muestras del cultivo 7

Las siete graficas muestran y permiten verificar la buena reproducibilidad que tuvo el análisis, ya que cada línea, que representa cada uno de los tres cromatogramas de cada cultivo; están dispuestas casi a las mismas alturas y en los mismos tiempos de retención. La buena reproducibilidad del análisis garantiza no solo que las tres muestras de cada cultivo fueron tomadas correctamente, si no que el cromatógrafo y el detector funcionaron correctamente.

8.3 ANALISIS Y RESULTADOS DE LOS CROMATOGRAMAS DE LAS SIETE MUESTRAS

Para el análisis de cada una de las muestras de los diferentes 7 cultivos, se elige una de los tres cromatogramas de cada cultivo, el cual posea picos más definidos y que pertenezcan a compuestos que se quieren identificar. Los cromatogramas de cada cultivo son los siguientes:

Cromatograma del cultivo 1

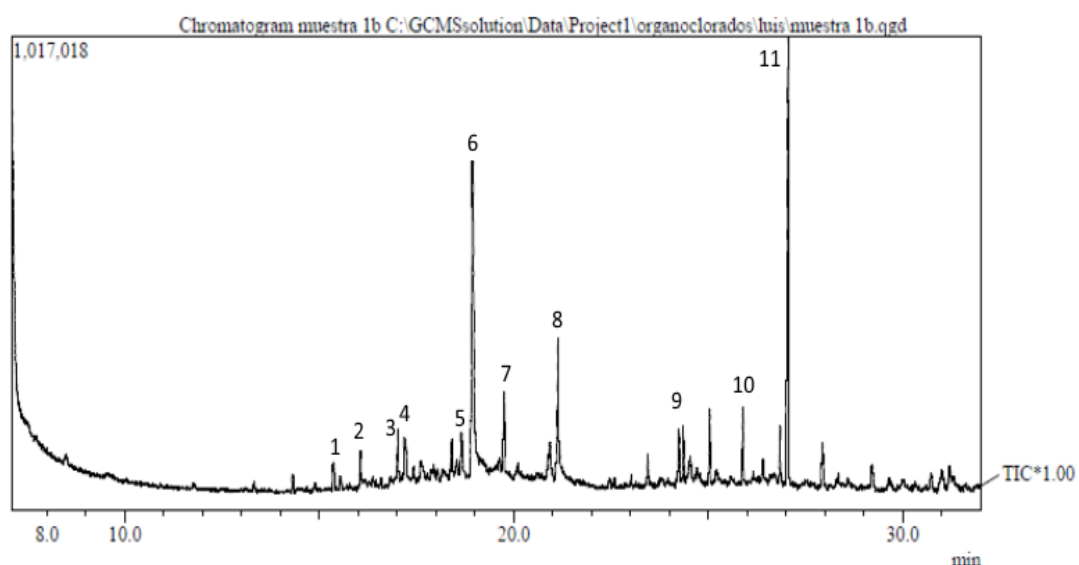


Gráfico N.15 Cromatograma cultivo número 1

Tabla N.9. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo número 1.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|--------------------------------------|--------------------------|
| 1 | Isoctano | 15.37 |
| 2 | ácido nonadecáico | 16.07 |
| 3 | 1-Iodo-2-metildecano | 17.03 |
| 4 | 1-octanol, 2-bityl | 17.22 |
| 5 | 1-octanol, 2-bityl | 18.40 |
| 6 | ácido hexadecáico | 18.93 |
| 7 | Ester isopropilico del ácido cáprico | 19.75 |
| 8 | ácido hexadecáico | 21.15 |
| 9 | Octano, 1,1'oxybis | 24.36 |
| 10 | 1-Iodo-2-metildecano | 25.88 |
| 11 | Escualeno | 27.03 |

El Cromatograma del cultivo numero 1 tiene entre sus picos más representativos: el pico 2 correspondiente al ácido nonadecáico con tiempo de retención 16.07, los picos 6 y 8 que son ácidos carboxílicos saturados correspondientes al ácido hexadecáico; que para este caso se presenta con dos tiempos de retención diferentes 18.93 y 21.15; el pico numero 4 1-octanol, 2-bityl con tiempo de retención 17.22, el pico 1 corresponde a isoctano con tiempo de retención 15.37,

el pico número 7 es un Ester isopropilico del ácido cáprico con tiempo de retención 19.75, y el pico número 11 es escualeno con tiempo de retención 27.03.

Cromatograma del cultivo 2

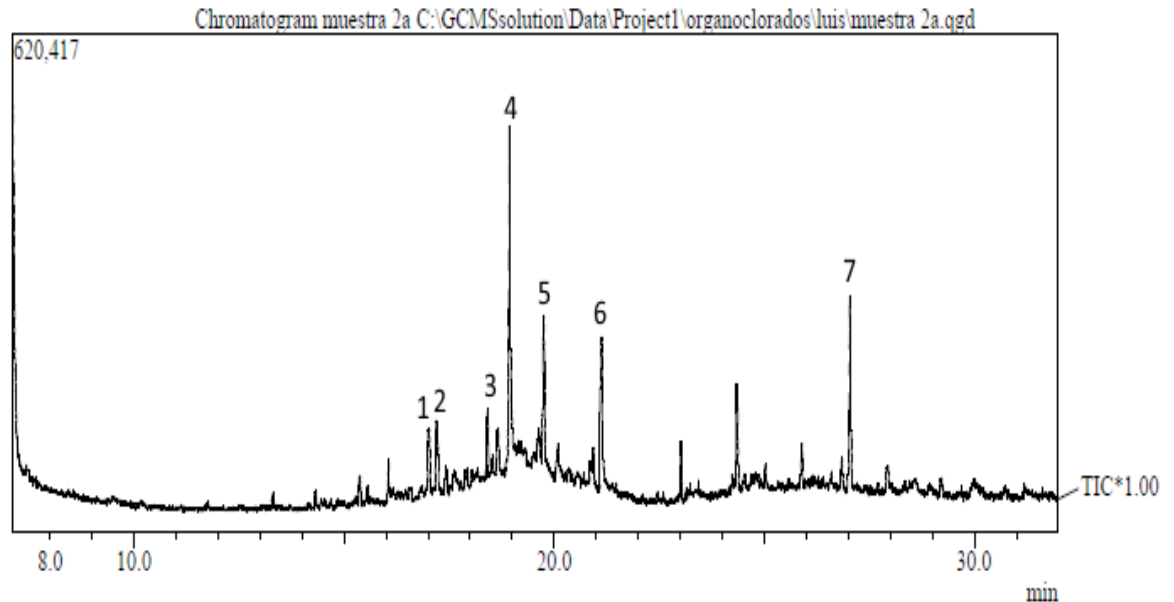


Grafico N. 16. Cromatograma cultivo número 2

Tabla N.10. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 1.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|----------------------|--------------------------|
| 1 | Isoctano | 17.03 |
| 2 | 1-fluroctano | 17.25 |
| 3 | 1-tridecano | 18.66 |
| 4 | ácido decanoico | 18.93 |
| 5 | ácido nonadecánoico | 19.73 |
| 6 | ácido nonadecánoico | 21.12 |
| 7 | Escualeno | 27.03 |

Para el caso del cultivo numero 2 el Cromatograma muestra siete picos cuya intensidad es mayor, entre estos los principales son: el pico número 1 corresponde al isoctano con tiempo de retención 17.03, el pico 2 es 1-fluroctano con tiempo de retención 17.25, los picos 5 y 6 corresponden al ácido nonadecánoico con tiempo de retención 19.73 y 21.12 los cuales son ácidos carboxílicos saturados que hacen parte de los estadios de maduración normal del lulo.

Cromatograma del cultivo 3

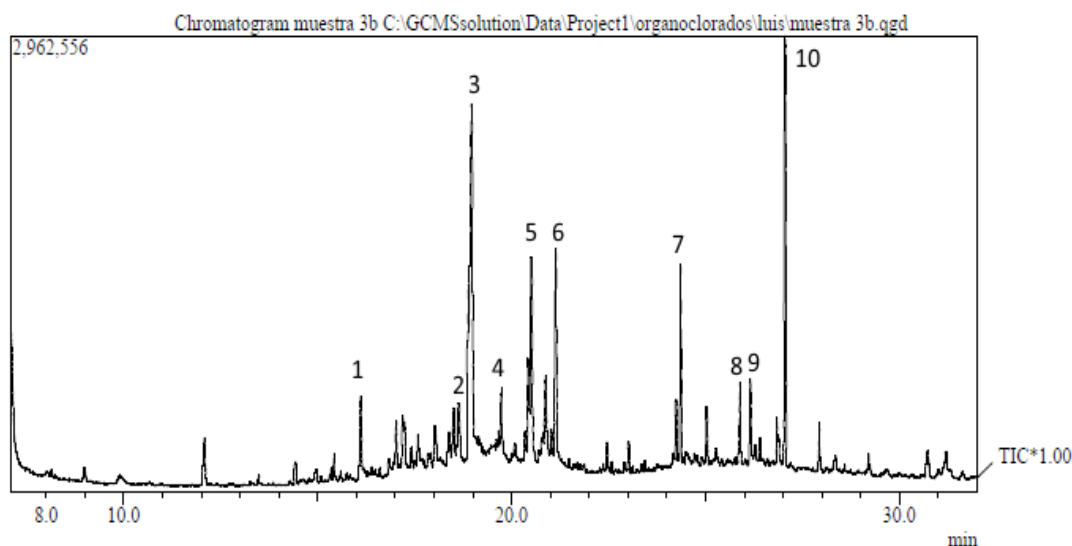


Grafico N. 17. Cromatograma cultivo número 3

Tabla N.11. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 3.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|----------------------|--------------------------|
| 1 | ácido hexadecánoico | 16.10 |
| 2 | n-tetraconasol-1 | 18.04 |
| 3 | ácido pentadecánoico | 18.99 |
| 4 | tetradecil oxilano | 20.42 |
| 5 | ácido octadecánoico | 20.52 |
| 6 | ácido oleico | 20.86 |
| 7 | di-n-octyl phtalate | 24.36 |
| 8 | Heptadecano, 9 octyl | 25.89 |
| 9 | 5-ethyl-1-nonene | |
| 10 | Escualeno | 27.06 |

El Cromatograma de la muestra del cultivo número 3, muestra 10 picos de los cuales los más representativos son: los ácidos carboxílicos saturados tales como; el pico 1 que corresponde al ácido hexadecánoico con tiempo de retención 16.10, el pico 3 al ácido pentadecánoico con tiempo de retención 18.99, el pico 5 al ácido octadecánoico con tiempo de retención 20.52, el pico 6 ácido oleico con tiempo de retención 20.86, además del escualeno con tiempo de retención 27.06 que aunque no es un ácido carboxílico, si hace parte de los compuestos presentes en los diferentes estadios de maduración del fruto.

Otros picos como el 4 que corresponden a tetradecil oxilano con tiempo de retención 20.42; es parte de los desechos de los solventes que usa el cromatógrafo para su limpieza luego de cada muestra.

Cromatograma del cultivo 4

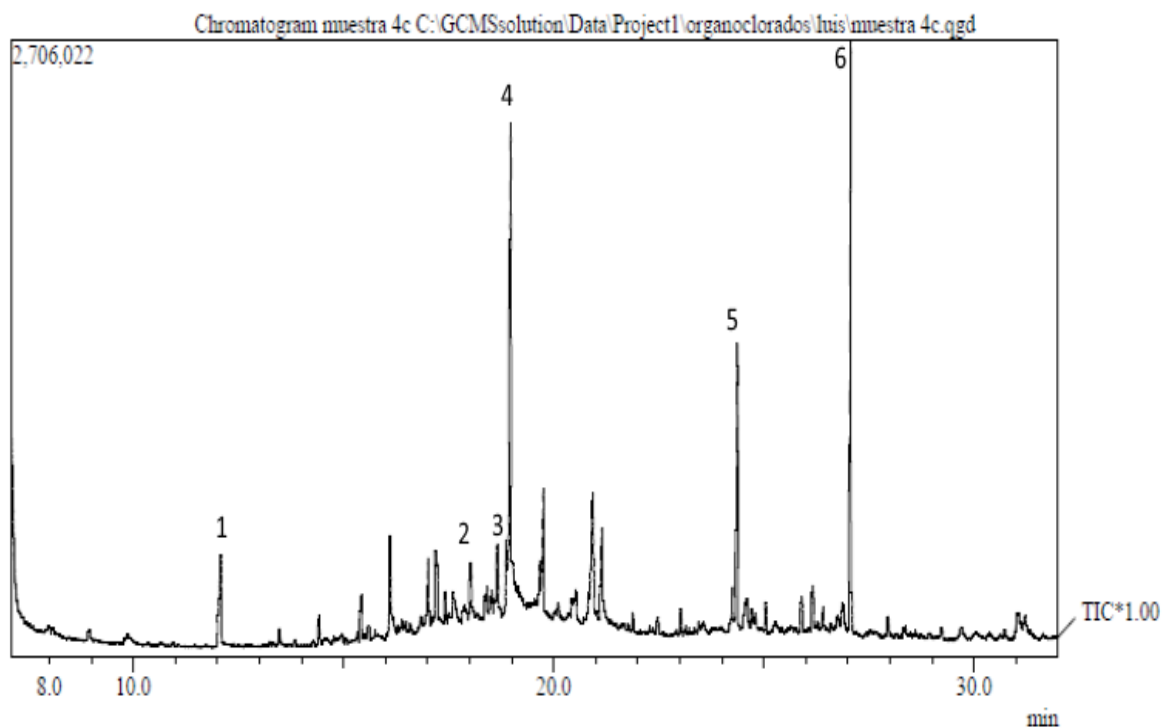


Grafico N. 18. Cromatograma cultivo número 4

Tabla N.12. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 4.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|----------------------|--------------------------|
| 1 | ácido undecanoico | 12.07 |
| 2 | n-tetraconasol-1 | 18.05 |
| 3 | 2-tridecenal | 18.66 |
| 4 | Acido hexadecánoico | 18.96 |
| 5 | 1-octanol, 2-butyl | 24.35 |
| 6 | Escualeno | 27.04 |

Para el cultivo numero 4 el Cromatograma arroja seis picos de los cuales dos son ácidos carboxílicos, el pico número 1 que corresponde al ácido undecanoico con

tiempo de retención 12.07, y el pico 4 que corresponde al ácido hexadecánoico con tiempo de retención 18.96, el pico 6 es escualeno con tiempo de retención 27.04, estos son compuestos de los estadios de maduración del lulo. El pico 2 corresponde al n-tetracosanol-1 con tiempo de retención 18.05.

Cromatograma del cultivo 5

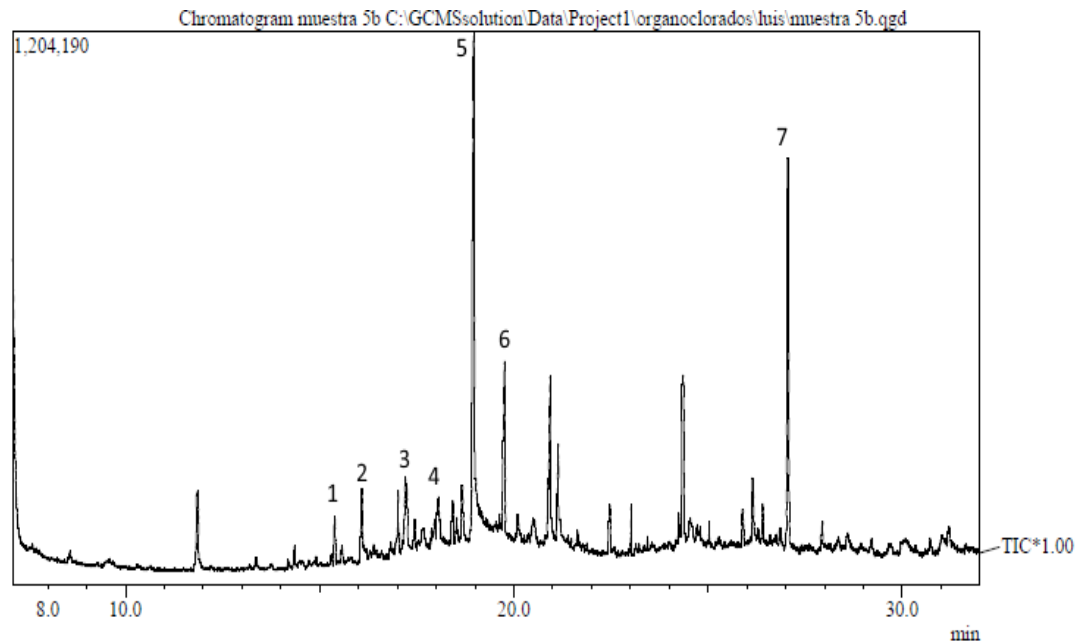


Grafico N. 19. Cromatograma cultivo número 5

Tabla N. 13. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 4.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|--|--------------------------|
| 1 | Isoctano | 15.39 |
| 2 | Acido nonadecánoico | 16.08 |
| 3 | Decano 1-fluoro | 17.21 |
| 4 | Acido pentafluoropropionico | 18.05 |
| 5 | Acido hexadecánoico | 18.95 |
| 6 | Ester isopropilico del acido n-cáprico | 19.76 |
| 7 | Escualeno | 27.04 |

El cromatogramas para el cultivo numero 5 muestra una serie de 7 picos dentro de los cuales los más representativos son: el pico numero 1 corresponde al isooctano con tiempo de retención 15.39, el pico numero 2 corresponde al ácido

nonadecánoico con tiempo de retención 16.08, el pico numero 4 corresponde al Ester dodecilo de ácido pentafluoropropionico con tiempo de retención 18.05, el pico 6 corresponde al ácido hexadecánoico con tiempo de retención 18.95, el pico 6 corresponde al Ester isopropilico del ácido cáprico con tiempo de retención 19.76, y el pico 7 corresponde al escualeno con tiempo de retención 27.06.

Cromatograma del cultivo 6

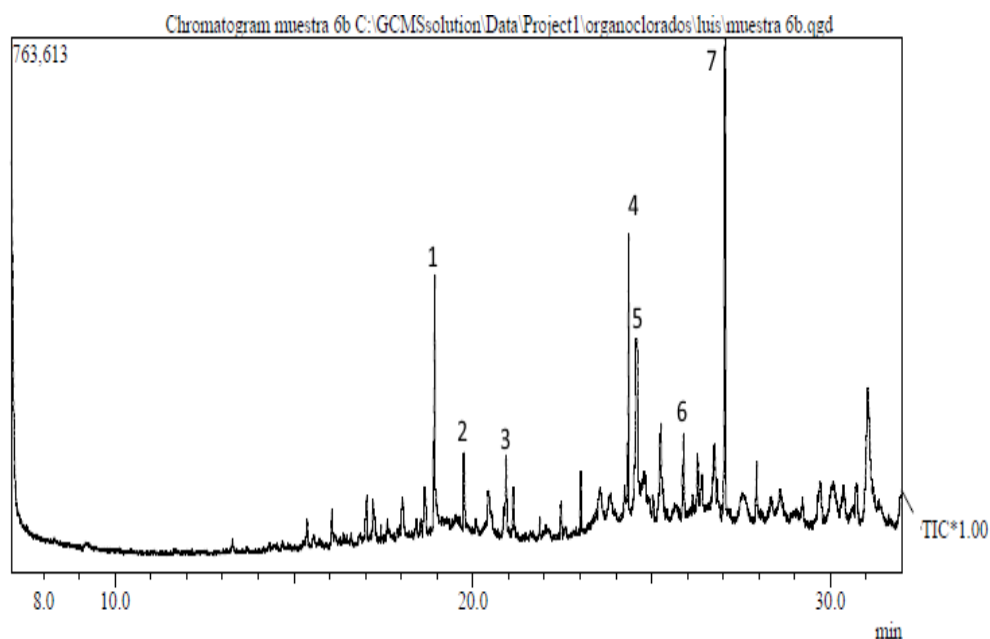


Grafico N. 20. Cromatograma cultivo número 6

Tabla N.14. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 6.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|---|--------------------------|
| 1 | Acido nonadecánoico | 18.91 |
| 2 | 1-fluoroctano | 19.72 |
| 3 | Acido 3.cloropropionico, Ester 3-pentadecil | 20.90 |
| 4 | Octadecáno | 24.33 |
| 5 | n-nonadecanol-1 | 24.60 |
| 6 | Citronelol epóxido | 26.28 |
| 7 | Escualeno | 27.04 |

El cultivo numero 7 presenta un Cromatograma con 7 picos principales, dentro de los cuales los más representativos son: el pico numero 1 ácido nonadecánoico con tiempo de retención 18.91, el pico numero 2 corresponde al 1-fluorooctano con tiempo de retención 19.72, el pico numero 3 corresponde al Ester pentadecil del ácido cloropropionico con tiempo de retención 20.9, el pico número 4 es octadecáno con tiempo de retención 24.33, el pico numero 5 corresponde a tetracosanol-1 , el pico numero 7 al escualeno con tiempo de retención 27.04

Cromatograma del cultivo 7

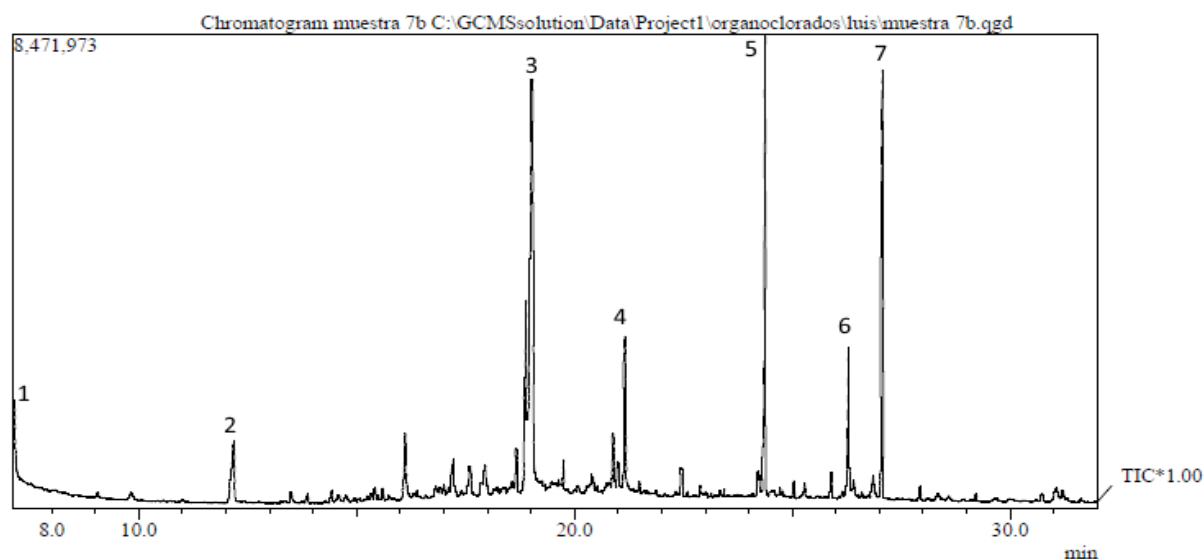


Grafico N. 21. Cromatograma cultivo número 7

Tabla N. 15. Compuestos correspondientes a cada pico del Cromatograma de la muestra del cultivo numero 7.

| PICO | NOMBRE DEL COMPUESTO | TIEMPO DERETENCIÓN (MIN) |
|------|----------------------|--------------------------|
| 1 | Acido nonanoico | 7.22 |
| 2 | Acido undecanoico | 12.18 |
| 3 | Acido hexadecánoico | 19.02 |
| 4 | Acido oleico | 20.87 |
| 5 | Octano,1,1.oxybis | 24.40 |
| 6 | 9-octadecanamida | 26.27 |
| 7 | Escualeno | 27.05 |

Para el cultivo numero 7 el Cromatograma muestra 7 picos principales, cuatro de ellos ácidos carboxílicos saturados tales como: el pico número 1 corresponde al ácido nonanoico con tiempo de retención 7.22, el pico numero 2 al ácido undecanoico con tiempo de retención 12.18, el pico numero 3 al ácido hexadecánoico con tiempo de retención 19.02, el pico numero 4 al ácido oleico con tiempo de retención 20.87.

El pico numero 5 corresponde al octano, 1,1-oxybis con tiempo de retención 24.40, el pico numero 6 corresponde a 9-octadecanamida con tiempo de retención 26.27, y el pico numero 7 al escualeno con tiempo de retención 27.05.

De forma general, los cromatogramas de los 7 cultivos muestran un mismo patrón de resultados, donde hay una serie de compuestos identificados que corresponden a categorías diferentes a organoclorados, que para el objetivo principal de esta investigación, es lo que se pretende determinar. Ya que ningún pico de los 7 cromatogramas arrojo un plaguicida, se analizaron los demás para identificar los compuestos dentro del mismo; estos se establecieron en tres categorías:

1. Compuestos que hacen parte de los 8 estadios de maduración del lulo

Estos compuestos hacen parte de los cambios y transformaciones que sufre el fruto en su interior, donde a medida que va cambiando de estadio aparecen algunos nuevos compuestos, y desaparecen otros. Así las sustancias identificadas para esta categoría encontramos algunos ácidos carboxílicos saturados como: ácido nonanoico, ácido hexadecánoico, ácido octadecánoico, ácido nonadecánoico, ácido decanoico, ácido undecanoico y ácido oleico; los cuales hacen parte de ácidos grasos de productos vegetales, además de algunos productos industriales por su actividad anti fúngica. Además de estos ácidos encontramos escualeno que fue el único compuesto que se mantuvo en 6 de los 7 cromatogramas con un tiempo de retención siempre constante, este es un compuesto orgánico presente en estructuras animales y vegetales.

Para el caso de los ácidos carboxílicos como el ácido hexadecánoico, que presenta diferentes tiempos de retención en los diferentes cromatogramas o en el mismo Cromatograma, esto se debe a que alguno de los átomos se

encontraba protonado, lo que hace que el peso molecular varíe, por tanto la intensidad lo que lleva a que se generen diferentes tiempos de retención. Además de estos aparecen algunos esteres unidos a algunos ácidos como Ester hexadecilo, que son los que general el olor característico de algunas frutas; El olor del lulo es bastante característico, por tanto los esteres son compuestos característicos de la fruta.

2. Compuestos que utiliza el cromatógrafo para su limpieza o solvente de micro extracción

El uso de algunos solventes para la limpieza de la aguja del inyector, o el octanol que se utiliza para la membrana hueca, son compuestos que debido a la sensibilidad de la técnica, logran detectarse y por tanto aparecen como picos en los cromatogramas, uno de estos es el isoctano.

3. Compuestos ajenos al cromatógrafo y la fruta

Algunos picos indican la presencia de otros compuestos tales como: epóxido citronelol, floruro-decano; 6,1,1-dimetyl-2-4-10-dodacatrien-1-ol, 3-tridecano, los cuales hacen parte de sustancia diferentes al cromatógrafo o al fruto, las cuales pueden aparecer en caso de que la muestra entre en contacto en algún materia en el laboratorio u otros factores; al ser el cromatógrafo un instrumento supremamente sensible, estos compuestos son detectados y por tanto incluidos en el Cromatograma. Por esta razón hay muchos picos que no se nombraron ni describieron, ya que corresponden a sustancias que no son parte del objetivo de la investigación.

El no hallazgo de ningún residuo de plaguicidas en el orden de organoclorados, es un resultado positivo frente al planteamiento del problema en cuanto a la calidad de ciertos productos agrícolas cosechados en nuestra región, y consumido a nivel nacional e internacional. Este resultado es bastante confiable ya que la determinación de la muestra dopada se hace con el fin de saber si el cromatógrafo está detectando los organoclorados presentes en el laboratorio; como se muestra en el gráfico número 1, en el Cromatograma de la muestra general dopada, el cromatógrafo detecta varios picos que hacen parte de estos plaguicidas, donde la muestra que se inyectó estaba a tan solo 1ppm de concentración

de la solución de todos estos organoclorados del inventario del laboratorio. Además de que la técnica de micro extracción con la membrana hueca de polipropileno, permite concentrar mejor las sustancias diferentes al agua, para este caso los residuos de plaguicidas.

Existe la posibilidad de encontrar residuos de plaguicidas en la pulpa del lulo de estos cultivos, sin embargo se presentarían a nivel de trazas o concentraciones insignificantes que puedan afectar de algún modo la salud humana. Para esto se podría hacer otra determinación empleando otro detector como el FID (ionización en llama) o DCE (detector de captura de electrones), ya que por su sensibilidad permitirían identificar algunos de estos compuestos organoclorados, en caso de que estén presentes en la pulpa.

La ausencia de los residuos de plaguicidas en la pulpa del lulo puede presentarse a la buena función protectora de la cascara, que junto con la pelusa podrían estar generando una membrana que mantenga protegida la pulpa de estos compuestos. También puede tratarse de un correcto uso de las cantidades de plaguicidas aplicados a los cultivos, por lo que no se afecta la pulpa del fruto; o de la eficiencia de estos productos en la afectación únicamente del organismo que esté atacando a la planta, y no al fruto.

Esta determinación se realizó con los estándares de los 11 organoclorados presentes en el laboratorio, por esto solo se puede asegurar la usencia de organoclorados, aunque también se puede hace análisis para identificar organofosforados u organonitrados que también son muy frecuentes en los productos agrícolas que utilizan los cultivadores para el manejo de las diferentes plagas que presenta el lulo.

7. CONCLUSIONES

- Se realizó la determinación de residuos de plaguicidas en la pulpa de lulo del corregimiento de Zuluaga del municipio de Garzón (H), cuyo resultado fue la ausencia total de cualquier residuo de plaguicida del orden de organoclorados; Por tanto tampoco hay cuantificación de cada uno de estos compuestos.
- El límite máximo de residuos permitido en alimentos, para este caso el lulo, no es superado, ya que no hay presencia de ningún organoclorados, y en caso de que se utilizara otro detector y se hallara alguno, la concentración sería menor a 1 ppm, valor que no supera el límite máximo establecido por el CODEX ALIMENTARIUS.
- los proyectos del ministerio de agricultura como buenas prácticas agrícolas (BPA), tiene deficiencias en cuanto a la cobertura para la aplicación de plaguicidas y mantenimiento de cultivos, ya que el cultivado aun utiliza mecanismos de aplicación que no tiene mayor control.
- La técnica de micro extracción en fase líquida con la membrana hueca de polipropileno, permite no solo una buena pre concentración de los análisis para lograr un análisis confiable, sino también es una herramienta bastante convencional que hace parte de la química verde, ya que reduce la utilización de solventes a cantidades en micro litros.

8. RECOMENDACIONES

Para profundizar y complementar el presente estudio se hace las siguientes recomendaciones:

1. Realizar la determinación de residuos de plaguicidas en la cascara del lulo, para verificar que estos compuestos organoclorados solo queden en el exterior, sin afectar la pulpa que es lo que se consume y podría afectar la con el tiempo la salud de sus consumidores.
2. Repetir el análisis de los cultivos, incluyendo en este los plaguicidas del orden de organofosforados y organonitrados para certificar así la ausencia total de cualquier residuo de plaguicida en la pulpa de la fruta.
3. Hacer nuevamente la determinación de residuos de plaguicidas en los cultivos por cromatografía de gases, utilizando un detector FID y uno de captura de electrones para ampliar el intervalo de confianza del resultado.
4. Gestionar en diferentes organizaciones para obtener el financiamiento del proyecto, ya que las investigaciones con presupuesto limitado como esta, tienden a presentar muchas dificultades que pueden afectar la misma.

9. PRESUPUESTO

| rubro | Detalle | valor individual | total |
|-----------------------|---|------------------|----------------|
| Transporte muestreo | Garzón-Neiva ida y vuelta | 10000 c/u | 20000 |
| | Garzón- Zuluaga ida y vuelta | 6000 c/u | 36000 |
| Transporte análisis | Neiva-Manizales ida y vuelta | 65000 c/u | 130000 |
| Hospedaje muestreo | 2 días/ 1 noches | 25000 c/u | 25000 |
| Hospedaje análisis | 6 días/ 5 noche | 25000 c/u | 125000 |
| Alimentación muestreo | Desayuno, almuerzo y cena diarios por tres días | 5000 c/u | 30000 |
| Alimentación análisis | Desayuno, almuerzo y cena diarios por 6 días | 5000 c/u | 90000 |
| Neveras | 2 neveras Transporte de muestras | 30000 c/u | 60000 |
| Bolsas ziploc | | 15000 | 15000 |
| alcohol | Frasco 80 ml | | 15000 |
| octanol | Frasco 50 ml | 150000 | 150000 |
| Micro jeringas | Paquete | 300000 | 300000 |
| Análisis de muestras | 7 muestras | 100000 c/u | 700000 |
| | | TOTAL | 1696000 |

10. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

| | MESES | | | | | | |
|--|-------|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Elaboración del anteproyecto: Planteamiento del problema, Revisión bibliográfica, presentación de avances | | | | | | | |
| Selección del área de estudio y solicitud de permisos para realizar el muestreo | | | | | | | |
| Optimización del método de extracción y preparación de materiales y reactivos | | | | | | | |
| Muestreo y análisis cromatográfico. | | | | | | | |
| Revisión de resultados, evaluación del análisis y finalización del proyecto | | | | | | | |
| Sustentación, socialización y publicación del análisis. | | | | | | | |

11. REFERENCIAS

- Szpyrka. E, Kurdziel. A (2013) Instituto de Investigación Protección Nacional, Polonia <http://www.sciencedirect.com>
- Yan-Fei, Liu-Qianqian, Fang-Weilia, YiDinga, Zi-JunYanga, Ming-LinWanga. (2013) Colegio de Ciencias de los Alimentos e Ingeniería de la Universidad Agrícola de Shandong, provincia de Shandong, China, Colegio de Protección Vegetal de la Universidad Agrícola de Shandong, China. <http://www.sciencedirect.com/>
- Paz M, Correia-S L, Becker H, Longhinotti E, Domingues V, Delerue-Matos C.(2014) Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidad Federal do Ceara (UFC), Fortaleza, CE, Brasil. <http://www.sciencedirect.com/>
- España J, Guerrero J .Departamento de química. (2013) Universidad Nacional de Colombia. Colombia (<http://www.sciencedirect.com/>)
- Moreno M, Guerrero J. (2010) Revista colombiana de química. Universidad Nacional de Colombia. <http://sinab.unal.edu.co>
- Bourdon R, Guerrero J. (2002), Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Colombia (<http://sinab.unal.edu.co>)
- Pinzón. M, Londoño A, Blach D, Gutiérrez J, Rojas A. (2011).Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Quindío. Colombia (<http://sinab.unal.edu.co>)
- 2011, Montaña M, Guerrero J. Revistas electrónicas UN: Revista Colombiana de Química. (2011)Colombia.(<http://sinab.unal.edu.co>)
- ScienceDirect. Investigación científica, técnica y médica <http://www.sciencedirect.com/>
- Universidad Nacional De Colombia, Dirección Nacional De Bibliotecas. Base de datos. <http://sinab.unal.edu.co/index.php/recursos-bibliograficos/bases-de-datos>.
- LA NACIÓN, NEIVA. Martes, 18 Febrero 2014. Huila, principal despensa frutícola del país. <http://www.lanacion.com.co/index.php/economica/item/230438-huila-principal-despensa-fruticola-del-pais> .
- Organización Mundial De La Salud. Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html>

- El Centro de Eco genética y Salud Ambiental, Universidad de Washington, 5/2012 https://depts.washington.edu/ceeh/downloads/FF_Pesticides_SP.pdf
https://depts.washington.edu/ceeh/downloads/FF_Pesticides_SP.pdf
- *El Espectador*, Salud 30 Mar 2015. Calidad del esperma está relacionada con el consumo de productos que tienen pesticidas
<http://www.elespectador.com/noticias/salud/calidad-del-esperma-esta-relacionada-el-consumo-de-prod-articulo-552474>
- Campos, I (2000) saneamiento ambiental. Primera edición. Editorial universidad estatal a distancia San José. Costa Rica.
- ¹Cromatografía de gases. Museo nacional de ciencias naturales. España.
http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio//es_ES//investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf
- Gutiérrez. M, Droguet M. (2002) identificación de compuestos volátiles por cg-ms. Boletín Intertex. Pág. 37
<https://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/2733/1/5CROMGASES.pdf>
- Ramos Payán, M.D. (2011) micro extracción en fase líquida usando membranas líquidas soportadas sobre fibras huecas (HF-LMPE, hollowfiberbasedliquidphasemicroextraction) como procedimiento de pre concentración y limpieza para la determinación de matrices biológicas y ambientales. <http://fondosdigitales.us.es/tesis/tesis/1743/microextraccion-en-fase-liquida-usando-membranas-liquidadas-soportadas-sobre-fibras-huecas-hf-lpme-hollow-fiber-based-liquid-phase-microextraction-como-procedimiento-de-preconcentracion-y-limpieza-para-la-determinacion-de-farmacos-en-matrices-biologicas-y-ambientales/>
- Quinchia. F, Cabrera, C (2006) Manual técnico del cultivo de lulo. Primera edición. Litocentral Ltda. Neiva
- Constitución nacional de Colombia
- <http://www.codexalimentarius.org/standards/lmr-de-plaguicidas/es/>

12. ANEXOS

ANEXO A: Cultivo número 1, Libardo Cabrera. 1200 plantas de lulo.



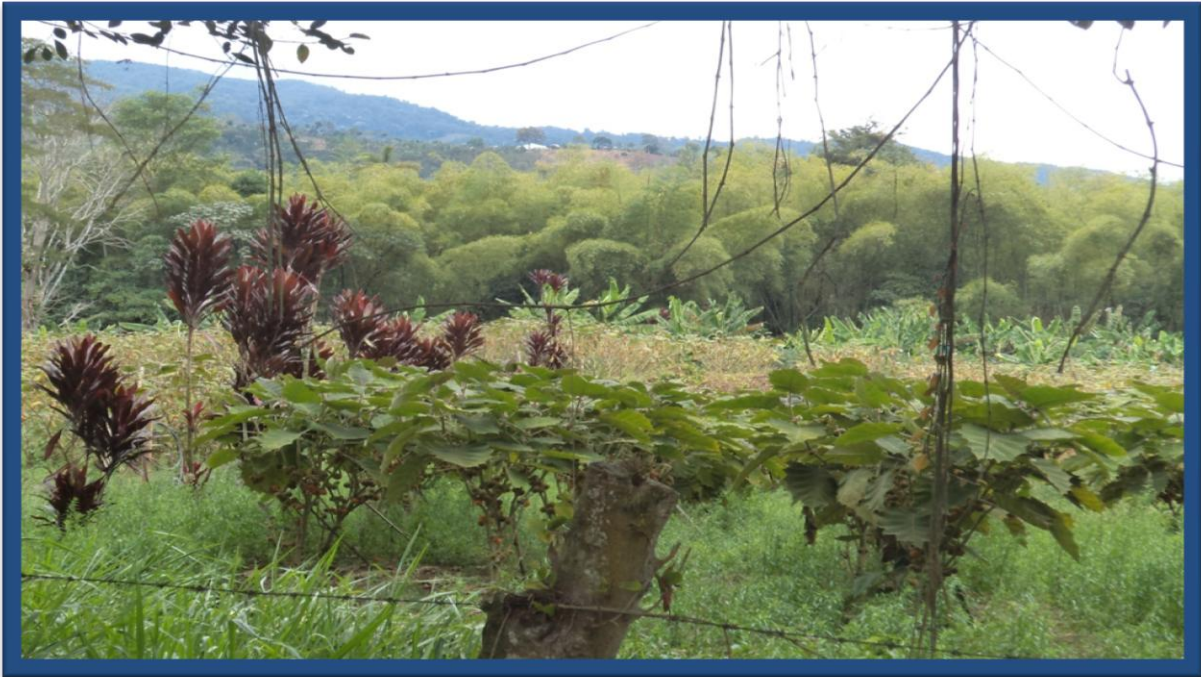
ANEXO B: cultivo número 2, Robín Moreno. 6500 plantas de lulo.



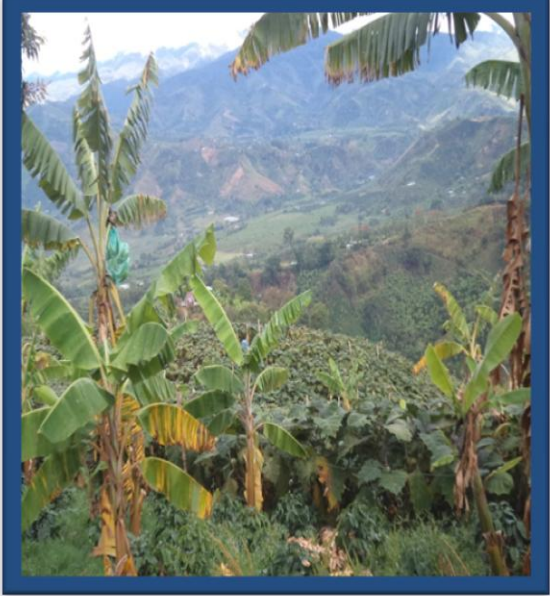
ANEXO C: cultivo número 3, Robín Moreno. 6800 plantas de lulo.



ANEXO D: cultivo número 4, Edilberto Wilombo. 500 plantas de lulo.



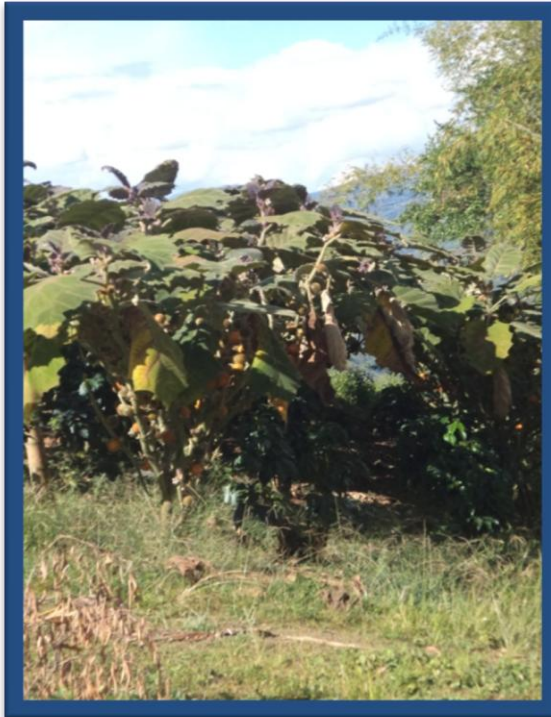
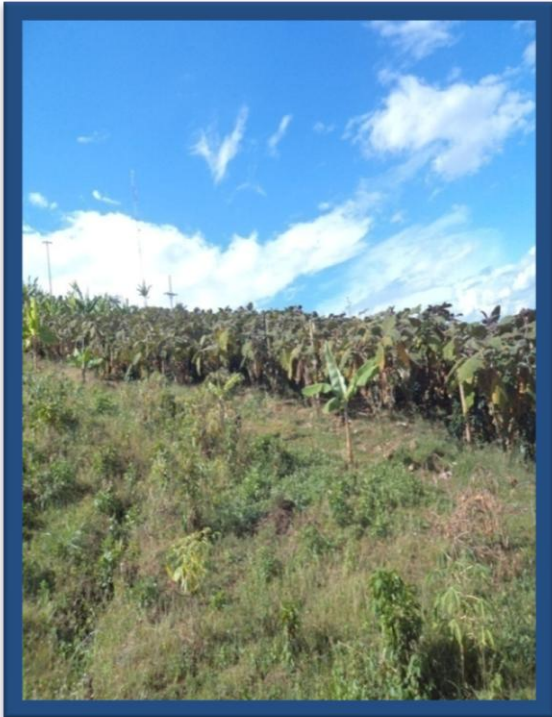
ANEXO E: cultivo número 5, Dagoberto Navarrete. 1700 plantas de lulo.



ANEXO F: cultivo número 6, Ronald Carballo. 1000 plantas de lulo.



ANEXO G: cultivo número 7, Ronald Carballo. 1300 plantas de lulo.



ANEXO H: Grupo de investigación en cromatografía de gases y líquida, maestría en química, universidad de Caldas.



ANEXO I: norma nacional de límite máximo de residuos en alimentos

RESOLUCION 1142

LA SECRETARIA GENERAL DE LA COMUNIDAD ANDINA,

VISTOS: La Decisión 515 de la Comisión de la Comunidad Andina que aprueba el Sistema Andino de Sanidad Agropecuaria, la Decisión 436 que aprueba la Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola y la Decisión 483 que aprueba las Normas para el registro, control, comercialización y uso de productos veterinarios y,

CONSIDERANDO: Que el 21 de setiembre de 2007 el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo de Colombia, mediante comunicación electrónica, notificó a la Secretaría General la Resolución N° 2906, emitida por el Ministerio de la Protección Social de Colombia, para que, de conformidad con el artículo 35 de la Decisión 515, se procediera al trámite correspondiente para su inscripción en el Registro Subregional de Normas Sanitarias y Fitosanitarias;

Que, de acuerdo con el procedimiento establecido en los artículos 34, 35 y 36 de la Decisión 515, la Secretaría General, mediante comunicación SG-X/2.22.48/927/2007 del 01 de octubre de 2007, dio inicio al trámite de Registro Subregional poniendo en conocimiento de los Países Miembros la referida Resolución;

Que la Resolución N° 2906 establece los Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas -LMR- en alimentos para consumo humano y en piensos o forrajes;

Que, a la fecha, la Secretaría General no ha recibido observación alguna de ningún País Miembro en el sentido de oponerse a la inscripción de la Resolución N° 2906 en el Registro Subregional de Normas, habiéndose cumplido el plazo para que los Países Miembros se pronuncien al respecto;

Que, la Secretaría General ha revisado la Resolución N° 2906 del Ministerio de la Protección Social, con la cual se establecen los Límites Máximos de Residuos de Plaguicidas - LMR, en alimentos para consumo humano, en piensos y forrajes, y considera que esta norma no se contrapone con el Régimen Normativo Andino en las áreas de sanidad animal y sanidad vegetal, ya que en ella se adopta lo establecido por el CODEX Alimentarius, según lo consignan en el artículo 3° de la Resolución;

Esta base de datos contiene **los límites máximos de residuos del Codex** para los plaguicidas y **los límites máximos para residuos extraños** adoptados por la Comisión del Codex Alimentarius hasta su 36° período de sesiones, inclusive (julio de 2013).

En la base de datos, los usuarios pueden obtener información acerca de los límites máximos de residuos (LMR) del Codex y los límites máximos para residuos extraños (LMRE) tanto para un plaguicida como para varios, y para un producto básico o un grupo de ellos. Los nombres y las definiciones de los productos básicos se pueden encontrar en la Clasificación del Codex de Alimentos y Piensos.

Los alimentos enumerados no deben contener una cantidad mayor de residuos de plaguicidas (definidos, individualmente, en la definición del residuo) que la que señala el LMR o LMRE (en mg/kg) en a) el punto de entrada en un país o b) el punto de entrada en los canales comerciales de un país. Dicho límite máximo no se podrá exceder a partir de entonces.

Los LMR y LMRE son de aplicación para el contenido en residuos de la muestra final representativa del lote y de la porción de los productos básicos analizados.(constitución nacional de Colombia)

El límite máximo de residuos de plaguicidas en lulo, se establece de acuerdo al organoclorado que se esté determinando; así como lo muestra la tabla N. 5

Tabla N. 16 límite máximo de residuos permitidos en alimentos

| ORGANOCOLORADO | LIMITE MAXIMO DE RESIDUOS | AÑO DE ADOPCIÓN |
|-----------------------|----------------------------------|------------------------|
| Aldrin | 0,05 mg/Kg | 1997 |
| Dieldrin | 0,05 mg/Kg | 1997 |
| Endrin | 0,05 mg/Kg | 1997 |
| DDT | 0,2 mg/Kg | 1997 |
| Heptacloro | 0,01 mg/Kg | |
| Lindano | 0,01 mg/Kg | 2004 |
| Carbofuran | 0.02 mg/Kg | 2001 |
| Aldicarb | 0.02 mg/Kg | |
| Carbarilo | 15 mg/Kg | 2013 |

Límites máximos de residuos en alimentos permitidos en frutas para los 9 organoclorados citados según el CODEX ALIMENTARIUS.

(<http://www.codexalimentarius.org/standards/lmr-de-plaguicidas/es/>)

