



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org

08308-S

Distr.
RESERVADA
UNIDO/IOI/75
24 enero 1977
Español

Organización de las Naciones Unidas
para el Desarrollo Industrial

(R) DETERMINACION DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN ALIMENTOS
POR CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO .

DP/URU/71/521.

URUGUAY.

por

José Alberola Matoses
experto de la Organización de las Naciones Unidas
para el Desarrollo Industrial,
organismo de ejecución del
Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

10.77-424

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, de parte de la Secretaría de las Naciones Unidas, juicio alguno sobre la condición jurídica de ninguno de los países o territorios citados o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras.

Aunque el presente informe ha sido objeto de ciertas modificaciones de forma, no ha sido editado conforme a las normas oficiales de las Naciones Unidas.

RESUMEN

El presente informe ha sido preparado por la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI) al finalizar la estadia de un experto de la ONUDI al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) (del 23 de noviembre al 22 de diciembre de 1976). La misión del experto forma parte del proyecto DP/URU/71/521, "Creación de un departamento para el control de calidad del cuero y artículos de cuero", del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), para el cual la ONUDI había sido designada organismo de ejecución.

Las funciones del experto eran:

- a) Asesorar al LATU sobre métodos adecuados para determinar los niveles de plaguicidas en alimentos;
- b) Asesorar sobre la evaluación de los resultados obtenidos con tales métodos.

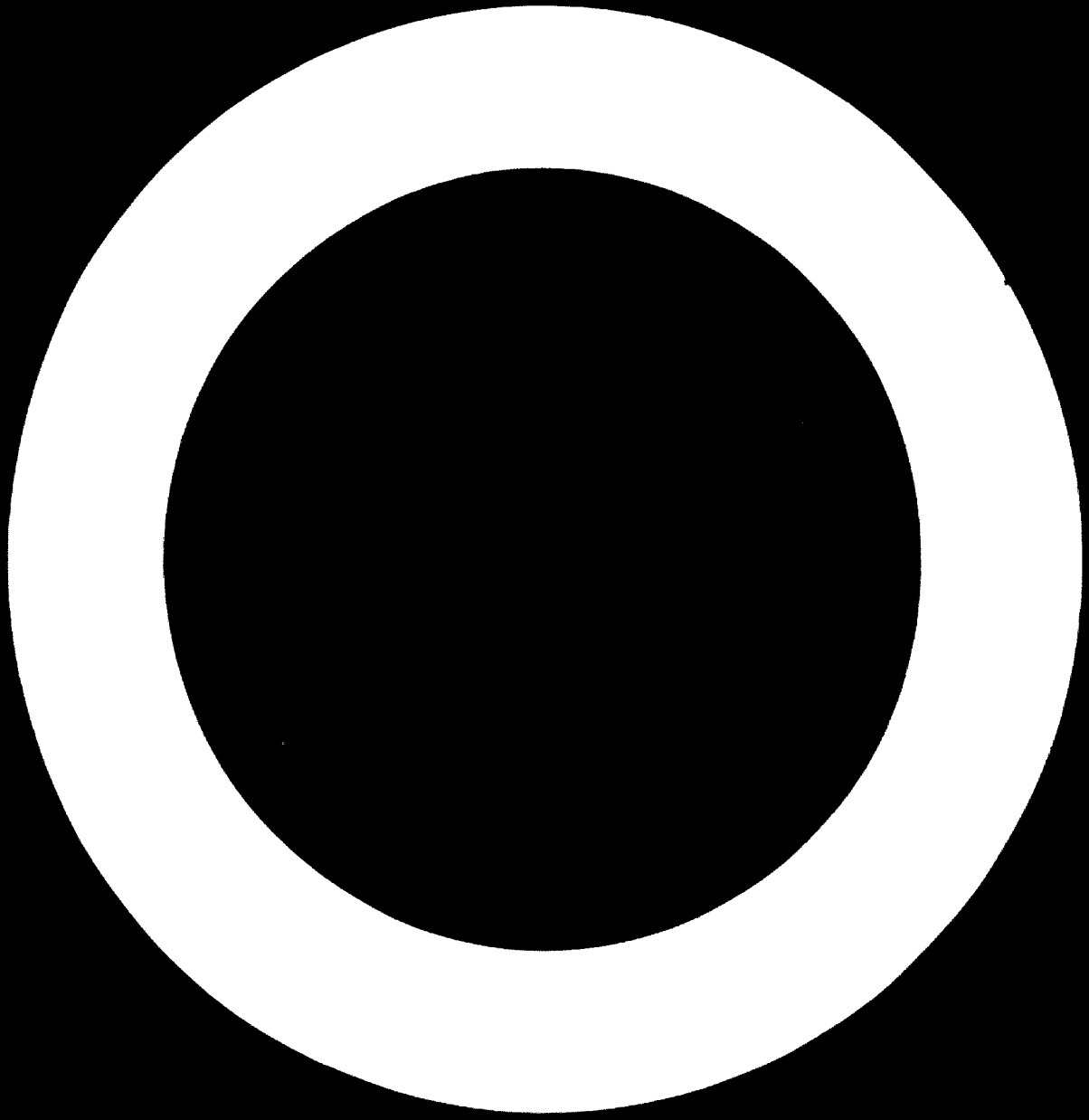
Durante su estadia se han puesto a punto, en líneas generales, los métodos para la determinación cualitativa y cuantitativa de residuos de plaguicidas en alimentos por cromatografía gas-líquido.

Para ello se han preparado y acondicionado las columnas más adecuadas y se han fijado los parámetros cromatográficos óptimos.

También se han purificado los disolventes y demás reactivos necesarios, comprobándose la efectividad de esta purificación por cromatografía gas-líquido.

Por otra parte se han situado en el cromatograma distintos plaguicidas calculándose sus retenciones relativas respecto al aldrin y se ha construido, como ejemplo, una curva de calibrado para uno de los patrones.

Por último, se han llevado a cabo las operaciones necesarias para la determinación de los residuos de plaguicidas en algunas muestras de alimentos grasos y no grasos.



INDICE

<u>Capítulo</u>	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	6
II. LABOR REALIZADA	8
Bibliografía de referencia	8
Preparación de materiales	8
Purificación de reactivos y ensayo ^{test} de pureza de los mismos	9
Parámetros cromatográficos utilizando el detector de captura de electrones	10
Construcción de curvas de calibrado de plaguicidas patrones	10
Determinación de residuos de plaguicidas	11
III. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	12
Bibliografía	14

INTRODUCCION

El presente informe ha sido preparado por la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI) al finalizar la estadía de un experto de la ONUDI al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) (del 23 de noviembre al 22 de diciembre de 1976). La misión del experto forma parte del proyecto DP/URU/71/521, "Creación de un departamento para el control de calidad del cuero y artículos de cuero", del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), para el cual la ONUDI había sido designada organismo de ejecución.

Las funciones del experto eran:

- a) Asesorar al LATU sobre métodos adecuados para determinar los niveles de plaguicidas en alimentos;
- b) Asesorar sobre la evaluación de los resultados obtenidos con tales métodos.

La ingestión, en la dieta diaria, de alimentos de todo tipo contaminados por residuos tóxicos, lo que supone un peligro para la salud humana, es un problema que ha adquirido, desde hace unos años, un interés internacional.

A la contaminación de los alimentos que forman parte de la dieta diaria, contribuyen, de manera importante, los residuos de los plaguicidas químicos empleados en la protección de las cosechas.

Indudablemente, los plaguicidas químicos, han contribuido a aumentar la producción de cultivos agrícolas, haciendo que, en muchas ocasiones, la agricultura sea rentable, no sólo por la cantidad de los productos sino por su calidad. Desgraciadamente, el empleo de plaguicidas (insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc.) no está exento de riesgos para todas las formas de vida de la naturaleza, si bien a distintos niveles.

En general, los plaguicidas son venenos mortales para insectos, malas hierbas, hongos, etc. pero, en algunas ocasiones, son también tóxicos potenciales para otros seres vivos, debido a la acumulación de algunos de ellos en distintos órganos y tejidos.

Dado que el empleo de los plaguicidas no disminuye sino que, por el contrario, aumenta, las autoridades sanitarias de los distintos países - y algunas organizaciones internacionales (FAO, OMS, etc.) han mostrado - su preocupación ante los problemas toxicológicos que puedan derivarse de la presencia de residuos de plaguicidas en los productos alimenticios y han establecido una serie de normas encaminadas, en primer lugar, al aprovechamiento de las ventajas que supone utilizar los plaguicidas eliminando, en lo posible, sus riesgos; y en segundo lugar, a regular la cantidad máxima permisible de cada uno de los plaguicidas que pueda existir en los alimentos destinados al consumo humano.

En Estados Unidos, las tolerancias residuales de plaguicidas, se establecieron en 1954, mediante una modificación de su legislación alimentaria.

En Inglaterra, el estudio sistemático de la contaminación de los alimentos por plaguicidas, se inició en 1961, publicándose los primeros resultados en 1966, (Egan, Holes, Roburn y Tatton).

En España, la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, aprobó, en 1969 un plan de investigación coordinada para el estudio de la contaminación por residuos de plaguicidas, en el que se incluía un proyecto de estudio de la contaminación de las frutas y hortalizas del mercado español.

Los resultados de este estudio fueron publicados en 1971 (Carrasco, - Cuñat, Martínez, Primo y Alberola).

Posteriormente (Carrasco, Cuñat, Martínez y Primo, 1972) se publicaron los resultados obtenidos en el estudio de los niveles de contaminación de varios grupos de alimentos constituyentes de la dieta media española.

La idea, universalmente aceptada, de la que se parte para el establecimiento de leyes sobre residuos, es que el grado de contaminación no debe ser superior, en ningún caso, ni a la máxima cantidad aceptada como inocua para el hombre en su ingestión a largo plazo, ni a las cantidades resultantes de una buena práctica agrícola.

A partir de este principio los organismos internacionales FAO, OMS y la Comisión del Codex Alimentarius, publican periódicamente los límites máximos internacionales recomendados para los residuos de plaguicidas en los alimentos.

Independientemente de estas normas internacionales, algunos países - han establecido sus propias tolerancias y exigen su cumplimiento tanto - para los productos producidos por ellos como para los productos importados. Estos límites de tolerancia varían de un plaguicida a otro y también dependen de los productos alimenticios considerados. Generalmente, - en las legislaciones vigentes suelen oscilar entre algunas centésimas de partes por millón (p.p.m.) a 10 ó más p.p.m.

Para poder llevar a cabo un estudio de los niveles de contaminación por plaguicidas químicos, de los productos alimenticios ingeridos por la población de cualquier país y también para poder cumplir con los requisitos impuestos por las legislaciones de los países importadores, es necesario disponer no solo de los métodos analíticos más adecuados para la identificación y cuantificación de todos y cada uno de los plaguicidas normalmente utilizados por los agricultores, sino también de personal debidamente entrenado para la aplicación de aquellos métodos.

Por ello, el Gobierno del Uruguay y el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) solicitaron de la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONU/DI), la contratación de un Consultor para la puesta a punto de los métodos para la determinación de residuos de plaguicidas en alimentos por cromatografía gas-líquido en el citado Laboratorio.

II. LABOR REALIZADA

Bibliografía de referencia

Para la puesta a punto de los métodos analíticos por cromatografía gas-líquido, se han seguido las directrices indicadas en las publicaciones de los siguientes organismos: Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.) y Food and Drug Administration (F.D.A.) del U.S. Department of Health, Education, and Welfare, ambos de Estados Unidos; Department of National Health and Welfare, de Canadá, e Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA) del Patronato de Investigación Científica y Técnica Juan de la Cierva (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) de Valencia, (España).

Además, se han utilizado otros trabajos publicados, cuya referencia se indicará en el lugar correspondiente.

Preparación de materiales

En primer lugar se hicieron las relaciones de material de laboratorio y productos químicos (de grado de pureza adecuado) necesarios para llevar a cabo el plan de trabajo previsto. La consecución de algunos materiales y productos fué muy difícil y laboriosa, demorándose algunos días poder conseguirlos todos.

También se comprobó el correcto funcionamiento del cromatógrafo de gases (Hewlett Packard, modelo 5750B, provisto de detector de captura de electrones de níquel 63).

Para la separación cromatográfica de los plaguicidas, se prepararon y acondicionaron dos columnas de vidrio de 2m de longitud y 4 mm de diá

metro interior, con las siguientes fases estacionarias:

Columna A: Silicona DC-200 al 10% sobre Gas-Chrom Q de 100---
120 mallas

Columna B: Silicona DC-200 al 10% sobre Gas-Chrom Q de 100---
120 mallas y Silicona QF-1 al 15%, sobre el mismo
soporte, mezcladas en la proporción 1:1.

El acondicionamiento de las citadas columnas se llevó a cabo en las
siguientes condiciones:

Columna A: Temperatura: 250°C; flujo de gas portador (argón):
35 ml/min; tiempo: 24 horas.

Columna B: Temperatura: 250°C; flujo de gas portador (argón):
35 ml/min; tiempo: 75 horas.

Purificación de reactivos y ensayo de pureza de los mismos

El grado de pureza de los disolventes y demás reactivos necesarios -
para la extracción de los residuos de plaguicidas de los alimentos y po-
sterior purificación de los extractos para su inyección en el cromatógra-
fo de gases, es un factor muy importante para la obtención de buenos re-
sultados.

El analista debe de asegurarse que no se va a producir ninguna inter-
ferencia debida a los reactivos y/o al material que utilice durante el -
procedimiento analítico. Para ello es necesario, en la mayor parte de ---
las ocasiones, proceder a una purificación de los reactivos antes de su
utilización y prestar siempre una gran atención a la limpieza del mate-
rial de vidrio.

Los métodos que se han utilizado en el LATU para la purificación de
disolventes y demás reactivos, están descriptos en la bibliografía. Las
referencias son las siguientes: eter de petróleo y alcohol etílico, Balu-
ja (1969); eter etílico y óxido de magnesio, Mills, Onley y Gaither,
(1963); acetona, Saha y Gadallah (1967); Florisil, FDA (1969) normaliza-
do según Mills, 1968) y sulfato sódico anhidro, Yip, y Howard, (1968).

Los otros disolventes utilizados no fueron purificados ya que su gra-
do de pureza era de suficiente garantía para su utilización directa. No
obstante al igual que todos los demás, fueron sometidos al ensayo de pu-
reza indicado por Wessel (1967).

Parámetros cromatográficos utilizando el detector de captura de electrones

Una vez acondicionadas las columnas, fué instalada adecuadamente la columna A en el cromatógrafo de gases y se fijaron las condiciones de trabajo adecuadas para la detección de residuos, de acuerdo con las normas de la FDA (1969).

Estas condiciones fueron las siguientes:

Temperaturas: -Bloque de inyección: 225°C
-Horno de columna...: 200°C
-Detector.....: 220°C

Gases: -Portador (argón): 120 ml/min
-Auxiliar del detector (hidrógeno): el suficiente para conseguir una respuesta máxima del detector. Generalmente 1-3 ml/min.

Atenuación: La necesaria para que 1 mg de heptacloro produzca una desviación de la plumilla del registrador del 50-70% en la escala del mismo.

(Esta inflexión hay que determinarla diariamente, antes de comenzar la serie de inyecciones en el cromatógrafo y, si procede, reajustar las condiciones (atenuación, flujo de hidrógeno, etc.).

Una vez fijados los parámetros cromatográficos, se fueron inyectando sucesivamente, soluciones en hexano de los distintos plaguicidas patrocina- recientemente preparados y de concentración 1 ppm, con el fin de calcular las retenciones relativas de cada uno de ellos, utilizando el aldrin, como sustancia de referencia, con miras al análisis cualitativo de residuos.

Construcción de curvas de calibrado de plaguicidas patrones

Para poder llevar a cabo una cuantificación de los plaguicidas, puestos de manifiesto por la cromatografía gas-líquido, es necesario disponer de curvas de calibrado para cada uno de aquellos.

A este fin, y como ejemplo, se construyó la curva de calibrado correspondiente al heptacloro. Para ello se inyectaron sucesivamente cantidades crecientes de una solución, recientemente preparada, de heptacloro en eter

de petróleo, con una concentración de 1 ppm.

Una vez obtenidos los cromatogramas se calcularon las áreas de los picos correspondientes a cada cantidad de plaguicida inyectado. Las citadas áreas se calcularon por el método que considera como valor representativo del área el producto de la altura del pico por la anchura del mismo a mitad de altura (base media).

Este método es el de más amplio uso y el que más interés práctico tiene cuando se han de realizar muchos análisis.

Una vez conocidas las áreas para cada una de las cantidades de plaguicida inyectada, se construyó una gráfica en la que en ^{ordenadas} se indicaron los mm^2 de área y en abscisas los nanogramos de producto puro inyectado.

Determinación de residuos de plaguicidas

En general, la determinación de residuos de plaguicidas en alimentos comprende tres etapas:

- a) extracción de los residuos de plaguicidas de la muestra
- b) purificación de los extractos
- c) identificación y cuantificación de los residuos

El procedimiento de extracción depende del tipo de muestra de que se trate y/o de los residuos que se sospeche que puedan estar presentes. A efectos de esta primera etapa (extracción), los alimentos pueden agruparse por su contenido en grasa y por su contenido en agua.

En líneas generales los métodos de extracción son los siguientes:

1. Alimentos no grasos

1.1.- Con alto contenido en agua: Extracción con acetonitrilo y posteriormente, extracción de los pesticidas disueltos en éste con eter de petróleo.

1.2.- Con bajo contenido en agua y/o alto contenido en azúcar: Extracción con acetonitrilo y agua y, posteriormente, extracción de los pesticidas disueltos en la mezcla eter de petróleo.

2. Alimentos grasos:

Extracción de la grasa con hexano, posterior extracción de los pesticidas disueltos en hexano con dimetilformamida y por último extracción de los pesticidas disueltos en ésta con hexano.

La purificación de los extractos de plaguicidas, se llevó a cabo por cromatografía en columna, utilizando como absorbentes: Florisil, óxido de aluminio o mezcla de óxido de magnesio- Celite 545.

La elución de los plaguicidas absorbidos en la columna, se realizó con mezclas de éter de petróleo-éter etílico o hexano-éter etílico.

Las técnicas de extracción y purificación se ha aplicado a dos alimentos representativos de cada uno de los dos grupos anteriormente citados: - grasos y no grasos.

Para la muestra de alimentos no grasos se utilizaron los métodos propuestos por la AOAC (1966 y 1967) y por la FDA (1969); y para los alimentos grasos la metodología descrita por Faubert, Egan, Godly, Hammond y Roburn (1954). Estas técnicas se encuentran esquematizadas en las publicaciones del IATA anteriormente citadas.

III. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La labor realizada, y que se ha expuesto en el apartado anterior, ha de ser el punto de partida para que el IATN pueda incorporar las técnicas de determinación de plaguicidas por cromatografía gas-líquido a los controles que se lleven a cabo en cualquier tipo de alimentos.

El equipo instrumental y el equipo técnico son adecuados para este fin. No obstante, será necesario que transcurra algún tiempo para que el personal técnico encargado de esta tarea realice algunas determinaciones con distintos tipos de productos para adquirir el adiestramiento necesario con el fin de llevar a cabo los análisis con la debida rapidez y garantía.

Dadas las dificultades encontradas en el suministro de algunos productos, es fundamental, para poder llevar una marcha continuada, disponer de unos remanentes de 3-5 l. de cada uno de los disolventes y 1-3 kg. de los otros reactivos debidamente purificados y comprobada su pureza por cromatografía gas-líquido.

Es absolutamente imprescindible que al comenzar la utilización de un nuevo lote de disolventes y/o productos, sea purificado de acuerdo con los procedimientos indicados en la bibliografía y, posteriormente, comprobada su pureza por cromatografía gas-líquido.

También es recomendable para evitar posibles contaminaciones que el material de laboratorio que se utilice en los análisis se someta a una escrupulosa limpieza y quede de uso exclusivo para la determinación de residuos de plaguicidas.

Sería de máxima utilidad para la sección de análisis de residuos, recabar de los organismos competentes, la relación de las formulaciones comerciales de plaguicidas utilizadas por los agricultores uruguayos, así como el principio o principios activos que las integran y, si es posible,

los cultivos para los que está recomendada su utilización. De este modo, cuando se llevaran a cabo las determinaciones, estos datos podrían ser orientativos respecto a los residuos de plaguicidas que, potencialmente, pudieran encontrarse presentes en las muestras.

Sería interesante iniciar un estudio sobre algunos de los productos hortofrutícolas de mayor consumo en la nación. Este estudio podría ampliarse posteriormente a otros alimentos.

Los resultados obtenidos servirían para conocer el nivel de contaminación por plaguicidas de los alimentos uruguayos y comprobar si cumplen con las especificaciones internacionales.

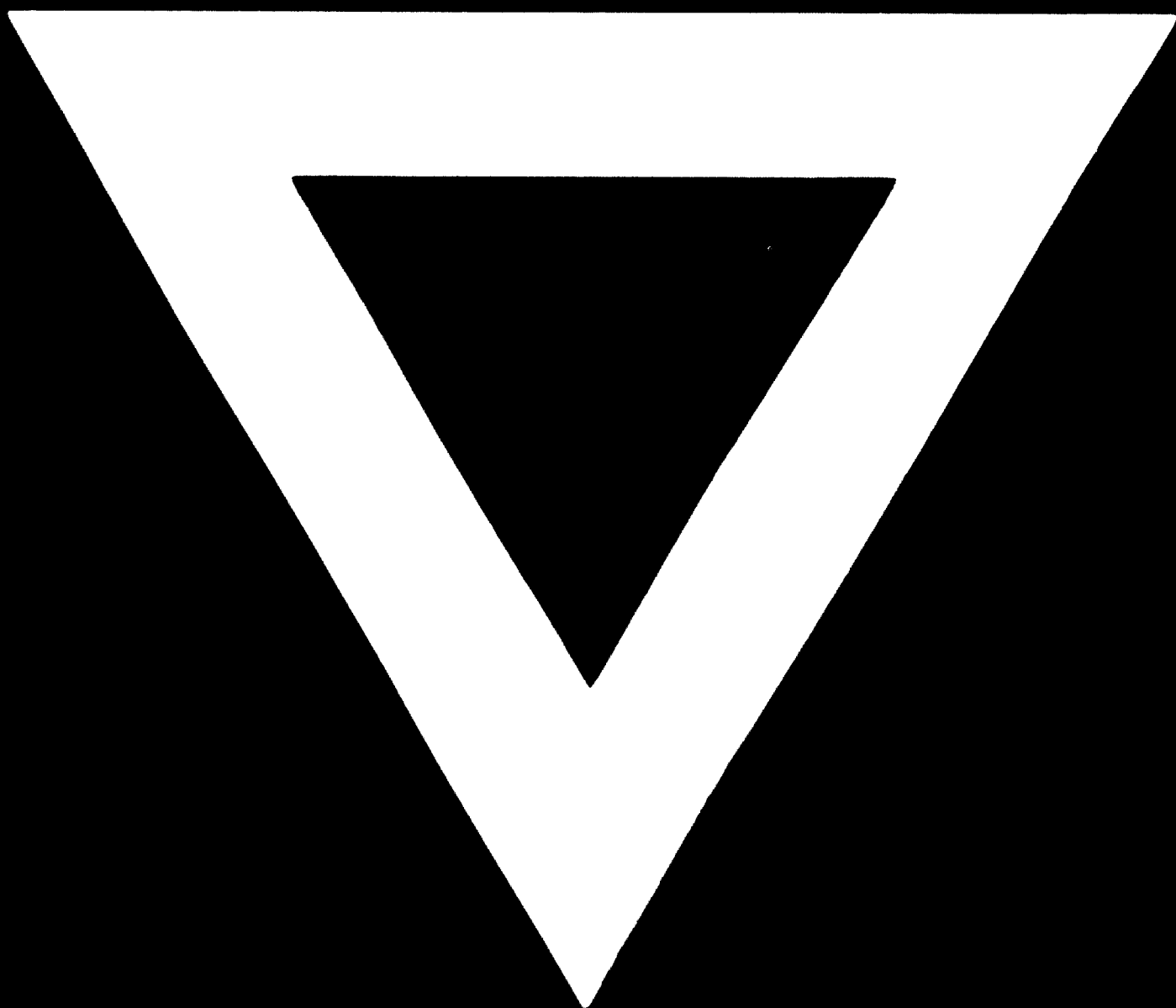
Al mismo tiempo, y de acuerdo con los resultados que se obtuvieran, se podría asesorar, si procediera, a los agricultores para un mejor uso de las formulaciones plaguicidas comerciales, con el fin de conseguir unos niveles mínimos de contaminación en los productos alimenticios.

BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. (1966). "Changes in Official Methods". Journal A.O.A.C., 49, 222
- A.O.A.C. (1967). "Changes in Official Methods". Journal A. O.A.C., 50, 220
- A.O.A.C. (1975). "Official Methods of Analysis. 12th edition.
- Baluja, G. (1969). Rev. Agroquim y Tecnol. Alim., 9/4, 536.
- Carrasco, J.Ma., P. Cuñat, M. Martínez, E. Primo y J. Alberola, (1971).
Rev. Agroquim. y Tecnol. Alim., 11/2, 236.
- Carrasco, J. Ma., P. Cuñat, M. Martínez y E. Primo, (1972). Rev. Agroquim.
y Tecnol. Alim., 12/3, 463.
- Department of National Health and Welfare, Canadá (1973).
"Analytical Methods for Pesticide Residues in Foods".
- Egan, H., Holmes, D.C., Roburn, J. y Tatlon, J.O.G., (1966). J. Sci. Food
Agr., 17, 563.
- FAO (1974). "Límites máximos internacionales recomendados para los resi-
duos de plaguicidas". Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Ali-
mentarias. Comisión del Codex Alimentarius. CAC/RS 65 - 1974 Roma.
- F.D.A. (1969). "Pesticide Analytical Manual". Vo . I. Methods which detect
multiple residues". U.S. Department of Health, Education and Well-
re.
- Mills, P.A., Onley, J.H. y Gaither, R.A. (1963). Journal A.O.A.C., 46, 158.
- Mills, P.A. (1969). Journal A.O.A.C., 51, 29.
- Saha, J.G. y L.A. Gadallah, (1967). Journal A.O.A.C. 50, 637.
- Wessel, J.R. (1967). Journal A.O.A.C., 50, 430
- Yip, G. y S.F. Howard. (1968). Journal A.O.A.C., 51, 24.

We regret that some of the names of the individuals who
gave their support may not be on the program
and may not have been through the proper channels.
We would like to prepare the program to be

B - 10



79. 11. 13