

DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DEL HERBICIDA 2,4-DICLOROFENOXI-ÁCIDO ACÉTICO EN NARANJILLA (*Solanum quitoense*) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

DETERMINATION OF 2,4-DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID
HERBICIDE RESIDUES IN NARANJILLA (*Solanum quitoense*)
BY GAS CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUE

Gabriela Cueva T.¹

Palabras claves: naranjilla, 2,4-Diclorofenoxi ácido acético, herbicida
Keywords: naranjilla, 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid, herbicide

RESUMEN

El objetivo del presente estudio, fue utilizar la cromatografía de gases para determinar los niveles de residualidad del herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético en naranjilla (*Solanum quitoense*). Muestras de esta fruta fueron tomadas de tres centros de expendio popular o mercados ubicados en el centro, sur y norte de la ciudad de Quito. Para el análisis y cuantificación del herbicida se utilizó un método continuo de extracción, hidrólisis y esterificación ácida, al convertir el 2,4-Diclorofenoxi ácido acético al derivado 2,4-Diclorofenoxi metil éster, el cual se examinó mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones (ECD). Los resultados mostraron que el 100% de las muestras estaban contaminadas por el herbicida, con un nivel de residualidad superior

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas. Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas. Quito, Ecuador (gfcueva@puce.edu.ec).

al permitido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés).

ABSTRACT

The aim of the present study was to use gas chromatography analysis to determine the residual levels of the herbicide 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid in naranjilla (*Solanum quitoense*). Samples of this fruit were taken from three popular markets located in central, south and north of Quito city. For the analysis and quantification of this pesticide a continuous extraction method was, acid hydrolysis and esterification converting the 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid to the derivative 2,4-Dichlorophenoxy methyl ester, which was examined by gas chromatography with Electron Capture Detector (ECD). The results showed that 100% of the samples were contaminated with the herbicide 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid, with a much higher residual level permitted by Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

INTRODUCCIÓN

La demanda de alimentos en los países del mundo entero crece considerablemente por el crecimiento demográfico. Diariamente se requiere mayor producción de alimentos y en los países en vías de desarrollo, una gran parte de la población se dedica a actividades agrícolas acorde con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). El Ecuador por su posición geográfica, las corrientes marinas y el clima es un país privilegiado entre los de América Latina, es

enteramente un territorio cultivable y debido a estos factores atmosféricos, existe una gran diversidad de ecosistemas y microclimas, lo cual genera un óptimo desarrollo de la agricultura en todas las regiones, además la facilidad de encontrar a la mayoría de los productos vegetales durante todo el año, lo cual no ocurre en otros países.

Pero conjuntamente para la obtención de productos sanos y agradables a los sentidos, se utilizan sustancias químicas como los plagui-

cidas o biocidas, que eliminan y controlan plagas sean estas animales, insectos, hongos y/o bacterias. Estos químicos igualmente son usados como hormonas de crecimiento, fertilizantes de proteínas y sirven para mejorar el tamaño y aspecto del alimento y aumentar así la productividad (Carrera, 2009).

A pesar de las ventajas que brindan los plaguicidas a la agricultura, estos poseen grandes inconvenientes como la toxicidad en animales, plantas y ser humano. Algunas de estas sustancias químicas ya han sido materia de estudios bioquímicos, impactos en la salud y el ambiente y han sido aprobados o rechazados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la FAO.

En nuestro país, a pesar que el uso y comercialización de los pesticidas está bajo el control de entidades gubernamentales pertinentes, y que existen en registros oficiales los productos químicos prohibidos o restringidos, aún se siguen utilizando productos agroquímicos de categorías de toxicidad II y III de acuerdo con Agrocalidad, Ecuador. El mal uso de los plaguicidas contamina el entorno

próximo natural, sea este las plantas, suelo, agua, y adicionalmente erradica insectos buenos y malos, crea resistencia y causa graves alteraciones en la cadena trófica (Pazmiño, 2001). En este estudio se analizó mediante cromatografía de gases, los niveles residuales del herbicida 2,4-D en naranjilla (*Solanum quitoense*) en la variedad "naranjilla de jugo" o "bola". El 2,4-Diclorofenoxi ácido acético (2,4-D o 2, 4-D éster) es un herbicida "selectivo" defoliante y a la vez estimulador de crecimiento, por su modo de acción similar a la hormona de crecimiento vegetal auxina (ácido indol-3-acético). Ataca a las plantas de hoja ancha únicamente a la vez que estimula el crecimiento de plantas con hoja delgada (Bejarano, 2007); los productores aplican de 4 a 6 veces este producto para incrementar el tamaño del fruto a pesar de los efectos tóxicos que presenta el resto de la planta (Vásquez, 2011). Presenta grado de toxicidad II o moderado y fue uno de los componentes del "Agente naranja" usado en la Segunda Guerra Mundial. En 1998, un estudio de niveles residuales de herbicidas y pesticidas realizado en naranjilla y tomate de árbol mediante la técnica inmuno-

enzimática ELISA², reveló que el 100% de las muestras de naranjilla analizadas poseían contaminación de 2,4-Diclorofenoxi ácido acético en un rango de 28–2121 mg/Kg (Lucio, 1998). Estos niveles indicaron 20 veces la tolerancia establecida por la FAO de 0,1 mg/Kg. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo

fue conocer los niveles de residuos del herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético, en naranjilla mediante el análisis químico cuantitativo por cromatografía de gases y determinar si las cantidades encontradas están dentro o no de los límites permitidos por Organismos internacionales (FAO/OMS).

MÉTODO Y MATERIALES

El estudio se realizó en la provincia de Pichincha, cantón Quito, Distrito Metropolitano de Quito en el año 2002. Fueron seleccionados tres (3) centros de abastecimiento de productos agrícolas: Mercado Mayorista (sector sur), Mercado San Roque (sector centro) y Mercado de Cotacollao (sector norte), debido a que gran parte de la producción de esta fruta era transportada desde el Oriente ecuatoriano (sectores de Baeza, Napo y Tena) y llegan a estos centros de expendio. El muestreo se realizó de acuerdo con el criterio de la FAO para el muestreo de vegetales para análisis de herbicidas y plaguicidas, se adquirieron “lotes” de entre 5 a 10 unidades en tres puestos de venta diferentes, sin selección previa. Cada

lote o muestra fue pesado, etiquetado y conservado en refrigeración por un lapso no mayor a 2 días hasta su posterior análisis. De cada lote se obtuvo una muestra representativa de 50 gramos, mediante corte, homogenización y cuarterización de las frutas picadas (Pazmiño, 2001).

El método empleado fue el de W. Keller y S. Otto (Peter, 1992), para herbicidas organoclorados, y consiste en la extracción metílica, hidrólisis y posterior esterificación del herbicida (Figura 1). La extracción metílica es realizada con una dilución acuosa de metanol al 20%, luego se filtra continuamente eliminando residuos sólidos y se alcaliniza con hidróxido de sodio NaOH 10M. Posterior-

² ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay.

mente este filtrado pasa por una extracción con diclorometano y la fase acuosa resultante es acidificada con solución de ácido sulfúrico 3M. Se la somete nuevamente a tres extracciones consecutivas con diclorometano puro, para luego concentrarlo me-

dante evaporación a sequedad. Finalmente se realiza el proceso de metilación y esterificación de este concentrado mediante la adición de metanol acidulado, la extracción con n-Hexano y el secado con sulfato de sodio anhidro Na_2SO_4 .

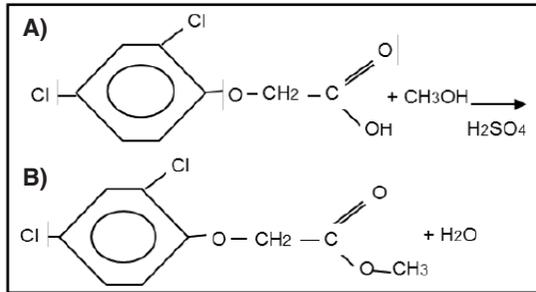


Figura 1. Esterificación del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético.
El 2,4-Diclorofenoxi ácido acético (A) junto con el metanol acuoso (20%), en presencia de ácido sulfúrico 3M genera el 2,4-Diclorofenoxi metil éster (B)

La detección y cuantificación del herbicida en su forma esterificada, se realizó mediante Cromatografía de gases con las siguientes condiciones: Cromatógrafo Hewlett Packard HP 5890 A, SE-54, integrador HP 3392A, flujo de N_2 con detector de captura de electrones ECD (límite de detección usual del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético 0.05mg/Kg (Peter, 1992)).

La cuantificación del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético, está dada por una

técnica de calibración (Peter, 1992). Para cada lote o grupo de muestras se elaboró una curva de calibración, que consistió en inyecciones de un volumen de 0.5 μl de soluciones de 2,4-Diclorofenoxi metil éster en tres diferentes concentraciones (0.05, 0.1 y 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) al cromatógrafo de gases; igualmente se realizó la inyección de 0.5 μl de la muestra y se graficó las áreas de los picos obtenidos versus las concentraciones, a fin de interpolar el área de la muestra y obtener el valor de la concentración,

aplicar los cálculos respectivos dados por la técnica utilizada y de esta manera obtener el porcentaje de recuperación y la concentración del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético de cada muestra.

Este trabajo fue realizado en los laboratorios del Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria SESA, ubicados en la Granja Experimental del Ministerio de Agricultura y Ganadería, en Tumbaco, Ecuador, año 2002.

RESULTADOS

Mediante las lecturas del integrador del cromatógrafo de gases y las curvas de calibración de soluciones del 2,4-Diclorofenoxi metil éster en diferentes concentraciones (0.05, 0.1 y 0.2 µg/ml) se obtuvieron los resultados de los tres muestreos. Los cálculos fueron establecidos por el método analítico empleado (Peter, 1992), en donde el Residuo *R*, es ex-

presado en mg/Kg de 2,4-Diclorofenoxi ácido acético; en el primer muestreo o lote 1 la cantidad de herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético obtenida en mg/Kg, presentó rangos entre 170.32 a 282.32 mg/Kg; en el lote 2 este rango va desde 76.26 a 240.54 mg/Kg y en el lote 3 las cantidades van desde 37.71 a 74.30 mg/Kg. (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético encontrada en los diferentes lotes y muestras analizadas en el ensayo

Muestreo o Lote 1		Muestreo o Lote 2		Muestreo o Lote 3	
Muestra*	2,4 - D (mg/Kg)	Muestra	2,4 - D (mg/Kg)	Muestra	2,4 - D (mg/Kg)
M1Mm	170,32	M1Mm	152,59	M1Mm	37,71
M2Mm	255,32	M2Mm	240,54	M2Mm	74,30
M3Mm	255,86	M3Mm	103,69	M3Mm	61,25
M1Sr	228,73	M1Sr	94,32	M1Sr	41,16
M2Sr	246,37	M2Sr	92,42	M2Sr	64,80
M3Sr	238,84	M3Sr	76,26	M3Sr	70,54
M1Cc	172,66	M1Cc	90,94	M1Cc	53,33
M2Cc	210,57	M2Cc	66,06	M2Cc	68,63
M3Cc	282,32	M3Cc	103,24	M3Cc	52,11

* Donde: Mm: Mercado Mayorista; Sr: San Roque; Cc: Cotocollao

Con respecto a los resultados se puede observar que el grado de residualidad del herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético en las muestras

de naranjilla es mayor en el primer lote y en los dos lotes siguientes se reveló una disminución del 50% en los niveles residuales (Figura 2).

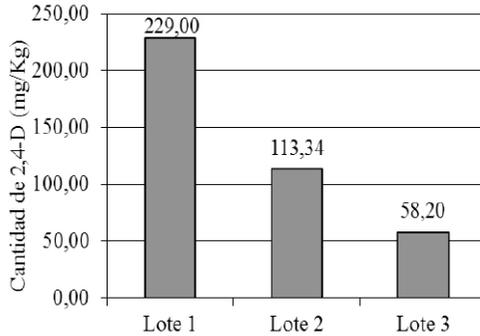


Figura 2. Cantidad (Promedio) de 2,4-Diclorofenoxi ácido acético por lotes de muestreo

Adicionalmente y en relación con la procedencia, se observó que en uno de los centros de expendio (Mercado Mayorista) se presentó un mayor índice de contaminación (promedio

150.18 mg/Kg) respecto a las muestras tomadas en los otros dos lugares de recolección (Figura 3), pero la diferencia no es muy marcada.

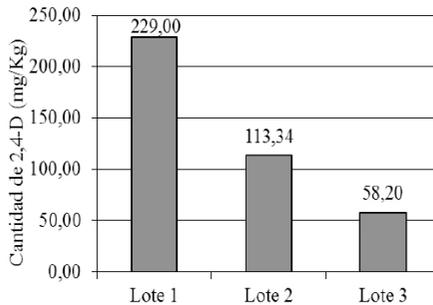


Figura 3. Cantidad (Promedio) de 2,4-Diclorofenoxi ácido acético por centro de expendio. Mm: Mercado Mayorista; Sr: San Roque; Cc: Cotocollao

DISCUSIÓN

El resultado de esta investigación reveló que todas las muestras de naranjilla analizadas (100%) presentan un nivel de contaminación residual del herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético en un rango que va desde los 37.7 mg/Kg hasta los 282 mg/Kg. Estos datos superan visiblemente el Límite Máximo Residual (LRM) del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético en naranjilla, que según datos de la EPA³ (1998) y de la FAO (2000) es de 0.1 mg/Kg.

Se realizó una prueba de recuperación del 2,4-Diclorofenoxi ácido acético mediante una muestra de 50 gramos de naranjilla libre de herbicida a la cual se adicionaron 200 µl de una solución diluida del herbicida. Esta muestra se sometió al mismo proceso analítico y se obtuvo un 100% de recuperación, lo cual indica la eficacia del método utilizado.

La IDA (Ingesta Diaria Admisible) es la cantidad máxima que una persona de un determinado peso y edad puede ingerir de una determinada

sustancia diariamente toda su vida sin correr riesgo, la cual es establecida por el CODEX Alimentario (OMS/FAO). Para el 2,4-Diclorofenoxi ácido acético es de 0,3 mg/Kg de peso corporal; para el 2010 el valor IDA-CODEX cambió a 0,01 mg/Kg. Al relacionar el valor IDP y el LMR permitidos con los resultados de este estudio, se observa que los valores encontrados de este herbicida, sobrepasan ampliamente a estos límites. Sin embargo, en una publicación de la EPA denominada *Diagnóstico y Tratamiento de los envenenamientos con Plaguicidas* (Morgan, 1982), los herbicidas ingeridos pueden eliminarse principalmente en la orina casi completamente en 24–72 horas, según el grado de absorción del tóxico y no existen evidencias de bioacumulación. Al ser la naranjilla un producto de consumo masivo y de alto contenido nutricional, es pertinente mencionar sobre el consumo en seres humanos. Se debe destacar que el 2,4-Diclorofenoxi ácido acético y sus derivados poseen una degradación rápida en el suelo por procesos químicos y biológicos

3 EPA: Environmental Protection Agency /OMS.

(Moreno & Lara, 1993). La materia orgánica, el pH y el aluminio intercambiable son factores que afectan la adsorción de este herbicida en el suelo (Bejarano, 2007).

La persistencia o acumulación del mismo herbicida puede darse bajo condiciones climáticas especiales (época seca o fría) en las cuales la actividad biológica se reduce, lo cual podría explicar la diferencia entre las concentraciones encontradas en los tres lotes de muestras analizadas. Se ha observado que las frutas de árboles o plantas tratadas retienen residuos de 2,4-D hasta por siete semanas (Bejarano, 2007). Existen reportes de la Organización Mundial de la Salud en los cuales se detalla que las cantidades ingeridas por alimentos contaminados por herbicidas

son muy bajas para ocasionar problemas en la salud, ya que se degradan rápidamente y son excretadas en la orina (Moreno & Lara, 1993). Estas afirmaciones podrían explicar la ausencia de reportes de intoxicación por ingesta de alimentos contaminados con plaguicidas, aunque no se han encontrado registros oficiales de este tipo de casos médicos. Debido a esto, se debe incrementar el estudio de la residualidad de los plaguicidas, efectos en la salud y técnicas alternativas para evitar el uso de pesticidas tóxicos de riesgo ambiental y humano, ya que esta información ayudaría al mejoramiento de la producción agrícola, su inocuidad y también al descubrimiento de posibles factores importantes causantes de enfermedades críticas como el cáncer (Ibrahim, 1991).

CONCLUSIONES

Las cantidades del herbicida 2,4-Diclorofenoxi ácido acético encontradas en todas las muestras de naranjilla analizadas, superan los límites permitidos por Organizaciones internacionales anteriormente mencionadas; sin embargo, no se han encontrado estudios comparativos entre el

nivel de residuos de plaguicidas en frutas con cáscara o sin ella, así como la diferenciación de resultados de residualidad entre frutas cocidas y crudas, ya sea de este herbicida u otro biocida en particular, por lo cual el país necesita incrementar estudios toxicológicos de los pesticidas que se

usan en gran parte de los cultivos existentes.

El Estado y las Organizaciones gubernamentales relacionadas con la agricultura estarían en el campo de la legislación, uso, manejo y futura erradicación de plaguicidas tóxicos en los cultivos. Es necesario implementar programas de educación y capacitación a los agricultores para el buen uso de agroquímicos, a fin de disminuir envenenamientos y problemas de salud en este sector. La implementación de los cultivos orgánicos en nuestro país debería incrementarse, ya que tanto nacional como internacionalmente los alimentos generados por esta técnica libre de químicos son altamente apreciados,

reciben mayores remuneraciones económicas y, como beneficio ambiental, el suelo tiende a recuperar su nivel agrícola óptimo. Las frecuentes aplicaciones de plaguicidas tienen la posibilidad del incremento en la concentración de estos agroquímicos en el suelo, lo cual ocasionaría a largo plazo una disminución en la velocidad de descontaminación natural del ambiente, un mayor impacto ambiental y problemas de salud en los seres humanos. Investigaciones sobre la permanencia y efectos de residuos de este herbicida en aguas y suelos, y estudios de biorremediación, podrían servir para obtener cultivos libres de contaminantes tóxicos y evitar complicaciones posteriores en el ambiente y en la salud pública.

LITERATURA CITADA

- Agrocalidad. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Disponible en www.agrocalidad.gob.ec.
- Bejarano, F., Souza, J., Rozas, M.E., Nivia, E., Ramírez, F., Cárcamo, H., González, H. (2007). *2,4-D Razones para su prohibición mundial*. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM). (1a.ed). México DF, México. [s.n.].
- Carrera, J. (2009). Evaluación del Efecto de Biorreguladores sobre la calidad y tamaño del fruto de Naranjilla (*Solanum quitoense*) en la localidad de Nanegalito. Proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al Título de Ingeniero Agropecuario. ESPE. Quito, Ecuador: [s.n.].
- Codex Alimentarius. FAO/OMS, Maximum limits for pesticide residues. Rome, disponible en www.codexalimentarius.org
- Environmental Protection Agency (EPA), OMS, disponible en www.epa.gov.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). Disponible en <http://www.fao.org>.
- Ibrahim, M.A., Bond G., Burke, T., Cole, P., Dost, F.N., Enterline, P.E., Gough, M., Greenberg, R., Halperin, E., McConnell, E., Munro, I.E., Swenberg, S., Zahm, S.H., and Graham, J.D. (1991). Weight of the Evidence on the Human Carcinogenicity of 2,4-D, *Environmental Health Perspectives*, 96, 213-222.
- Lucio, D., Espín, S., Soria, N. (1996). *Niveles residuales de plaguicidas en frutas andinas TOMATE DE ÁRBOL (Cyphomandra betacea S) y NARANJILLA (Solanum quitoense)*. IICA Prociandino - INIAP, Quito, Ecuador [s.n.].
- Moreno, A & Lara, E. (1993). *Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D). Guía para la salud y la seguridad N°5 Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud - Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ - WHO)*. ISBN 92 4 254329 9. México DF, México.
- Morgan, D. (1982). *Diagnóstico y Tratamiento de los envenenamientos con Plaguicidas*. (3a.ed.) Environmental Protection Agency EPA. Iowa. EUA.

- Pazmiño, O. (2001). *Plaguicidas en cinco hortalizas que se expenden en supermercados y mercados de la ciudad de Quito*. Tesis de grado previa a la obtención del Título de Doctora en Biología, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias de la Educación. Escuela de Biología. Quito, Ecuador [s.n.].
- Peter, T. & Kirchoff, J. (1992). *Manual of Pesticide Residue Analysis*. (vol. 2). DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft VHC Pesticide Commission, Germany.
- Vásquez, W., Viteri, P., Martínez, A., Villares, M., Ayala, G., Jácome, R. (2011). Naranja (*Solanum quitoense Lam.*): Tecnologías para mejorar la productividad y la calidad de la fruta. Estación Experimental Santa Catalina. Programa Nacional de Fruticultura INIAP Plegable No.275-1.