



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA
"Dr. Pablo Paredes Vivas"



**DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS POR
CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA EN ALIMENTOS VEGETALES
COMERCIALIZADOS EN MERCADOS POPULARES**

Trabajo presentado ante la Ilustre Universidad de Los Andes para optar al título de
Licenciada en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autoras:

Aleinis Ramírez
C.I. V- 22.664.046
María Quintero
C.I. V- 20.200.327

Tutor:

Prof. Julio César Rojas Silva

Mérida, diciembre de 2023

DEDICATORIA

A mi abuelo; José Isaac Ramírez Torres que en paz descance, quien fue mi segundo padre y mi ejemplo a seguir, espero estés orgulloso de mi en el cielo. Mi abuela Josefa María Ramírez de Ramírez mi segunda madre le dedico este pequeño logro en mi carrera, tu que estuviste en cada paso en mi formación como profesional.

A mis padres; Morelba del Carmen Rivas Márquez y Joaquín Alexis Ramírez, les dedico este logro ustedes quienes siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo.

A mis hermanos; María Los Ángeles Ramírez Rivas, te la dedico ya que fuiste un claro ejemplo de superación al lograr graduarte de Farmacéutico de la Ilustre Universidad de Los Andes y a mi hermano menor Kristhian Alexis Ramírez Rivas, espero ser para ti un ejemplo a seguir en tu superación.

A mi tutor Julio Cesar Rojas Silva, quien es un excelente profesor y fue nuestro guía a seguir en el proceso de realizar y finalizar nuestro trabajo de grado.

Heinis Ramírez

AGRADECIMIENTO

A Dios y la Virgen; primeramente, por guiarme y cuidarme en mí camino.

A mis abuelos; José Isaac Ramírez Torres y Josefa María Ramírez de Ramírez; mis pilares infinitas gracias por su apoyo incondicional.

A mis padres Joaquín Alexis Ramírez Ramírez y Morelba Del Carmen Rivas Márquez; por mostrarme siempre el camino a superarme a pesar de las adversidades muchas gracias.

A mis hermanos; María Los Ángeles Ramírez Rivas y Kristhian Alexis Ramírez Rivas, gracias por su compañía y consejos en mi camino a mejorar cada día más son mi inspiración.

Un agradecimiento especial al profesor Julio Cesar Rojas Silva; por aceptarnos para realizar este trabajo de grado bajo su dirección. Su apoyo y capacidad para guiarnos ha sido un aporte invaluable.

A nuestro profesor y técnico Carlos Contreras por tu entera disposición en este proyecto, tus conocimientos fueron de gran ayuda muchas gracias.

A nuestra Ilustre Universidad de Los Andes y a sus profesores por ser un segundo hogar en nuestra formación como profesionales, muchas gracias.

Por último, pero no menos importante a mi compañera de tesis María Quintero; por ser un apoyo y guía en este objetivo de vida tan importante.

Heinis Ramírez

DEDICATORIA

A Dios y a la virgen.

A mis padres, Eloísa Zerpa, Oswaldo Quintero.

A mi hermana, Estefany Mendoza.

... A ustedes por ser partícipes de nuestro esfuerzo y ser fuente constante de energía, les dedicamos nuestro trabajo.

www.bdigital.ula.ve

Maria Quintero

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios y a la Virgen por darnos salud y ser nuestros guías.

A mis padres, Eloísa Zerpa y Oswaldo Quintero, por ser fuente de amor incondicional y de sabios consejos; por estar en todo momento para mí, inculcándome principios y valores, enseñándome a perseverar y a enfrentar las situaciones con la mejor actitud y ser ejemplo de superación. Son mi modelo a seguir.

A mis amigos José Cristancho, María Vielma, Yusmeiry Fernández, Jennifer Marrero, Hectmer Mercado, quienes han sido mis cómplices; gracias por su apoyo, comprensión y amistad incondicional.

A mí tutor Julio Cesar Rojas Silva, quien, con su profesionalismo y excelente tutoría, gentileza y disponibilidad, estuvo presente en todo momento; animándonos a culminar y consolidar el perfil de investigador.

Al profesor Carlos Contreras, por su disponibilidad, gentileza, y estar presente en todo momento del proceso del desarrollo de la parte experimental de la tesis.

A mis profesores de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por continuar con nuestra formación ante la difícil situación.

Y a todos los que de una u otra manera aportaron su granito de arena para ayudarnos a alcanzar esta meta. ¡Mil gracias!

Maria Quintero

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
VEREDICTO	ii
DEDIATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xii
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
<i>Objetivo General</i>	6
<i>Objetivos Específicos</i>	7
Alcances y Limitaciones de la Investigación	7
<i>Alcances de la Investigación</i>	7
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	10
Bases Teóricas	12
Plaguicidas Organofosforados (PO)	12
Técnicas para la Determinación de Plaguicidas Organofosforados	21
Otros Métodos Preliminares y de Orientación que Permiten Identificar Cualitativamente la Presencia de Plaguicidas Organofosforados	27

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

	Pág.
Alimentos Vegetales	28
Frutas	32
Definición Operacional de Términos	33
Operacionalización del Evento de Estudio	35
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	38
Tipo de Investigación	38
Diseño de Investigación	38
Población y Muestra	38
<i>Selección del Tamaño de la Muestra</i>	39
Instrumento de Recolección de Datos	39
Procedimiento de la Investigación	39
Diseño de Análisis	54
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
Resultados	56
Discusión	70
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	73
Conclusiones	73
Recomendaciones	75
BIBLIOHEMEROGRAFÍA	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Pág.
1 Estructura química del Tetrafosfato de Hexaetilo	11
2 Estructura química del Pirofosfato de Tetraetilo	11
3 Estructura básica de los Plaguicidas Organofosforados	13
4 Estructuras químicas de los principios activos del Fulminator	19
5 Estructura química del principio activo del Pyrinex	19
6 Estructura química del principio activo del Parathión	20
7 Estructura química del principio activo del Malathión	21
8 Espectro de absorción de dos compuestos diferentes	26
9 Muestras vegetales y fruta, tomadas de cuatro Mercados Populares	40
10 Licuado de las muestras	41
11 Medición del pH de las muestras licuadas	42
12 Filtrado de los extractos obtenidos de las muestras	42
13 Separación de los extractos obtenidos de las muestras	43
14 Extracción de las muestras	43
15 Segunda extracción y filtrado de las muestras con algodón y sílica gel	44
16 Papel filtro (Número 4, marca Ederol®)	44
17 Fase orgánica contenida en capsulas de porcelana	45
18 Tratamiento con carbón activado a la muestra de ajo porro	45
19 Sembrado de las muestras en la placa cromatográfica	48
20 Cubeta conteniendo la fase estacionaria y la fase móvil	49
21 Revelado de las placas con lámpara de luz UV	49
22 Muestras positivas listas para sembrar en la placa preparativa	51
23 Sembrado de las muestras positivas en la placa preparativa	52

ÍNDICE DE FIGURAS

(Continuación)

Nº		Pág.
24	Cubeta conteniendo a la fase móvil (80 mL de hexano y 20 mL de acetona)	52
25	Revelado de la placa preparativa con la lámpara de luz UV	53
26	Muestras en la placa preparativa para el raspado con espátula	53
27	Espectrofotómetro marca SHIMADZU®	54
28	Placa cromatográfica de la muestra de lechuga	60
29	Placa cromatográfica de la muestra de cebolla	61
30	Placa cromatográfica de la muestra de ajo porro	62
31	Placa cromatográfica de la muestra de la fresa	63
32	Resultados de la prueba de hidrolisis alcalina	66
33	Resultados de la prueba de Averell-Norris	67

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Nº		Pág.
1	Características del Síndrome Colinérgico	17
2	Valores de referencia de Rf de algunos Plaguicidas Organofosforados	24
3	Operacionalización del Evento de Estudio: Determinación de Plaguicidas Organofosforados	36
4	Operacionalización del Criterio de Análisis: Cromatografía en Capa Fina	37
5	Valores de pH de tres alimentos vegetales y una fruta obtenidos de Mercados Populares	55
6	Cromatografía en capa fina de la lechuga	56
7	Cromatografía en capa fina de la cebolla	56
8	Cromatografía en capa fina del ajo porro	56
9	Cromatografía en capa fina de la fresa	56
10	Valores de Rf de tres muestras vegetales y una fruta	59
11	Valores de Rf de los Plaguicidas Organofosforados	59
12	Valores de Rf de la lechuga	60
13	Valores de Rf de la cebolla	61
14	Valores de Rf del ajo porro	62
15	Valores de Rf de la fresa	63
16	Valores de Rf de los Plaguicidas Organofosforados	64
17	Longitudes de onda del Tratamiento a la fresa con bicarbonato de sodio	68
18	Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa del ajo porro	69
19	Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa de la fresa	69
20	Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa de los Plaguicidas Organofosforados	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Nº		Pág.
1	Porcentaje de muestras positivas y negativas a los PO (Fulminator, Pyrinex, Parathion y Malathion), analizadas mediante cromatografía de capa fina	57
2	Porcentaje de muestras positivas a los PO, por cromatografía de capa fina	65
3	Porcentaje de reducción de PO en la muestra de fresa tratada con agua y bicarbonato	68
4	Porcentaje de muestras positivas para los patrones (PO): Parathion, Pyrinex, Malathion, detectado mediante cromatografía preparativa	70

www.bdigital.ula.ve



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Plaguicidas organofosforados en alimentos vegetales



DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFSFORADOS POR
CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA EN ALIMENTOS VEGETALES
COMERCIALIZADOS EN MERCADOS POPULARES

Trabajo de Grado

Autoras:

Aleinis Ramirez
C.I. V- 22664046
Maria Quintero
C.I. V-20200327

Tutor:

Prof. Júlio Cesar Rojas Silva

RESUMEN

Los plaguicidas organofosforados son sustancias o mezcla de substancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga. El objetivo de esta investigación fue analizar la presencia de plaguicidas organofosforados por cromatografía en capa fina en alimentos vegetales comercializados en mercados populares. El tipo de investigación fue de tipo analítica, el diseño de campo, de laboratorio y experimental. De algunos Mercados Populares, se tomaron muestras de alimentos vegetales (lechuga, cebolla y ajo porro), así como una fruta (fresa); como patrones se usaron cuatro plaguicidas organofosforados (PO): Fulminator, Pyrinex, Parathión y Malathión. Los resultados indicaron la presencia de algunos PO, en las muestras examinadas, mediante la técnica de cromatografía en capa fina; así como por medio de pruebas preliminares y de orientación, como las pruebas de hidrolisis alcalina y Averell-Norris, las lecturas de las muestras se realizaron en el equipo (espectrofotómetro UV-Visible: Recording Spectrophotometer marca SHIMADZU®), realizando un barrido de 200-350 nm y los resultados fueron corroborados mediante la técnica de cromatografía preparativa. Los autores lograron concluir que del total de las muestras analizadas ($n=11$); ($n= 4$) 36% muestras fueron positivas para el patrón Parathion; ($n=3$) positivas para el patrón Pyrinex 27%; ($n=3$) para el patrón Malathion27%; además, que estos rubros (lechuga, cebolla y ajo porro) al ser consumidos por la población, se convierte en una vía principal de exposición a los PO, llegando a ser perjudicial a largo plazo en la salud de quienes los incluyen en su dieta alimenticia.

Palabras clave: Plaguicidas organofosforados, cromatografía en capa fina, lechuga, cebolla, ajo porro y fresa.

INTRODUCCIÓN

Los beneficios de comer frutas y verduras son bien conocidos. Una dieta rica en frutas y verduras se asocia con menores tasas de obesidad, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) recomienda que la mitad de los alimentos en cada porción sean frutas y verduras. Sin embargo, actualmente la mayoría de estas son tratadas con pesticidas, los cuales son agentes químicos o biológicos que se usan para proteger los cultivos de insectos, malas hierbas y enfermedades y hongos; algunos plaguicidas extremadamente tóxicos, como los plaguicidas organofosforados (PO) son los más usados, a los cuales se ven expuestos la mayoría de los bebés, niños y adultos al ingerir tales alimentos (Forman y Silverstein, 2012).

Los más vulnerables a los efectos nocivos causados por la exposición a pesticidas son los fetos, los bebés, los niños y adolescentes en crecimiento, las mujeres embarazadas, madres lactantes y las mujeres en edad fértil. Los niños corren más riesgo que los adultos porque ellos comen más en relación a su peso corporal. Exposiciones durante los períodos vulnerables del desarrollo pueden ser especialmente peligrosas, estos periodos incluyen el desarrollo embrionario, la infancia, la niñez temprana y la pubertad. Los fetos se ven expuestos a pesticidas a través de la dieta de la madre; los bebés se ven expuestos a través de la leche materna (Centro de Ecogenética y Salud Ambiental, 2012).

La exposición a pesticidas durante el embarazo puede conducir a un mayor riesgo de defectos de nacimiento, bajo peso al nacer y muerte fetal”, señaló la Academia Estadounidense de Pediatría. “La exposición en la infancia se ha relacionado con problemas de atención y aprendizaje, así como con el cáncer (Bouchard, Bellinger, Wright y Weisskopf, 2009).

Existen estudios donde se han demostrado que niños que comen dietas convencionales tienen niveles significativamente más altos de residuos de PO en su orina en comparación con niños que consumen una dieta orgánica (Curl, Fenske y Elgethun, 2003). En un estudio, un grupo de niños fue sometido a

cambiar de una dieta convencional a una orgánica, la concentración de residuos de pesticidas en su orina inmediatamente se redujo a niveles indetectables (Lu, Toepel, Irish, Fenske, Barr y Bravo, 2006).

Por otro lado, la intoxicación aguda es un problema persistente entre los trabajadores agrícolas y los que manipulan plaguicidas ya que éstos, sin querer, los transportan hasta sus hogares, lugar donde sus familiares también pueden verse expuestos. Las personas que viven cerca de los campos de cultivo pueden verse expuestas mediante la pulverización, spray o rocío aéreo (Centro de Ecogenética y Salud Ambiental, 2012).

En vista de lo anteriormente descrito, surge la necesidad imperante de determinar los residuos de plaguicidas organofosforados en alimentos vegetales comercializados en mercados populares en el estado Mérida; los cuales expenden la mayoría de tales alimentos a toda la población.

Esta investigación está sistematizada de la siguiente manera. El Capítulo I: El Problema, formado por los siguientes subtítulos: Planteamiento del Problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II: Marco Teórico, en este se enmarcan los Trabajos Previos, Antecedentes Históricos o Epistemológicos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización del Evento de Estudio. El Capítulo III: Marco Metodológico, describe el Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Selección del Tamaño de la Muestra, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y Diseño de Análisis. El capítulo IV está titulado como Resultados y Discusiones, y el capítulo V compuesto por, las Conclusiones y Recomendaciones.

El objetivo de esta investigación es analizar la presencia de plaguicidas organofosforados por cromatografía de capa fina en alimentos vegetales comercializados en mercados populares.

CAPITULO I

El Problema

Planteamiento del Problema

Desde hace siglos los agricultores usan plaguicidas para controlar insectos y enfermedades fúngicas, que amenazan la salubridad y la seguridad de las frutas y verduras. Aunque los plaguicidas (o pesticidas) son sustancias diseñadas para destruir o prevenir plagas y, con ello, mejorar la productividad y calidad de los cultivos, su uso extensivo, mal informado y sin la debida protección ha probado ser, en varios casos, dañino para las plantas, los ecosistemas y los seres humanos; ya que cada vez más, hay evidencia de que el uso extensivo de estos compuestos causa más daños que beneficios (Doménech, 2004).

Hasta antes de la Revolución Industrial, las técnicas de producción de alimentos mantenían un equilibrio natural entre agricultura y medio ambiente. El reciclaje de la materia orgánica, la rotación de cultivos y el control biológico de plagas hacían que el rendimiento de los cultivos dependiera básicamente de los recursos internos, sin mucha más ayuda externa. Pero con la modernización agrícola, el aumento de la población mundial y la demanda de alimentos, esto cambió, se inició el uso extensivo de plaguicidas para prevenir y controlar cualquier tipo de plaga: insectos, hongos, moluscos, malezas, ácaros o roedores, entre otros. Los tipos de insecticidas que se usan hoy día son los plaguicidas organofosforados (PO), carbamatos, piretroides, herbicidas y fungicidas (Doménech, 2004).

A pesar de su éxito en el control de algunas plagas, hay evidencia de que los pesticidas tienen un efecto nocivo para la salud de las plantas y los ecosistemas. Por ejemplo, algunas de estas sustancias pueden reducir las bacterias que se

encargan de fijar el nitrógeno en las plantas, esto tiene como consecuencia que el suelo vaya perdiendo su fertilidad natural y que las plantas disminuyan su capacidad para absorber los minerales del suelo. Otros pesticidas pueden hacer más vulnerables a las plantas al disolver la capa cerosa de su superficie, lo que significa que pierden su principal línea de defensa frente a microbios invasores (Doménech, 2004).

Además de los daños a las plantas y al ambiente, hay evidencia de sus efectos negativos en los seres humanos, especialmente entre los agricultores y las personas que están en contacto con estas sustancias de forma excesiva y sin suficiente protección. Hay riesgos asociados con la fumigación de cultivos que pueden afectar a la población a la hora de consumirlos (Forman y Silverstein, 2012). La principal vía de exposición a los PO es la ingestión de alimentos contaminados (Damalas y Eleftherohorinos, 2011). Los alimentos pueden contaminarse con plaguicidas durante la producción, el transporte o el almacenamiento (Chen, Qian, Liu, Tao, Liang y Li, 2012).

No hay una forma de deshacerse al 100 por ciento de todos los residuos agroquímicos que llegan a nuestros alimentos, pero sí hay algunos métodos que pueden reducir la presencia de algunos de ellos, en algunos casos prácticamente por completo; una de las formas más recomendables es lavarlos porque es fácil y barato, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) también, sugiere frotar los productos con un cepillo firme o, si se trata de alimentos más frágiles, puede simplemente frotarlos bajo el grifo para eliminar residuos (Forman y Silverstein, 2012).

Una vez descrita la situación actual del problema de investigación, las autoras plantearon el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la relación de correspondencia entre la determinación de plaguicidas organofosforados y la cromatografía en capa fina en alimentos vegetales comercializados en mercados populares?

Justificación e Importancia de la Investigación

Un gran número de plaguicidas organofosforados se usan en todo el mundo a diario, su uso es una ventaja para mejorar la productividad y calidad de los cultivos; no obstante los mismos también tiene desventajas, en lo que respecta a los efectos que causan sobre los humanos; entre ellos, la toxicidad crónica es la que provoca mayor preocupación por parte de las administraciones y de los consumidores y la que, por otra parte, genera mayor controversia por la escasez de datos detallados para evaluar sus efectos sobre la salud y la dificultad para conseguirlos. Está demostrado que los alimentos que comemos y el agua que bebemos tiene una influencia directa sobre la salud humana, pero la evaluación detallada de cada plaguicida sobre el organismo humano, más los efectos sinérgicos de varios de ellos, es una tarea larga y complicada (Doménech, 2004).

Las intoxicaciones ocurren generalmente de forma accidental por exposición laboral, o intencional, con fines suicidas. Los organofosforados producen sus efectos tóxicos a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa, la enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, produciendo ácido acético y colina, productos químicamente inertes. La unión entre los organofosforados y la acetilcolina es una unión irreversible espontáneamente, sin embargo, puede ser reversible con el uso de antídotos específico llamados oximas (Hurtado y Gutiérrez, 2005).

La administración temprana de pralidoxima es crucial y muy útil si se inicia en las primeras seis horas luego de la intoxicación aguda. La atropina produce un beneficio clínico dramático para los síntomas muscarínicos del síndrome colinérgico. Pueden ocurrir complicaciones importantes en los pacientes por intoxicación con organofosforados, como hipotensión, arritmias cardíacas fatales, síndrome intermedio, distrés respiratorio, neumonía y aún disfunción cerebral severa (Hurtado y Gutiérrez, 2005).

Los daños que puede causar sobre la salud presentan dos vertientes: mientras es relativamente fácil asociar un caso de toxicidad aguda a un plaguicida, la asignación de diferentes patologías o manifestaciones patológicas a una

exposición crónica de uno o varios compuestos fitosanitarios resulta compleja y difícil. En referencia a estos efectos crónicos sobre el organismo, se sabe que las dioxinas (presentes en muchas formulaciones de fitosanitarios como inertes o impurezas) y algunos plaguicidas se acumulan y persisten en el medio ambiente durante largo tiempo (Doménech, 2004).

Para la Comisión Europea los riesgos son numerosos y pueden ser muy graves: cáncer, malformaciones congénitas, alteraciones del sistema hormonal, daños a órganos vitales, enfermedades cutáneas, alergias y asma. Lo que ocurre, prosigue el informe de la Comisión, es que el conocimiento detallado de los efectos de estas sustancias es todavía limitado, y más limitado es el conocimiento de sus efectos sinérgicos. Aunque, la controversia sobre la información disponible tiene más que ver con la certeza en el establecimiento de las dosis que afectan a la salud que sobre sus efectos (Doménech, 2004).

Según lo antes expuesto, surgió la necesidad de realizar un estudio para analizar la presencia de plaguicidas organofosforados (PO) en alimentos vegetales, tales como la lechuga, la cebolla y el ajo porro; además, en una fruta: la fresa, comercializados en mercados populares, esta se llevará a cabo mediante el uso de cromatografía en capa fina y de esta forma conocer si la población se encuentra expuesta a los mismos; ya que diversos estudios han demostrado que la determinación de residuos de PO en alimentos es una buena forma de evaluar la exposición humana a plaguicidas, considerando que algunos alimentos pueden tener un mayor impacto en los niveles de exposición.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Analizar la presencia de plaguicidas organofosforados por cromatografía de capa fina en alimentos vegetales comercializados en mercados populares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de plaguicidas organofosforados por cromatografía en capa fina, en alimentos vegetales comercializados en mercados populares.
- Identificar los plaguicidas organofosforados, a través de las pruebas preliminares y de orientación, hidrolisis alcalina y Averell-Norris, en alimentos vegetales comercializados en mercados populares.
- Corroborar la presencia de plaguicidas organofosforados a través de cromatografía preparativa.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Según Hurtado (2010), "el alcance de una investigación está representada por la amplitud y la profundidad del conocimiento que se quiere conocer". El presente estudio tuvo como alcance aportar nuevos datos relacionados con el análisis de plaguicidas organofosforados por cromatografía de capa fina en alimentos vegetales comercializados en mercados populares.

Limitaciones de la Investigación

Durante el desarrollo de esta investigación se presentaron limitaciones relacionadas con los aspectos teóricos, técnicos y recursos económicos (Hernández, Fernández y Batista, 2010). Las limitaciones técnicas se relacionaron con la obtención de las muestras, la escasez y altos costos del material y reactivos para la ejecución de la parte experimental. Además, no fue posible hacer la determinación por Cromatografía de Gases a las muestras que dieron un resultado positivo (presencia de PO por Cromatografía Preparativa), debido a que el equipo del laboratorio que iba a facilitar el análisis, presentó inconvenientes.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Laureano y Peña (2021), Llevaron a cabo un estudio denominado "Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en *Solanum tuberosum* (papa) en la provincia de Huancayo 2021". Objetivo: Determinar la presencia de residuos del plaguicida organofosforado Metamidofos en *Solanum tuberosum* (papa) en el sector de Cuchupuquio-Viques. La muestra estuvo representada por 5 kg de papa de cada parcela (en total 15 predios de cultivo de papa), el análisis cualitativo del Metamidofos fue por el método de cromatografía en capa fina. Los resultados y las conclusiones señalaron la presencia de residuos del plaguicida organofosforado Metamidofos en las muestras de *Solanum tuberosum* (papa) provenientes del sector de Cuchupuquio-Viques, dando 13,3 % de las muestras positivas y 87,7 % negativas del total de muestras; dos placas dieron positivas (manchas amarillas en fondo marrón claro) y 13 negativas.

Ariful y Cols., (2019) publicaron un artículo nombrado "Determinación de los principales residuos de pesticidas organofosforados en repollo recolectado de diferentes mercados de Dhaka". El objetivo fue determinar los principales residuos de pesticidas organofosforados en repollo de diferentes mercados de Dhaka. Se recolectaron cincuenta muestras de cinco mercados locales diferentes de la ciudad de Dhaka (Rampura, Kawran Bazar, Taltola Bazar, Jatrabari y Mohammadpur Krishi), fueron analizadas por cromatografía de gases (GC) acoplada con detector termionizado de llama (DTF) y detector de captura de

electrones (DCE). Como estándares de plaguicidas se usaron el Clorpirifos, Diazinón, Fenitrotión y Quinalfos. Los resultados revelaron que, de las 50 muestras, 6 muestras (12 % de las muestras totales), contenían residuos de Diazinón (3 muestras) y Clorpirifos (3 muestras), recogidas de dos mercados: Rampura y Taltola Bazar. Otras 38 muestras (88 % del total), dieron negativo para residuos de plaguicidas. Todas las muestras en las que se pudieron detectar residuos de plaguicidas, estaban por encima de los LMR establecidos por la Comisión Europea (CE), presentaban de 5 a 18 veces mayor cantidad de residuos; mientras que las 6 muestras restantes (de otros tres mercados), parecían estar sin contaminar. Pudieron concluir que, entre los cuatro insecticidas organofosforados probados en el repollo, solo se detectaron Cloropirifos y Diazinón, por encima de los LMR. Este estudio refleja un escenario instantáneo de contaminación por pesticidas en uno de los vegetales de invierno común, disponibles en los mercados locales de la ciudad de Dhaka, que está relacionado con la seguridad del consumidor.

Ramírez y Oregel (2018), realizaron una investigación llamada: Estudio preliminar para la determinación de plaguicidas en vegetales comercializados en una zona de Michoacán (México). El objetivo fue determinar residuos de PO en vegetales comercializados en Tianguis de Jiquilpan, Michoacán. Se recolectaron muestras de calabaza, pepino, jitomate, cebolla, fresa y manzana (n= 30), además de jitomate y fresa orgánicos (n= 6). Se realizó la extracción de las muestras con acetato de etilo y se analizó la presencia de residuos de Malathion y Clorpirifos-etílico, por cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC). Los resultados indicaron que en las muestras orgánicas (jitomate y fresa) no se encontraron residuos de Malathion y Clorpirifos-etílico, tampoco se detectaron residuos de Malathion en las muestras de vegetales; sin embargo, se observó la presencia de residuos de Clorpirifos-etílico en 4 muestras de cebolla y en 1 de manzana (20 % del total de muestras). Los autores concluyeron que hubo presencia de residuos de PO en frutas y vegetales, que se comercializan en la localidad y estimaron que las concentraciones de Clorpirifos-etílico podrían estar por debajo de los LMR; aunque, se debe considerar que, además del Clorpirifos, la población puede estar

expuesta a más PO y a plaguicidas de otros grupos químicos, lo que representa un riesgo, debido a que los efectos dañinos pueden ser aditivos y manifestarse a largo plazo.

Sánchez y Martínez (2017), efectuaron un estudio intitulado: Presencia de pesticidas organofosforados en remolacha (*Beta vulgaris*). El objetivo fue determinar la presencia de pesticidas organofosforados en remolacha (*Beta vulgaris*). Las muestras fueron recolectadas de manera aleatoria en los diferentes puestos ambulantes de los Mercados Ciudad de Dios del Distrito de San Juan de Miraflores (15 muestras) y del Mercado 3 Regiones del Distrito de Carabayllo (15 muestras), para un total de 30 Remolachas; analizadas mediante la técnica de cromatografía en capa fina. Los autores demostraron que 9 muestras del Mercado Ciudad de Dios y 12 muestras del Mercado 3 Regiones, fueron positivas; un total de 21 muestras positivas a pesticidas organofosforados, lo que equivale a un 70 % de contaminación. Estos resultados, los llevó a concluir que del total de muestras analizadas de remolacha (*Beta vulgaris*), un 70 % presentaron PO, así mismo que las remolachas (*Beta vulgaris*) expendida en el Mercado Ciudad de Dios contenían PO en un 60% y las Remolachas (*Beta vulgaris*) expendeda en el Mercado Mayorista 3 regiones contenían PO en un 80 %; estos resultados son importantes, ya que su presencia en la remolacha implica afectaciones en la inocuidad, originando un riesgo potencial de toxicidad para la salud humana y para el ambiente en general, por lo que es necesario que el monitoreo y control se convierta en una actividad prioritaria para determinar la calidad y seguridad de los alimentos.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

Los compuestos organofosforados, son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, cuyo origen se remonta a las investigaciones que se realizaron durante la II Guerra Mundial (1941), sobre los gases neurotóxicos. El descubrimiento de sus propiedades insecticidas se debe a Schrader (1939), siendo el tetrafosfato de hexaetilo (1) (ver Figura 1) el primero de estos compuestos con aplicación

comercial y que es, en realidad, una mezcla cuyo componente más activo es el pirofosfato de tetraetilo (TEPP) (**2**) (ver Figura 2). Posteriormente, este mismo científico desarrolló el Parathion, que la empresa Bayer empezó a comercializar desde 1944, para uso exclusivo agrícola como insecticida y lo cual permite obtener mayores ganancias en las cosechas de vegetales (Henao y Nieto, 2002).

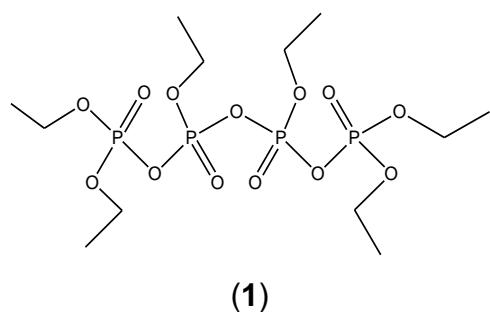


Figura 1. Estructura química del Tetrafosfato de Hexaetilo
Tomado y modificado de Henao y Nieto, 2002.

www.bdigital.ula.ve

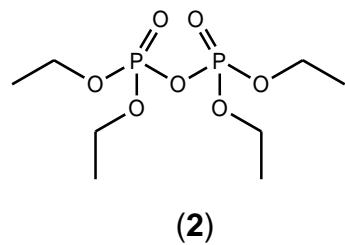


Figura 2. Estructura química del Pirofosfato de Tetraetilo
Tomado y modificado de Henao y Nieto, 2002

Bases Teóricas

Plaguicidas Organofosforados (PO)

Los organofosforados (OF) son plaguicidas clasificados junto con los carbamatos como inhibidores de la enzima colinesterasa. Son ésteres del ácido fosfórico y sus homólogos; son biodegradables, se hidrolizan fácilmente en medio húmedo y pH alcalino. Se absorben por todas las vías: oral, dérmica, conjuntival, parenteral, rectal e inhalatoria. Inhiben las colinesterasas y otras enzimas como la fosfatasa ácida, lipasa, tripsina, quimotripsina, entre otras. Su principal acción es sobre la acetilcolinesterasa (colinesterasa eritrocítica) y la colinesterasa plasmática (butirilcolinesterasa) (Hurtado y Gutiérrez, 2005).

La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) define a un plaguicida como “una sustancia o mezcla de substancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedad humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daños o interferir de cualquier otra forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de los alimentos, otros productos agrícolas, madera y sus derivados o alimentos animales, o que pueden ser administrados a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en sus organismos” (FAOSTAT, 2016).

Uso de los Plaguicidas Organofosforados

Se utilizan como insecticidas, nematicidas, herbicidas, fungicidas, plastificantes y fluidos hidráulicos en la industria. Los organofosforados de mayor uso tienen como principal clasificación ser insecticidas. Los compuestos organofosforados son un grupo de sustancias orgánicas derivadas de la estructura química del fósforo y tienen un gran número de aplicaciones y utilidades. Han sido utilizados como aditivos del petróleo, disolventes, en las industrias de colorantes, barnices,

cuero artificial, aislantes eléctricos, impermeabilizantes, ablandadores de plásticos, fungicidas, insecticidas entre otros (Fernández, Mancipe y Fernández, 2010).

Estructura Básica de los Plaguicidas Organofosforados

Los organofosforados son sustancias orgánicas de síntesis, es decir, fabricadas por el hombre, no existen en forma natural (Henao y Nieto, 2002; Mathews, Holde y Ahern, 2006). Su estructura básica es (ver Figura 3):

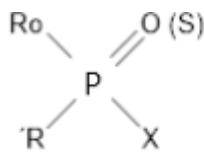


Figura 3. Estructura básica de los Plaguicidas Organofosforados
Tomado y modificado de Henao y Nieto, 2002; Mathews, Holde y Ahern, 2006.

En donde R y R' son cadenas cortas alifáticas, y X es un alcohol apropiado que, en la mayoría de los casos, son derivados alcoxi, fenoxi, tioalquil y sistemas aromáticos. Cuando el átomo que se une al fósforo con el doble enlace es el oxígeno, el compuesto se denomina OXON, y es un potente inhibidor de la enzima colinesterasa y de otras esterasas. Sin embargo, con el oxígeno en esta posición, también se favorece la hidrólisis del compuesto, especialmente bajo condiciones alcalinas. Para hacer estos compuestos más resistentes a esta hidrólisis y, por consiguiente, para prolongar la vida media en el ambiente, muchos organofosforados presentan un átomo de azufre (S) en vez del átomo de oxígeno. Estos organofosforados se denominan TIONES y son inhibidores pobres de la colinesterasa, pero penetran las membranas biológicas más rápidamente que los oxones (Henao y Nieto, 2002; Mathews, Holde y Ahern, 2006).

Toxicodinamia y Toxicocinética

Los plaguicidas, así como todas las demás sustancias químicas a las que estamos expuestos, ingresan a nuestro organismo a través de la vía respiratoria o inhalatoria, oral o digestiva y por la piel y las mucosas. Una vez en nuestro organismo sufren una serie de procesos y transformaciones hasta su eliminación, en los cuales se pueden producir sustancias químicas aún más tóxicas que el compuesto inicial capaces de dañar a diferentes órganos. Muchas sustancias tienen una especial apetencia por ciertos tejidos donde se depositan y pueden permanecer en ellos durante mucho tiempo (Lotti, 1995; Condarco, Cervantes y Renjel, 2008).

En el campo de la toxicología (estudio de los tóxicos o venenos), la toxicocinética y la toxicodinamia son las ramas encargadas del estudio de todos estos procesos.

- La toxicocinética estudia, a través del tiempo, los cambios que se producen en la absorción, distribución, biotransformación y eliminación de los tóxicos en el organismo. Es lo que el organismo le hace al tóxico (Condarco y Cols., 2008).
- La toxicodinamia se dedica a ver los daños que se producen en el organismo, es decir lo que el tóxico le hace al organismo. El siguiente esquema nos ayuda a comprender mejor estos procesos que serán descritos más adelante en cada grupo químico de plaguicidas (Condarco y Cols., 2008).

Haciendo referencia a la toxicocinética y toxicodinamia en compuestos organofosforados, una vez en el organismo estos compuestos y sus productos de biotransformación, es decir, de conversión metabólica, tienen una vida media relativamente corta. Dicho proceso de transformación se lleva a cabo mediante la presencia de enzimas oxidases, hidrolasas y glutatión S-transferasas (GST), principalmente hepáticas y puede dar como resultado metabolitos más tóxicos. La

eliminación de los organofosforados es rápida y tiene lugar por la vía renal (orina), en menor cantidad, por heces y aire expirado. Su máxima excreción se alcanza a los dos días; luego disminuye rápidamente (Condarco y Cols., 2008).

Mecanismo de Acción Toxicológica

El mecanismo a través del cual producen toxicidad los organofosforados, se asocia con la inhibición de la enzima acetil-colinesterasa (Ach), responsable de la destrucción y terminación de la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina (AC). La acumulación de la AC altera el funcionamiento normal del impulso nervioso (Condarco y Cols., 2008).

El plaguicida organofosforado se une fuertemente a la enzima anticolinesterasa y le impide regular la acetilcolina, por lo que hay una acumulación en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos (efectos nicotínicos) así como también a nivel del sistema nervioso central. Una concentración alta de acetilcolina en las uniones colinérgicas nerviosas con el músculo liso y las células glandulares puede causar contracción del músculo y secreción, respectivamente (Condarco y Cols., 2008).

En las uniones músculo esqueléticas, el exceso de acetilcolina puede ser excitatorio (causa espasmos musculares), pero también puede debilitar o paralizar la célula, despolarizando la placa terminal. Altas concentraciones de acetilcolina en el sistema nervioso central causan alteraciones sensoriales y del comportamiento como por ejemplo incoordinación, depresión de la función motora y respiratoria. Un aumento en las secreciones pulmonares y la depresión respiratoria son las causas usuales de muerte en el envenenamiento por organofosforados. La unión entre el plaguicida organofosforado y la enzima es muy fuerte y prácticamente irreversible (Eldefrawi y Eldefrawi, 1983; Eddleston y Hillips, 2004; Condarco y Cols., 2008).

La acetilcolina es un neurotransmisor que interactúa con dos tipos de receptores postsinápticos (nicotínicos y muscarínicos), y es responsable de la

transmisión fisiológica del impulso nervioso de: a. Las fibras colinérgicas postganglionares simpáticas y parasimpáticas a las células efectoras (receptores muscarínicos). b. Las neuronas preganglionares a las postganglionares en los sistemas parasimpáticos y simpáticos (receptores nicotínicos). c. Los nervios motores al músculo esquelético (receptores nicotínicos). d. Algunas terminaciones nerviosas en SNC. Una vez es liberada y ha interactuado con su receptor, la acetilcolina es destruida mediante la acción de la enzima acetilcolinesterasa, la cual reacciona con el neurotransmisor hidrolizándolo y produciendo colina y ácido acético, que entran al pool metabólico presináptico para ser utilizados nuevamente (Guyton, 2006).

Manifestaciones Clínicas

Las intoxicaciones con compuestos organofosforados pueden generar tres cuadros clínicos:

- 1. La intoxicación aguda:** El cuadro de intoxicación aguda genera un conjunto de signos y síntomas denominados síndrome colinérgico el cual se presenta como consecuencia de la excesiva estimulación de los receptores de acetilcolina, y que se caracteriza principalmente por cambios en el estado de conciencia, debilidad muscular y excesiva actividad secretora. La aparición de este cuadro varía entre pocos minutos hasta doce horas posterior al contacto con el tóxico, dependiendo de la edad del paciente, la cantidad ingerida y la toxicidad intrínseca del organofosforado; en los niños los efectos nicotínicos se observan con mayor frecuencia que en los adultos (Opawoye y Haque, 1998).

En la Tabla 1, se resumen los cuadros clínicos de la intoxicación aguda: efectos muscarínicos, nicotínicos y en el sistema nervioso central.

Tabla 1. Características del Síndrome Colinérgico

Efectos muscarínicos	Efectos nicotínicos	Efectos SNC
Visión borrosa, miosis, hiperemia conjuntival, rinorrea, broncorrea, sialorrea, broncoespasmo, cianosis, diaforesis, náuseas, vómito, diarrea, cólico abdominal, incontinencia de esfínteres, bradicardia	Vasoconstricción periférica, calambres, mialgias, fasciculaciones, debilidad, parálisis flácida, hiperglicemia	Cefalea, ansiedad, confusión, irritabilidad, alteración del estado de conciencia, ataxia, depresión respiratoria, convulsiones

Fuente: Opawoye y Haque, 1998.

2. **El síndrome intermedio:** aparece posterior a los efectos agudos, es decir 24-48 horas después de la exposición, pero antes que la neuropatía retardada; se caracteriza por debilidad de los músculos proximales de las extremidades, flexores del cuello, lengua, faringe y músculos respiratorios, con compromiso de la función respiratoria, disminución o ausencia de los reflejos miotendinosos y compromiso de pares craneales (principalmente el sexto). Su incidencia es de 57,1 %. Algunos estudios han mostrado que el síndrome intermedio sólo ocurre en pacientes con inhibición prolongada de la acetilcolinesterasa y que la presencia del síndrome no depende del tipo de agente tóxico involucrado (Bleecker, Neucker y Colardyn, 1993; Opawoye y Haque, 1998).
3. **Neurotoxicidad tardía:** puede iniciarse entre una a cuatro semanas después de la exposición aguda al tóxico. Se trata de una polineuropatía predominantemente motora, de tipo flácido, pero también con manifestaciones de tipo sensorial, que afecta a los músculos distales de las extremidades que se manifiesta con debilidad ascendente, pero de predominio distal, ataxia, hipotrofia muscular, hiporreflexia en miembros

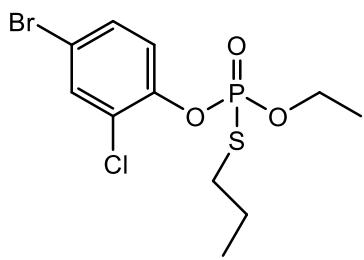
inferiores, calambres, parestesias, dolor neuropático, e hipoestesia; su recuperación puede ser total o parcial entre 6-12 meses con una adecuada rehabilitación. Dentro de los organofosforados que más se han asociado se encuentran el leptofox, mipafox, clorpirimifox, triclorfón, fentión y diazinón (Bleecker y Cols., 1993; Opawoye y Haque, 1998).

Tipos de Plaguicidas Organofosforados

En esta investigación sólo se mencionaron los plaguicidas organofosforados que se usaron como patrones, estos fueron los siguientes:

1. **Fulminator** (principio activo profenofos (4), ver Figura 4): Es un insecticida/acaricida, líquido de color amarillo translúcido; incompatible con productos alcalinos, no es soluble en agua. En agricultura se usa para el control de plagas de cosechas como arroz, frijol, papa y tomate. Su mecanismo de acción es el bloqueo de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) interrumpiendo la transmisión de impulsos entre las células nerviosas. Es un plaguicida poco persistente que posee una vida media en condiciones aeróbicas y anaeróbicas de dos y tres días, respectivamente. Al ser liberado en el aire, sus vapores reaccionan con los radicales hidroxilo, sin embargo, estas fracciones son removidas del aire al ser precipitadas por la lluvia y el polvo (Hoffmann y Papendorf, 2006).

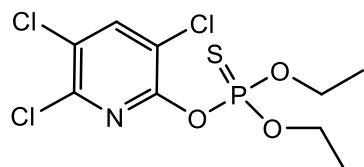
En los suelos su movilidad es baja y es eliminado rápidamente por hidrólisis química en condiciones alcalinas y por biodegradación. En organismos marinos su toxicidad varía de alta a extremadamente alta, encontrando varios episodios de mortandad de estos organismos después de la aplicación de este plaguicida bajo condiciones recomendadas (Hoffmann y Papendorf, 2006).



Profenofos (4)

Figura 4. Estructura química del principio activo del Fulminator Tomado y modificado de Hoffmann y Papendorf, 2006.

2. **Pyrinex** (principio activo: Clorpirifos) (ver Figura 5) es un insecticida sólido blanco de apariencia cristalina y de aroma fuerte, su solubilidad en agua es baja (1.4 mg/L a 25 °C) (Gil, Selma, López y Allende, 2009), de manera que generalmente se mezcla con líquidos aceitosos antes de aplicarse a cosechas o a animales. También se puede aplicar a cosechas en forma de cápsulas. Se ha usado ampliamente en viviendas y en agricultura. En el hogar, se usa para controlar cucarachas, pulgas, y termitas; también se usa en ciertos collares de animales domésticos para controlar pulgas y garrapatas. En agricultura, se usa para controlar garrapatas en ganado y en forma de rocío para el control de plagas de cosechas (ATSDR, 1997).

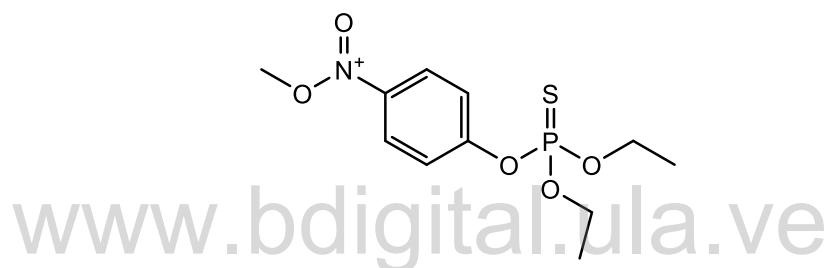


Clorpirifos (5)

Figura 5. Estructura química del principio activo del Pyrinex Tomado y modificado de ATSDR, 1997.

3. **Parathion** (principio activo: Parathion (6), ver Figura 6): es un plaguicida, su aspecto es blanco amarillento con olor a ajo, tiene alta solubilidad en xileno o butanol, mientras que en agua es muy baja (0.002 g/mL a 25°C). Se usa

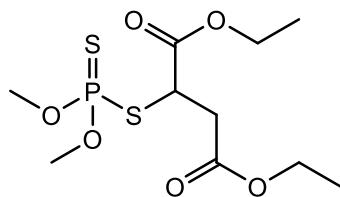
como pesticida en soluciones líquidas con xileno o como una mezcla de polvo que se puede mojar. Se utiliza contra los insectos picadores y succionadores que se encuentran principalmente en los cultivos de fruta, cereales, verduras, vid, ornamentas y hortalizas. En humanos la intoxicación puede darse a través de la ingestión, inhalación o exposición dérmica. Se absorbe a través de la piel, las membranas mucosas y por vía oral. El Parathion absorbido se metaboliza rápidamente a paraoxón y su mecanismo de acción es inhibir irreversiblemente la AChE e interrumpir el funcionamiento normal del sistema nervioso central (Hoffmann y Papendorf, 2006).



Parathion (6)

Figura 6. Estructura química del principio activo del Parathión
Tomado y modificado de Hoffmann y Papendorf, 2006.

4. **Malathión** (principio activo: Malathion (7) ver Figura 7): es un insecticida organofosforado sintético, en estado puro es un líquido incoloro; soluble en solventes orgánicos y poco soluble en agua (145 mg/L a 25 °C). El Malathion de calidad técnica, que contiene más de 90 % de pureza, es un líquido pardo-amarillento cuyo olor recuerda al ajo; de amplio uso en agricultura con actividad por contacto, ingestión e inhalación. De gran efecto de choque y bajo poder residual. Interfiere en la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa (Hoffmann y Papendorf, 2006).



Malathión (7)

Figura 7. Estructura química del principio activo del Malathión
Tomado y modificado de Hoffmann y Papendorf, 2006.

Técnicas para la Determinación de Plaguicidas Organofosforados

Entre las técnicas más usadas, se encuentra la cromatografía, la cual se define como la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases inmiscibles: una fase móvil, llamada también activa, que transporta las sustancias que se separan y que progresan en relación con la otra, denominada fase estacionaria. La fase móvil puede ser un líquido o un gas y la estacionaria puede ser un sólido o un líquido. Todas las técnicas cromatográficas dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre esas dos fases. Son posibles varios tipos de cromatografía, dependiendo de la naturaleza de las dos fases involucradas: pueden ser sólido-líquido (cromatografía en capa fina), o bien líquido-líquido o gases-líquido (cromatografía de gases) (Mosquera, 2012).

Dentro de la cromatografía se encuentra la cromatografía preparativa, esta es una técnica que permite corroborar la presencia de plaguicidas organofosforados, se suele usar mucho en los laboratorios de investigación.

Cromatografía en Capa Fina (TLC): Es una técnica rápida y específica para cierto tipo de sustancias. Es menester mencionar las limitaciones que posee esta técnica, entre ellas limitada especificidad y baja sensibilidad en comparación con otras técnicas analíticas como chromatografía de gases, chromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en consecuencia, hoy en día la chromatografía en capa fina ha ido perdiendo terreno en el laboratorio analítico frente a técnicas

cromatográficas de amplio alcance, que tienen la capacidad de detectar y cuantificar muestras más complejas (Vallejo, 2021). La separación de los constituyentes de la muestra, se realiza sobre una delgada capa (100-200 µm) del material que constituye la fase estacionaria, generalmente compuesta por gel de sílice, depositado sobre una capa rectangular de vidrio, plástico o aluminio (Mosquera, 2012).

Se distinguen tres etapas:

- Aplicación de la muestra: aplicación de un pequeño volumen de una disolución de la muestra manual o automáticamente, por medio de un capilar de extremo plano.
- Migración sobre la placa: la placa se introduce en una cubeta provista de una tapadera, en el fondo de la cual se encuentra la fase móvil que sirve de eluente. La fase móvil migra por capilaridad a través de la fase estacionaria, arrastrando a diferentes velocidades los constituyentes a separar, cuando el frente del disolvente ha recorrido una distancia suficiente, se retira la placa de la cubeta.
- Revelado post-cromatográfico: para facilitar su visualización la mayor parte de las placas contienen una sal de zinc fluorescente añadida a la fase estacionaria. Al iluminar tal placa con una lámpara de vapor de mercurio se ve aparecer en forma de manchas oscuras o coloreadas sobre un fondo fluorescente las posiciones donde se encuentran los compuestos (Mosquera, 2012).

Ventajas de la Cromatografía en Capa Fina

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa), entre ellos están:

- ✓ Habilidad para detectar múltiples drogas presentes en la muestra.
- ✓ Los materiales que precisa son más simples.

- ✓ Separación rápida permitiendo obtener mejores resultados y en menor tiempo.
- ✓ Uso de reactivos detectores corrosivos sin ocasionarle daño al sustrato o al absorbente.
- ✓ Capacidad para detectar sustancias con concentraciones 10 veces menores a los detectables por otros métodos.
- ✓ Es una técnica simple, de fácil uso, bajo costo y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea adecuada para fines analíticos (Mosquera, 2012).

Principales Usos de la Cromatografía en Capa Fina

- ✓ Determinar la identidad de dos sustancias. Si dos sustancias aplicadas a la misma placa de TLC dan manchas idénticas con igual Rf, puede tratarse de la misma sustancia. Si la posición de las manchas no es igual, puede afirmarse con certeza que las sustancias no son idénticas. En cambio, es posible que dos sustancias de estructura muy parecida, pero no idéntica, tengan Rf iguales en una placa.
- ✓ Determinar el número de componentes en una mezcla. La TLC permite analizar de forma rápida y fácil mezclas de reacción crudas, o extractos de una planta, o algún producto comercial. Conociendo el número, la cantidad y la polaridad relativa de los componentes, se facilita planear los pasos subsecuentes de análisis y purificación de estas sustancias.
- ✓ Determinar la eficacia de una purificación. La eficiencia de una destilación, cristalización, extracción y otros métodos de separación y purificación pueden monitorearse, con la salvedad de que la presencia de una sola mancha no es garantía total de que la sustancia esté pura.
- ✓ Determinar las condiciones más adecuadas para llevar a cabo una separación por cromatografía en columna. Ya que el adsorbente que se usa en ambas técnicas puede ser el mismo, se puede encontrar el disolvente o

mezcla de disolventes para tener una separación adecuada de los componentes de una mezcla.

- ✓ Monitorear una cromatografía en columna. Si los compuestos de una mezcla que se separa no son coloridos, las diversas fracciones colectadas pueden analizarse por TLC para conocer su composición (Mosquera, 2012).

Factor de Resolución (Rf)

Es una relación de distancias y se expresa como el cociente entre la distancia recorrida por la sustancia y la distancia recorrida por el disolvente hasta el frente del eluyente. El valor de Rf depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra: tipo de adsorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación, entre otras. Tiene una reproducibilidad de $\pm 20\%$, por lo que es mejor correr duplicados de la misma placa. En la Tabla 2, se reflejan los valores de referencia de los plaguicidas organofosforados estudiados en esta investigación (Mosquera, 2012).

Tabla 2. Valores de referencia de Rf de algunos Plaguicidas Organofosforados

Plaguicidas organofosforados	Principio Activo	Rf
Fulminator	Profenofos	0,35
Pyrinex	Clorpirifos	0,74
Parathion	Parathion	0,81
Malathion	Malathion	0,74 o 0,65

Fuente: Mosquera, 2012.

1. Cromatografía de Gases: Es un método físico de separación en el cual los componentes serán separados y distribuidos entre dos fases una de las cuales es estacionaria (fase estacionaria) mientras que la otra (la fase móvil) moviéndose en una dirección definida. La cromatografía de gases se ha convertido en la técnica analítica más usada en el mundo para la separación y análisis compuestos volátiles (Mosquera, 2012).

Esta técnica tiene la capacidad de cualificar (determinar la estructura química) y cuantificar (cantidad del compuesto presente) los componentes de una o varias muestras, determinan la cinética y mecanismo de reacción, en la industria alimenticia para la determinación de antioxidantes y preservantes en alimentos, además es ampliamente usada para la detección de pesticidas y sus residuos en diversas matrices (Mosquera, 2012).

Técnica de espectrofotometría UV Visible

www.bdigital.ula.ve

La espectrofotometría se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se hace incidir luz monocromática (de una sola longitud de onda) sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida, como consecuencia de la intensidad del rayo de luz sea atenuada desde Po a P, siendo Po la intensidad de la luz incidente y P la intensidad del rayo de luz transmitido. Dependiendo del compuesto y el tipo de absorción a medir, la muestra puede estar en fase líquida, sólida o gaseosa. En las regiones visibles y ultravioleta del espectro electromagnético, la muestra es generalmente disuelta para formar una solución (Mosquera, 2012).

Cada sustancia tiene su propio espectro de absorción, el cual es una curva que muestra la cantidad de energía radiante absorbida, Absorbancia, por la sustancia en cada longitud de onda del espectro electromagnético, es decir, a una determinada longitud de onda de la energía radiante, cada sustancia absorbe una

cantidad de radiación que es distinta a la que absorbe otro compuesto (ver Figura 8) (Mosquera, 2012).

Mediante la espectrofotometría UV/Visible, es posible detectar la absorbancia de determinados elementos cromóforos en el rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 700 nm, es decir, desde el cercano UV (190 a 400 nm) hasta todo el espectro visible (400 a 700 nm) inclusive. Esta técnica se basa en la capacidad de las moléculas en solución de absorber la radiación incidente, ya sea en forma total o parcial (Camelino, 2018). El barrido UV es poco específico a menos que la droga problema se encuentre pura en solución sin presencia de otras sustancias que alterarían el espectro de absorción, esto es posible si es aislada por otro procedimiento que eliminan estas sustancias interferentes. (Flanagan, 1995).

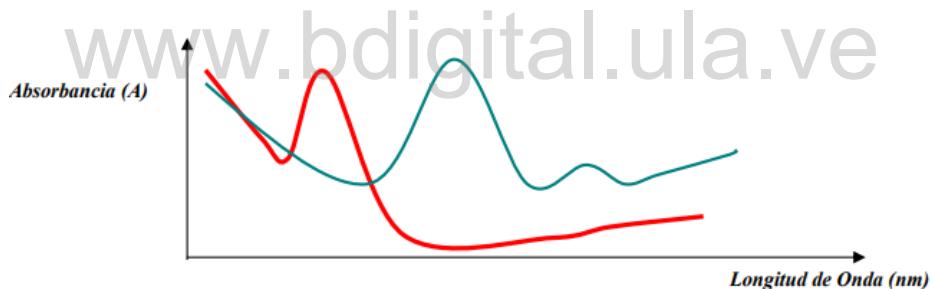


Figura 8. Espectro de absorción de dos compuestos diferentes.
Tomado y modificado de Mosquera, 2012.

Este fenómeno se puede explicar, mediante las siguientes leyes:

1. **Ley de Lambert (o Bouguer):** La cantidad de luz absorbida o **absorbancia** (**A**), depende de la **absortividad** (**a**) del líquido y de la **longitud del trayecto óptico** (**b**) a través de la solución, en el supuesto de que la longitud de onda (λ) y la muestra permanezcan constantes,

$$A = a \cdot b$$

2. Ley de Beer: Relaciona la transmisión con la concentración C de la solución. En consecuencia, para un trayecto óptico dado, la absorción vendrá dada por:

$$A = a \cdot C$$

3. Ley de Lambert-Beer: Establece una relación lineal entre la absorbancia y la concentración, al mantener constantes b y la longitud de onda. Al medir la relación I_1 / I_0 se puede determinar la absorbancia y con ella calcular la concentración. Si bien la Ley de Beer se mantiene a bajas concentraciones, es frecuente observar desviaciones a concentraciones más elevadas (Mosquera, 2012).

$$A = a \cdot b \cdot C$$

Otros Métodos Preliminares y de Orientación que Permiten Identificar Cualitativamente la Presencia de Plaguicidas Organofosforados

Hidrolisis Alcalina

Es un fenómeno químico donde los grupos hidroxilo u oxidriilo (OH^-), presentes en el agua, reaccionan con el ingrediente activo, ocasionando la ruptura y modificación de la estructura química de dicha molécula. Este proceso se magnifica y acelera en la medida que el pH del agua sea más elevado. Para entender mejor este fenómeno, se tendrá en cuenta la química usando los plaguicidas organofosforados como ejemplo. El átomo del fósforo divide el compuesto en dos partes, los plaguicidas son efectivos cuando las dos partes del químico están juntas; por consiguiente, cuando las partes están separadas los organofosforados son generalmente inocuos (Mosquera, 2012).

El ión oxidriilo (HO^-) reacciona rápidamente con la molécula de fósforo, dividiéndola en dos partes. A mayor alcalinidad del agua (mayor es la presencia de OH^-), más rápida será la pérdida de producto. Esto es lo que sucede a la mayoría

de los organofosforados en presencia de agua alcalina, el grado de destrucción varía de acuerdo con la alcalinidad y la temperatura del agua y el tiempo en que la mezcla permanece en el tanque. La positividad de esta prueba, se da al observar un color amarillo pálido o amarillo pajizo (Mosquera, 2012).

Averell-Norris

Es un método colorimétrico, en donde el grupo nitro en la molécula de algunos PO, se reduce a un grupo amino que es diazotizado con nitrito de sodio y se acopla con dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamina, su positividad se evidenciará al producir un color violeta o magenta intenso (Mosquera, 2012).

Las pruebas cualitativas están basadas en simples reacciones de color y cubren un número importante de drogas y otros tóxicos. Estas técnicas son rápidas económicas y sencillas, aunque su sensibilidad y especificidad no sea muchas veces las adecuadas. (Flanagan, 1995).

www.bdigital.ula.ve

Alimentos Vegetales

Las verduras y hortalizas son alimentos vegetales bajos en calorías, ricos en agua, fibra, vitaminas y minerales. Su acción antioxidante los hace indispensables en nuestra alimentación. El grupo de las verduras y hortalizas incluye una gran cantidad de alimentos vegetales procedentes de la huerta. Aquellos que tienen color verde en su parte comestible (ya sea en el tallo, hojas o inflorescencias) se denominan verduras. Se trata de un conjunto de alimentos que, junto con las frutas, actúan como antioxidantes naturales (Vilaplanta, 2004).

A continuación, se describen los aspectos básicos sobre los alimentos estudiados en esta investigación:

Caracterización y Morfología de la Lechuga (*Lactuca sativa*)

Las lechugas pertenecen a la familia de las asteráceas (compuestas). Esta familia, cuyo nombre actual deriva del griego Aster (estrella), se caracteriza porque sus flores están compuestas por la fusión de cientos e incluso miles de flores diminutas. Todas las lechugas que se cultivan hoy en día derivan de la humilde *Lactuca sativa*, la «lechuga silvestre» con hojas más pequeñas y duras, sabor acre y pequeñas flores amarillas que salen en verano y crecen como mala hierba en los terrenos baldíos de buena parte de Europa y Asia (Arroyo, Mazquiaran, Rodríguez, Valero, Ruiz, Ávila y Varela, 2018).

Los botánicos no se ponen de acuerdo sobre su origen. Conocida por sumerios, egipcios, persas, griegos y romanos, es una planta cultivada desde hace muchos años. Los egipcios representaban a Min, dios de la fecundidad y protector de las cosechas, por una lechuga. Los antiguos griegos y romanos la expandieron por toda la cuenca mediterránea. Y estos últimos tenían la costumbre de consumirla antes de acostarse después de una cena abundante para así poder conciliar mejor el sueño (Arroyo y Cols., 2018).

Las cuatro variedades hortícolas comunes son la lechuga de cogollo, la de hoja rizada, la romana y la de tallo. La de cogollo forma una cabeza parecida a la de la col; la de hoja rizada produce hojas separadas, que no forman cogollo; la romana forma un cogollo largo y erguido y la de tallo tiene un tallo grueso comestible y hojas de sabor desagradable. Estacionalidad Planta herbácea anual. En la actualidad, la lechuga es una verdura cultivada al aire libre en zonas templadas de todo el mundo y también en invernaderos por lo que se encuentra en los mercados españoles y en su mejor momento de consumo durante todo el año (Arroyo y Cols., 2018). Es importante tener en cuenta los siguientes aspectos:

- ✓ **Porción comestible:** 74 gramos por cada 100 gramos de producto fresco (Arroyo y Cols., 2018).
- ✓ **Valoración nutricional:** La lechuga es un alimento que aporta un bajo contenido energético por su alto contenido en agua y su escasa cantidad de

hidratos de carbono, proteínas y grasas. En cuanto a su contenido en vitaminas, podemos mencionar que es fuente de vitamina C y folatos. Una ración de lechuga cubre el 15 % de las ingestas recomendadas de vitamina C. El aporte de minerales tampoco resulta especialmente significativo, aunque sí posee pequeñas cantidades de fósforo, potasio, hierro y calcio (Arroyo y Cols., 2018).

Sin embargo, es preciso tener en cuenta que las hojas de color verde intenso, que por lo general suelen ser las menos tiernas, son precisamente las más ricas en vitaminas y minerales, además también contiene flavonoides.

Caracterización y Morfología de la Cebolla (*Allium cepa L*)

Forma parte de la familia de las liliáceas. Es una planta bienal de tallo subterráneo y reducido. El bulbo no es una raíz, sino un engrosamiento subterráneo del tallo de la planta. La verdadera raíz está formada por los filamentos que nacen en la parte inferior del bulbo. La planta de la cebolla contiene esencias volátiles sulfurosas que le confieren el sabor picante característico; uno de los componentes de estas esencias se disuelve con rapidez en agua y produce ácido sulfúrico; éste puede formarse en la película lacrimal que recubre el ojo, y por eso se llora al cortar cebolla (Arroyo y Cols., 2018).

Es un antiquísimo alimento. Se cree que procede de Asia. De lo que sí existen evidencias es de su cultivo 3.200 años a.C. Una inscripción encontrada en las pirámides de Egipto prueba que la adoraban como divinidad y que, junto al ajo, ocupaba un lugar importante en la dieta de los esclavos empleados en la construcción de las pirámides. Llegó a América de manos de los primeros colonizadores (Arroyo y Cols., 2018). Hay que tener en cuenta aspectos de interés, tales como:

- ✓ **Porción comestible:** 100 gramos por cada 100 gramos de producto fresco (Arroyo y Cols., 2018).

- ✓ **Valoración** nutricional: La cebolla es un alimento con bajo contenido energético. En la composición de las cebollas se ha de tener en cuenta su contenido en minerales y vitaminas. Las cebollas son fuente de potasio mineral que contribuye al funcionamiento normal de los músculos y del sistema nervioso. También es fuente de vitamina C. Una ración de cebolla (150 g) cubre el 48 % de las ingestas recomendadas de esta vitamina para la población de estudio. Hay que tener en cuenta que esta vitamina es termosensible, por lo que su aporte de vitamina disminuiría si la cebolla se consumiese cocinada (Arroyo y Cols., 2018).

Las cebollas son y ricas en flavonoides en compuestos azufrados responsables de su aroma. La vitamina C contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo. Es interesante destacar que los procesos culinarios (fritura, cocción...) no ocasionan grandes pérdidas sobre el contenido total de flavonoides en la cebolla, por lo que los platos elaborados con cebolla constituyen un buen aporte de estos componentes (Arroyo y Cols., 2018).

Caracterización y Morfología del Ajo Porro (*Allium porrum* L)

El ajo porro también llamado puerro, pertenece a la familia de las liliáceas, que cuenta con unas 3.500 especies de plantas herbáceas y árboles. El género *Allium*, al que pertenecen hortalizas tan conocidas como los ajos, las cebollas, las cebolletas y el cebollino, además del ajo porro, es el más importante de esta familia. Muchas de sus especies forman bulbos o engrosamientos subterráneos del tallo —esto no está tan marcado en los puerros— y son ricas en aceites esenciales sulfurados volátiles y picantes (Arroyo y Cols., 2018).

El verdadero origen del ajo porro, no se conoce con certeza, ya que nunca se ha encontrado una variedad silvestre. Pero, se cree que procede de Mesopotamia, Egipto, Turquía e Israel, donde se consumía hacia el año 3000 o 4000 a.C. Más adelante fue cultivado por los romanos, quienes, además de ser grandes consumidores de esta hortaliza, la introdujeron en Gran Bretaña, donde tuvo gran

aceptación. En la Edad Media, el puerro comenzó a adquirir importancia porque su consumo contribuyó a paliar el hambre de aquella época. Fue entonces cuando su cultivo se extendió por toda Europa y, desde allí, al resto del mundo. En la actualidad, en España, las zonas en las que el cultivo del puerro está más extendido son las del norte, entre las que destacan Navarra, La Rioja y País Vasco (Arroyo y Cols., 2018). Es oportuno tomar en cuenta, los siguientes aspectos:

- ✓ **Porción comestible:** 65 gramos por cada 100 gramos de producto fresco (Arroyo y Cols., 2018).
- ✓ **Valoración nutricional:** El agua es el componente mayoritario de este alimento. Además, es fuente de fibra y de algunas vitaminas (folatos, vitamina C, A y B6). Los folatos contribuyen a la formación normal de células sanguíneas. El consumo de 150 g de puerro aporta el 48 % de las ingestas recomendadas de esta vitamina para la población de estudio. No hay cantidades significativas de minerales, pero podemos mencionar el aporte de potasio y fósforo. El calcio y el hierro se asimilan peor respecto a cómo sucede con los alimentos de origen animal ricos en dichos nutrientes (no se asimila tan bien como el de origen animal, porque la fibra de la verdura interfiere en su absorción a nivel intestinal) (Arroyo y Cols., 2018).

Frutas

Se denomina fruta al fruto, la inflorescencia, la semilla o partes carnosas de órganos florales que hayan alcanzado el grado de madurez y sean adecuadas para el consumo humano. Presentan un alto contenido de hidratos de carbono, frecuentemente como azúcares mono y disacáridos (glucosa, fructosa y sacarosa) que les confieren dulzor a las frutas. Además, proporcionan un importante aporte vitamínico (vitaminas A, C, B1, B2, B6, ácido fólico) y mineral (potasio, hierro, calcio, magnesio, sílice, zinc, sulfatos, fosfatos, cloruros). Aportan fibra, principalmente celulosa y pectinas; la mayoría tienen un alto contenido de agua que oscila entre un 80 y 95 por ciento. Poseen antioxidantes, flavonoides,

terpenos, selenio, compuestos fenólicos y sustancias fitoquímicas (Vilaplanta, 2004).

Los aspectos básicos, sobre la fruta analizada en este estudio, se describió en el siguiente apartado:

Caracterización y Morfología de la Fresa (*Fragaria*)

Las fresas es un fruto de color rojo brillante, dulce y sabroso, en Occidente es considerada la "reina de las frutas", es una de las frutas más conocidas y versátiles, son las reinas de las bayas. Existen más de mil variedades diferentes de fresas y fresones, es una fruta de primavera, aunque también se puede encontrar a principios de verano (Arroyo y Cols., 2018).

- ✓ **Porción comestible:** 40 gramos por cada 100 gramos de producto fresco (Arroyo y Cols., 2018).
- ✓ **Valoración nutricional:** Es rica en antioxidantes y minerales como manganeso, magnesio y potasio, actúa como potente antiinflamatorio natural, ayudan a reducir el colesterol y el riesgo de hipertensión gracias a las antocianinas, tienen vitamina C, B2, B3 y ácido fólico, es muy rica en fibra, el 90 % aproximadamente es agua, es baja en azúcar, son especialmente bajas en calorías (27 y 34 kilocalorías por cada 100 gramos); por lo que, son muy recomendables en dietas cuyo objetivo sea controlar o bajar el peso (Arroyo y Cols., 2018).

Definición Operacional de Términos

Mercados Populares

Son recintos en el que se venden artículos de primera necesidad, generalmente alimenticios. Los mercados están formados por puestos individuales

que ofrecen productos de diversa índole con predominancia de los productos frescos: frutas, verduras, carne, pescado, entre otros (Horton y Hunt, 1988).

Intoxicación

Es una reacción fisiológica causada por un compuesto xenobiótico denominado toxina. Se produce por exposición, ingestión, inyección o inhalación de una sustancia tóxica siempre y cuando sea de composición química (Hoffmann y Papendorf, 2006).

Receptores Muscarínicos

Son receptores de neurotransmisores, proteínas transmembrana que son sensibles a la acción de la Ach. La muscarina imita las acciones estimuladoras de la acetilcolina sobre la musculatura lisa y glándulas (Guyton, 2006).

Receptores Nicotínicos

Son canales iónicos de la familia de receptores cys-loop de tipo colinérgicos, es decir, que son capaces de responder al mediador químico acetilcolina; se denominan nicotínicos porque pueden ser activados por la nicotina (Guyton, 2006).

Principio activo

Es el componente o ingrediente principal de un medicamento, pesticida o plaguicida que posee actividad biológica (Wilkinson y Moore, 1990).

Termosensible

Se dicen “termosensibles” los materiales y/o productos que son sensibles a los cambios de temperatura o que no resisten al calor. Se asocia tanto a materiales naturales o sintéticos, como a distintas especies animales e incluso a los seres humanos; como aquellas criaturas que disponen de un órgano o elemento corporal más sensible de lo común, que agudiza su percepción térmica (Hoffmann y Papendorf, 2006).

Diazotización

Es el proceso químico mediante el cual una amina aromática primaria rompe su cadena cíclica para convertirse en un compuesto de diazonio (Hoffmann y Papendorf, 2006).

www.bdigital.ula.ve

Operacionalización del Evento de Estudio

Para operacionalizar el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, es necesario la definición conceptual y la operacional de las mismas (Hurtado, 2012). Esta investigación se operacionalizó según el evento de estudio y el criterio de análisis (ver Tabla 3 y 4).

Tabla 3. Operacionalización del Evento de Estudio: Determinación de Plaguicidas Organofosforados

1.Evento	2.Definición Conceptual ¿Qué es?	3.Definición operacional ¿Cómo se mide?
Determinación de Plaguicidas Organofosforados en Alimentos Vegetales	Los plaguicidas organofosforados son una sustancia o mezcla de substancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedad humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daños (FAOSTAT, 2016).	La presencia de plaguicidas organofosforados se mide a través de métodos como cromatografía en capa fina. (Hurtado y Gutiérrez, 2005).
4.Dimensiones	5.Indicador	
- Presencia - Ausencia	Alimentos vegetales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lechuga ✓ Cebolla ✓ Ajo porro
	Fruta	Fresa

Fuente: Quintero, Ramírez y Rojas, 2023.

Tabla 4. Operacionalización del Criterio de Análisis: Cromatografía en Capa Fina

1.Evento	2.Definición Conceptual ¿Qué es?	3.Definición operacional ¿Cómo se mide?
Cromatografía en Capa Fina	La separación de los constituyentes de la muestra por cromatografía en capa fina se realiza sobre una delgada capa (100-200 µm) del material que constituye la fase estacionaria, generalmente compuesta por gel de sílice, depositado sobre una capa rectangular de vidrio, plástico o aluminio (Mosquera, 2012).	Se mide y visualiza iluminando la placa rectangular de vidrio (que contiene gel de sílice), con lámpara de luz UV con un barrido de 254-360 nm, se realiza el revelado físico; mientras que el revelado químico, con Cloruro de paladio al 0,1% en HCL 0,1 N. (Mosquera, 2012).
4.Dimensiones	5.Indicador	
- Positivo o aparición de manchas oscuras/ coloreadas	Compuestos	Principio activo
- Negativo o ausencia de manchas oscuras/ coloreadas	✓ Fulminator	Profenofos
	✓ Pyrinex	Clorpirifos
	✓ Parathión	Parathión
	✓ Malathión	Malathión

Fuente: Quintero, Ramírez y Rojas, 2023.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de investigación

Los tipos de investigación se definen por un objetivo en particular y características específicas. La investigación analítica es aquella que permite conocer la estructura de un evento de estudio a través de un criterio de análisis (Hurtado, 2012). Esta investigación fue de tipo analítica, ya que se analizó la presencia de plaguicidas organofosforados por cromatografía de capa fina en alimentos vegetales, comercializados en mercados populares.

Diseño de Investigación

El diseño de la investigación se debe precisar por medio de las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo determinado y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber (Hurtado, 2010). Por lo cual, la presente investigación se llevó a cabo mediante un diseño de campo y de laboratorio; además, tuvo un diseño experimental, puesto que las muestras fueron procesadas.

Población y Muestra

La población se define como el conjunto de unidades de las que se desea obtener información y sobre las que se van a generar conclusiones (Arias, 2006). En este caso, la población estuvo representada por los alimentos vegetales.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra estuvo representada por 3 alimentos vegetales como la cebolla, ajo porro, lechuga y una fruta: la fresa; obtenidos de mercados populares del Estado Mérida, que fueron analizados en el Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas", Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad de Los Andes.

Instrumento de Recolección de Datos

El instrumento de recolección de datos lo constituye cualquier recurso del que se vale el investigador para aproximarse a los fenómenos en estudio, y obtener de ellos la información requerida (Arias, 2006). En este estudio, se utilizaron las listas de cotejo para registrar la información.

Procedimiento de la Investigación

www.bdigital.ulb.ve

1. Recolección de la información

- Elección de los alimentos vegetales y plaguicidas: Se consultó con algunos agricultores, sobre el rubro que más usan para sembrar y el tipo de plaguicida más empleado, de esta forma elegir el alimento vegetal y plaguicidas con los cuales trabajamos en esta investigación. Una vez realizada la consulta, se escogieron los siguientes alimentos vegetales: lechuga, ajo porro y cebolla, así como una fruta: la fresa, en dicha consulta manifestaron que los plaguicidas que más usan son fulminator, pyrinex, Parathion y malathion, por tanto; fueron los elegidos para trabajar en el estudio.
- Mercados elegidos para la recolección de la muestra: El consumidor del Estado Mérida, para la adquisición de vegetales mencionados anteriormente, frecuenta con regularidad estos mercados populares: Mercado Milagrosa, Mercado Periférico, Mercado Principal y Mercado Soto Rosa.

2. Recolección de la muestra

- De cada mercado, se tomaron cuatro muestras aleatorias de ajo porro, lechuga, cebolla y fresas, por mercado, para un total de 16 muestras; cada una de 250 g de peso, se colocaron en bolsas plásticas etiquetadas con el nombre del mercado correspondiente (ver Figura 9), se trasladaron al Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas", de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes Mérida-Venezuela, para mantenerlas refrigeradas en nevera hasta su posterior análisis.

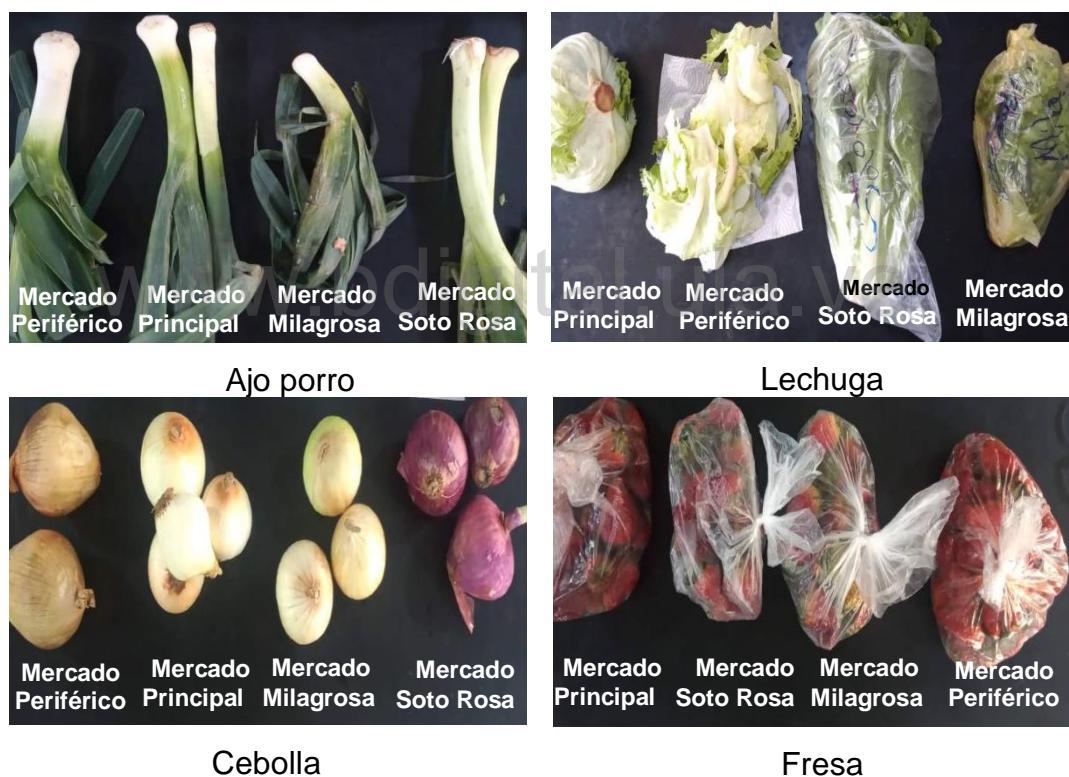


Figura 9. Muestras vegetales y fruta, tomadas de cuatro Mercados Populares

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

3. Procesamiento de la muestra

- **Licuado, medición de pH y filtrado**

- ✓ Se procedió al lavado de cada muestra vegetal, se cortó en trozos, seguidamente se licuó (ver Figura 10), agregando 250 mL de agua destilada, para homogeneizar.



www.bdigital.ula.ve



Fresa
Figura 10. Licuado de las muestras

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

- ✓ Una vez obtenidos los extractos de las muestras, se procedió a medir el pH de cada una, con un papel indicador de pH aproximado (ver Figura 11).



Lechuga

Figura 11. Medición del pH de las muestras licuadas

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

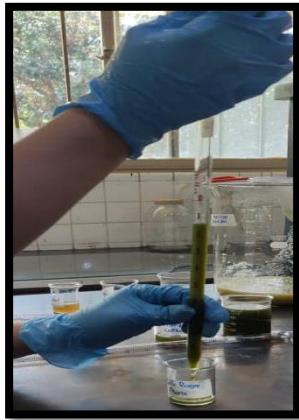
- Posteriormente se filtró con un colador (ver Figura 12), de ese filtrado se tomaron 20 mL de cada muestra (ver Figura 13), del cual 10 mL se tomaron como muestra pura, y los 10 mL restantes se contaminaron con los plaguicidas, para así usarlos como control, a estas muestras se les agregó dos gotas de cada plaguicida (las gotas fueron agregadas con pipeta Pasteur, bajo campana de extracción).



Lechuga

Figura 12. Filtrado de los extractos obtenidos de las muestras

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA



Lechuga

Figura 13. Extractos obtenidos de las muestras

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

• **Extracción**

- ✓ Se midieron 10 mL de cada muestra, se llevaron a un embudo de decantación de 100 mL, se agregó 20 mL de cloroformo y 5 mL de metanol; se agitaron vigorosamente por 10 min bajo campana de extracción (ver Figura 14), se dejó reposar y se separó la fase orgánica (se recibió en un vaso de precipitado de 50 mL); la fase acuosa se descartó.



Ajo porro



Lechuga

Figura 14. Extracción de las muestras

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

- ✓ Seguidamente, se realizó una segunda extracción y un primer filtrado en una inyectadora de 10 mL contenida con algodón y sílica gel (ver Figura 15).



Ajo porro

Figura 15. Segunda extracción y filtrado de las muestras con algodón y sílica gel

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

- ✓ Posteriormente, se llevó a cabo un segundo filtrado con un embudo y papel filtro (Número 4, marca Ederol®) (ver Figura 16), la fase orgánica fue recibida en 3 capsulas de porcelana (ver Figura 17), la capsula uno para realizar la prueba de hidrolisis alcalina, la capsula dos para realizar la prueba de Averell-Norris (ambas son pruebas, preliminares y de orientación para la identificación de plaguicidas organofosforados) y la capsula tres para cromatografía en capa fina.

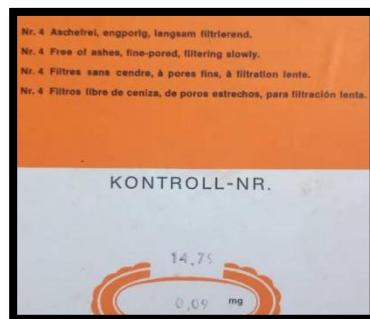


Figura 16. Papel filtro (Número 4, marca Ederol®)

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA



Figura 17. Fase orgánica contenida en capsulas de porcelana

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

- ✓ A las muestras contaminadas con plaguicidas, también se les realizó el proceso de extracción.

- **Tratamiento con carbón activado**

- ✓ A las muestras de ajo porro, fue necesario realizar un tratamiento con carbón activado (ver Figura 18), dejándolo actuar por 20 min para eliminar la clorofila y poder aclarar, después se procedió a realizar el filtrado en embudo y papel filtro. La fase orgánica de cada muestra se llevó a baño de maría hasta sequedad, se reconstituyó con 3 mL de cloroformo; para su posterior sembrado.



Figura 18. Tratamiento con carbón activado a la muestra de ajo porro

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

4. Técnica usada para la determinación cualitativa

- **Cromatografía en capa fina:** Se realizó el protocolo usado por el Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas", de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes Mérida-Venezuela. Se fundamenta en el fenómeno de adsorción selectiva, en donde la fase estacionaria está constituida simplemente por una tira de papel de filtro. La muestra se deposita en un extremo, colocando pequeñas gotas de la disolución y evaporando el disolvente. Luego el disolvente (empleado como fase móvil) se hace ascender por capilaridad. La separación se realiza en función de la afinidad de los solutos con las dos fases, las más solubles en agua se quedarán cerca del punto donde se aplicó la muestra, y las menos solubles en agua y más solubles en el disolvente, llegarán más lejos.

Los componentes individuales pueden ser detectados como manchas separadas a lo largo de la placa o del papel. Las sustancias separadas, se identifican mediante diversos procedimientos físicos o químicos. El protocolo realizado, se describe a continuación:

✓ **Placa**

- Se utilizaron placas comerciales con el absorbente TLC sílica gel 60 F254 marca Merck®, con un tamaño de 20 cm de alto por 20 cm de ancho. (se usaron placas de aluminio).
- Con un lápiz grafito, se trazó una línea desde la base inferior a la superior, dejando un espacio de 2 cm, luego se realizaron trazos del extremo izquierdo al derecho, para dividir la placa en 14 divisiones de 1 cm de ancho, dejando espacios de 1 cm entre cada muestra.

✓ **Sembrado**

- Con la ayuda de un capilar de vidrio, se tomó la muestra de un tubo de ensayo, se introdujo el capilar y el líquido subió por capilaridad; se pinchó la placa con el capilar brevemente dejando secar; 15 veces, se repitió esta operación para todas las muestras puras, muestras contaminadas con plaguicidas y los patrones (ver figura 19). El sembrado se hizo de la siguiente manera:

Placa de lechuga:

- Pozo 1 Mercado Milagrosa
 - Pozo 2 Mercado Periférico
 - Pozo 3 Mercado Principal
 - Pozo 4 Mercado Soto Rosa
 - Pozo 5 Mercado Milagrosa contaminada con plaguicida
 - Pozo 6 Mercado Periférico contaminada con plaguicida
 - Pozo 7 Mercado Principal contaminada con plaguicida
 - Pozo 8 Mercado Soto Rosa contaminada con plaguicida
 - Pozo 9 plaguicida Fulminator
 - Pozo 10 plaguicida Pyrinex
 - Pozo 11 plaguicida Parathion
 - Pozo 12 plaguicida Malathion
- } Patrones
- Pozo 13 todos los plaguicidas

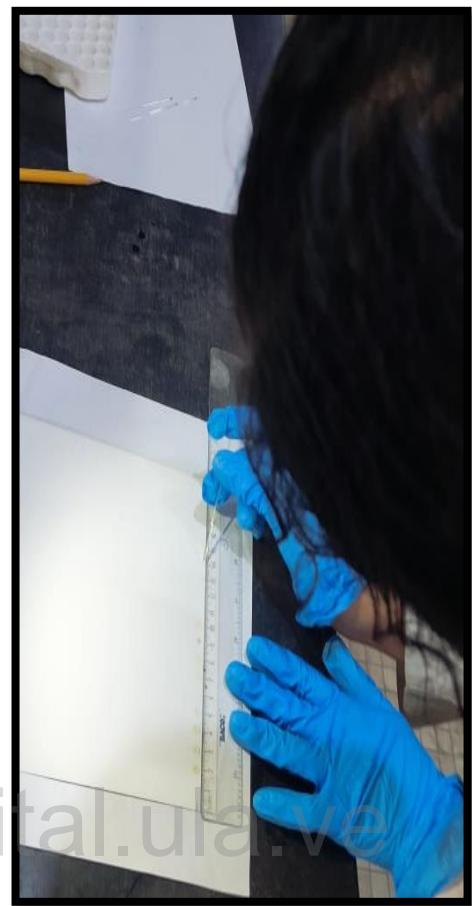
Para los demás alimentos vegetales, se siguió el esquema antes descrito.



Muestras listas para sembrar

Figura 19. Sembrado de las muestras en la placa cromatográfica

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA



Sembrado con capilar

✓ Elución cromatográfica

- En la cubeta cromatográfica se introdujo papel filtro, se agregó el solvente hasta ocupar 1 cm de altura, se esperó 30 min antes de introducir la placa; pasado este tiempo, se introdujo en la base y se colocó inclinada (para cada alimento vegetal y fruta, se usó una placa diferente) (ver Figura 20). Se dejó correr el solvente hasta un frente de disolvente, aproximado de 15 cm; el solvente de elución utilizado fue hexano 80 mL y Acetona 20 mL.

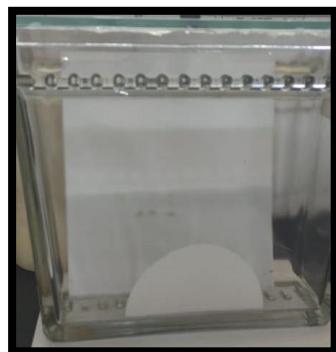


Figura 20. Cubeta conteniendo la fase estacionaria y la fase móvil

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

✓ **Revelado:**

- El revelado físico, se realizó con lámpara de luz UV (ver Figura 21), con un barrido de 254-360 nm; mientras que el revelado químico, se realizó con Cloruro de paladio al 0,1% en HCL 0,1 N.
- El revelador químico Cloruro de paladio, fue atomizado sobre la placa cromatográfica, secada al aire. En este tipo de revelado, si se observan manchas bien diferenciadas, tanto en las muestras como en los patrones, nos indica un resultado positivo.
- Luego, se comparó los valores del factor de retención o factor de resolución (R_f) obtenidos de las manchas de las muestras, frente a los valores de R_f de los patrones.



Figura 21. Revelado de las placas con lámpara de luz UV

Foto tomada por Ramírez, Aleinis. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

5. Tratamiento con bicarbonato de sodio

- Luego de observar las manchas en la placa cromatográfica de la muestra de fresa, se decidió realizar un tratamiento a dicha muestra obtenida en el mercado principal. El tratamiento, consistió en lavar la fresa con agua corriente, se colocó en un envase con agua contenido una cucharada de bicarbonato de sodio, por 15 min. Finalizado este tiempo, se lavó con agua de chorro y, se le realizó el mismo procedimiento que a las demás muestras (cromatografía de capa fina), con el fin de probar si realizando este tratamiento previo al consumo, se puede eliminar o disminuir de la fruta, la presencia del plaguicida.

6. Hidrolisis alcalina y Averell-Norris

- Luego de llevar a cabo la técnica de cromatografía de capa fina, se tomaron las muestras positivas (muestras que se les observó y corrió mancha en la placa cromatográfica), para realizarle las pruebas preliminares y de orientación de plaguicidas organofosforados a través de los métodos de hidrolisis alcalina y Averell-Norris.

- **Hidrólisis alcalina:** Se tomó la fase orgánica en cápsula de porcelana, previamente evaporada hasta sequedad, una vez dejada en reposo a temperatura ambiente, se le agregó 2 mL de etanol y 2 mL de agua destilada; además se agregaron 4 píldoras de NaOH, mezclándose con un agitador de vidrio, hasta total disolución.
- **Averell-Norris:** Se tomó la fase orgánica en capsula de porcelana, previamente evaporada hasta sequedad, una vez dejada en reposo a temperatura ambiente, se le agregó 2 mL de etanol y 2 mL de agua destilada. La muestra se transfirió a un tubo de ensayo, adicionándole 0,5 mL de HCL concentrado y 1 mg de Zinc en polvo, se llevó a calentamiento en baño de María durante 5 min, se filtró en un embudo con algodón de vidrio, se recogió en otro tubo de ensayo (al cual se le

añadió 0,5 mL de nitrito de sodio). Se dejó reposar por 3 min, luego se le añadió 0,25 mL de sulfamato de amonio, dejándose reposar por 2 min; por último, se adicionó 0,5 mL de N-(1-naftil)-etilendiamina.

7. Cromatografía preparativa

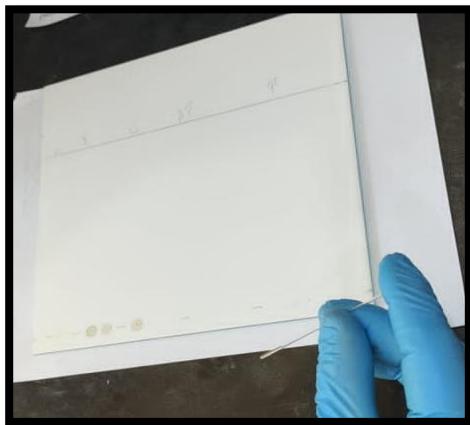
- Las muestras que dieron un resultado positivo en la técnica de cromatografía de capa fina (se les observó y corrió mancha en la placa cromatográfica), se corroboraron por medio de una placa preparativa de cromatografía.
- Las muestras positivas (ver Figura 22) fueron sembradas en la placa preparativa (ver figura 23), la misma se introdujo en la cubeta (ver Figura 24); pasado el tiempo oportuno se les realizó el revelado en lámpara de luz UV (ver Figura 25), se marcaron con lápiz grafito en la placa, se hizo el raspado con espátula (ver Figura 26), se colocó cada muestra en un tubo de ensayo y se agregó 3 mL de metanol, para reconstituir la muestra y proceder a leerlas en el espectrofotómetro.



Figura 22. Muestras positivas listas para sembrar en la placa preparativa

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

- Se finalizó con las lecturas de las muestras, en el equipo (espectrofotómetro UV-Visible: Recording Spectrophotometer marca SHIMADZU®) (ver Figura 27) realizando un barrido de 200-350 nm.



Sembrado de las muestras



Muestras sembradas

Figura 23. Sembrado de las muestras positivas en la placa preparativa

Leyenda: 1 (Muestra lechuga Mercado Periférico), 2 (Muestra lechuga Mercado Soto Rosa), 3 (Muestra fresa Mercado Milagrosa), 4 (Muestra fresa Mercado Principal), 5 (Muestra cebolla Mercado Milagrosa), 6 (Muestra cebolla Mercado Periférico), 7 (Muestra cebolla Mercado Soto Rosa), 8 (Muestra ajo porro Mercado Milagrosa), 9 (Muestra ajo porro Mercado Periférico), 10 (Muestra ajo porro Mercado Soto Rosa), 11 (Patrón Fulminator), 12 (Patrón Pyrinex), 13 (Patrón Parathión), 14 (Patrón Malathión).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

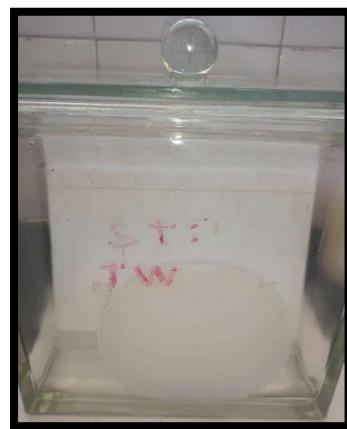


Figura 24. Cubeta conteniendo a la fase móvil (80 mL de hexano y 20 mL de acetona)

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

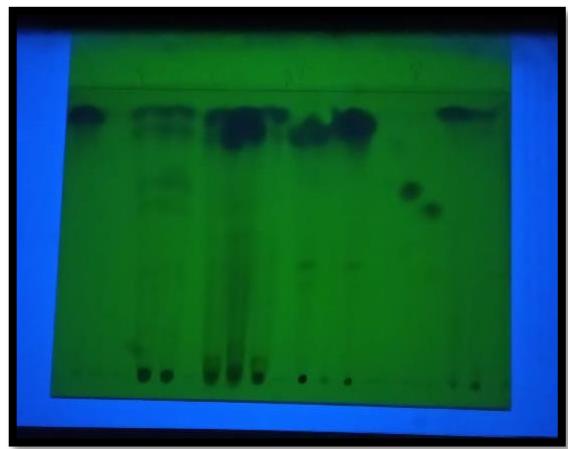


Figura 25. Revelado de la placa preparativa con la lámpara de luz UV

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA



Figura 26. Muestras en la placa preparativa para el raspado con espátula

Leyenda: 1 (Muestra lechuga Mercado Periférico), 2 (Muestra lechuga Mercado Soto Rosa), 3 (Muestra fresa Mercado Milagrosa), 4 (Muestra fresa Mercado Principal), 5 (Muestra cebolla Mercado Milagrosa), 6 (Muestra cebolla Mercado Periférico), 7 (Muestra cebolla Mercado Soto Rosa), 8 (Muestra ajo porro Mercado Milagrosa), 9 (Muestra ajo porro Mercado Periférico), 10 (Muestra ajo porro Mercado Soto Rosa), 11 (Patrón Fulminator), 12 (Patrón Pyrinex), 13 (Patrón Parathión), 14 (Patrón Malathión).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA



Figura 27. Espectrofotómetro marca SHIMADZU®

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Diseño de Análisis

Esta investigación presentó un enfoque cualitativo, porque se observaron las manchas en las placas cromatográficas y las coloraciones en las pruebas de hidrolisis alcalina y Averell-Norris; además, estos a su vez permitieron el reporte de los resultados.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

Determinación del pH de cada una de las muestras de alimentos vegetales y una fruta

En las muestras de tres alimentos vegetales y una fruta se obtuvieron los siguientes valores de pH (ver Tabla 5):

Tabla 5. Valores de pH de tres alimentos vegetales y una fruta obtenidos de Mercados Populares

Mercado/ alimento vegetal	Mercado principal	Mercado milagrosa	Mercado Soto rosa	Mercado periférico
Lechuga	6	6	7	6
Cebolla	6	5	5	5
Ajo porro	6	7	6	7
Fresa	3.5	4	4	4

Revelado de las placas

En las Tablas 6, 7, 8 y 9 se señalan los resultados obtenidos en el análisis de los plaguicidas organofosforados, mediante cromatografía en capa fina en muestras de alimentos vegetales (lechuga, cebolla y ajo porro); así como en una fruta (fresa), obtenidos de Mercados Populares del Estado Mérida.

Tabla 6. Cromatografía en capa fina de la lechuga

Muestra	Mercado	Resultado	
		Positiva	Negativa
Lechuga			
1	Milagrosa		X
2	Periférico	X	
3	Principal		X
4	Soto Rosa	X	

Tabla 7. Cromatografía en capa fina de la cebolla

Muestra	Mercado	Resultado	
		Positiva	Negativa
Cebolla			
1	Milagrosa	X	
2	Periférico	X	
3	Principal		X
4	Soto Rosa	X	

Tabla 8. Cromatografía en capa fina del ajo porro

Muestra	Mercado	Resultado	
		Positiva	Negativa
Ajo porro			
1	Milagrosa	X	
2	Periférico	X	
3	Principal		X
4	Soto Rosa	X	

Tabla 9. Cromatografía en capa fina de la fresa

Muestra	Mercado	Resultado	
		Positiva	Negativa
Fresa			
1	Milagrosa	X	
2	Periférico		X
3	Principal	X	
4	Soto Rosa		X

De acuerdo con los resultados obtenidos en la cromatografía en capa fina, se pudo observar lo siguiente: el 50 % de las muestras de lechuga obtenidas del Mercado Periférico y Soto Rosa fueron positivas a PO, el 50 % de lechuga del Mercado Milagrosa y Principal fueron negativas a PO; el 75 % de la cebolla y el ajo porro del Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa: positivas, el otro 25 % de cebolla y ajo porro del Mercado Principal: negativas; el 50 % de la fresa del Mercado Milagrosa y Principal: positivas y el 50 % restante de fresa del Mercado Periférico y Soto Rosa: negativas (ver Gráfico 1).

Gráfico 1. Porcentaje de muestras positivas y negativas a PO, analizadas mediante cromatografía en capa fina



Leyenda: LMM y P (Lechuga Mercado Milagrosa y Principal), LMP y SR (Lechuga Mercado Periférico y Soto Rosa), CMP (Cebolla Mercado Principal), CMM, P y SR (Cebolla Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa), APMP (Ajo porro Mercado Principal), APMM, P y SR (Ajo porro Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa), FMP y SR (Fresa Mercado Periférico y Soto Rosa), FMM y P (Fresa del Mercado Milagrosa y Principal).

En la muestra de lechuga obtenida del Mercado Periférico, se observó una mancha, al igual que también se observó una mancha en la muestra de lechuga del mercado Soto Rosa, la cebolla obtenida del Mercado Milagrosa se observó una mancha, de la misma manera se observó mancha en la muestra de cebolla obtenida del Mercado Periférico y Mercado Soto Rosa, seguidamente en la muestra de ajo porro del Mercado Milagrosa se visualizaron dos manchas 1A y 1B, al ajo porro obtenido del Mercado Periférico, se observaron dos manchas 2A y 2B, en la muestra de fresa obtenida del Mercado Milagrosa, se observaron tres manchas 1A, 1B y 1C, al igual que el Mercado Principal 3A,3B y 3C, para un total de 16 muestras positivas para PO(se les observó mancha).

A continuación, se muestran los Rf (Factor de resolución) obtenidos en cada una de las muestras vegetales y muestra de fruta. Este factor se calcula con la fórmula que sigue:

Factor de resolución (Rf)

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por la mancha}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

Tabla 10. Valores de Rf de tres muestras vegetales y una fruta

Muestra	Mercado		Distancia recorrida por la mancha(cm)	Distancia recorrida por el solvente (cm)	Rf
Lechuga	2.	Periférico	13 cm	13,5 cm	0.96
	4.	Soto rosa	13 cm		
Cebolla	1.	Milagrosa	12	13 cm	0.92
	2.	Periférico	12.1		0.93
	4.	Soto rosa	12.2		0.94
Ajo porro	1.A	Milagrosa	9.6	13 cm	0.74
	1.B		11.3		0.86
	2.A	Periférico	10.1		0.77
	2.B		11.1		0.85
	4.	Soto rosa	10.9		0.94
Fresa	1.A	Milagrosa	8.7	13,7 cm	0.63
	1.B		10.3		0.75
	1.C		12.5		0.91
	3.A		8.5		0.62
	3.B	Principal	10.2		0.74
	3.C		12.3		0.89

Tabla 11. Valores de Rf de los Plaguicidas Organofosforados

Plaguicidas organofosforados	Rf
Fulminator	0,64
Pyrinex	0,72
Parathion	0,55
Malathion	0,47

Todos estos valores de Rf, se resumen en las Tablas 12, 13, 14 y 15.

Es de hacer notar que en el revelado químico, de las tres muestras de alimentos vegetales y una fruta, se detectaron algunas manchas, indicativo de un resultado positivo (presencia de plaguicidas organofosforados). En el caso de la lechuga obtenida del Mercado Periférico, se observó una mancha en la muestra 2U (Única) (ver Figura 28 y Tabla 12) y en la lechuga obtenida del Mercado Soto Rosa se observó una mancha en la muestra 4U (Única) (ver Figura 28 y Tabla 11).

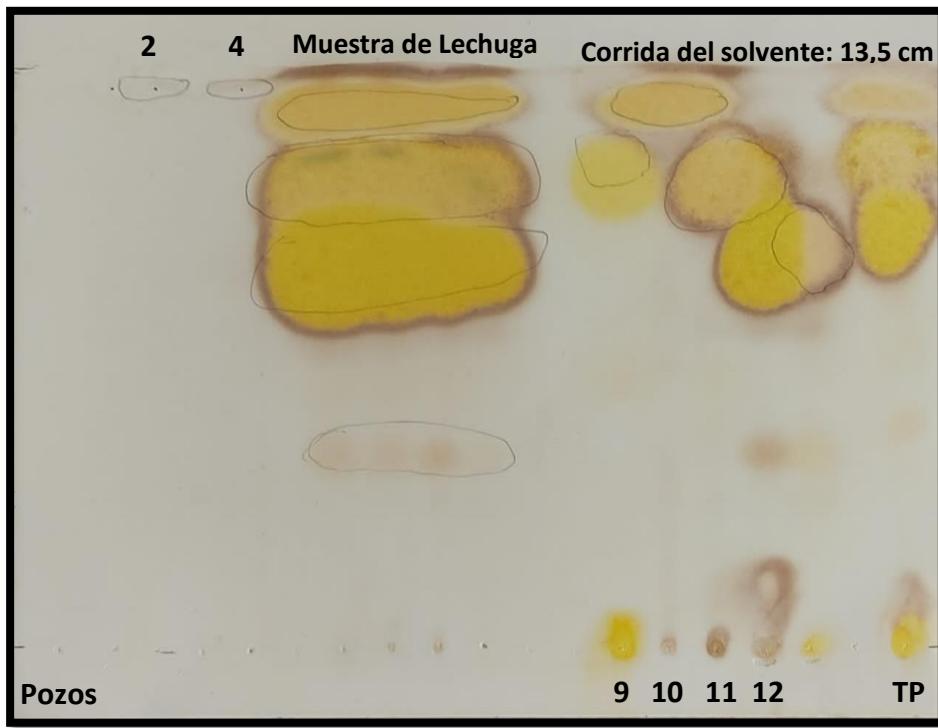


Figura 28. Placa cromatográfica de la muestra de lechuga

Leyenda: Pozo 2 (Muestra Mercado Periférico), Pozo 4 (Muestra Mercado Soto Rosa); **Pozo 9,10,11 y 12** (Patrones organofosforados), **Pozo 13** (todos los plaguicidas).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Tabla 12. Valores de Rf de la lechuga

Muestra	Mercado	Rf
Lechuga		
2	Periférico	0,96
4	Soto Rosa	

En la cebolla obtenida del Mercado Milagrosa se observó una mancha en la muestra 1 (ver Figura 29 y Tabla 11), en la cebolla obtenida del Mercado Periférico se observó una mancha en la muestra 2 (ver Figura 29 y Tabla 11) y en la cebolla obtenida del Mercado Soto Rosa se observó una mancha en la muestra 4 (ver Figura 29 y Tabla 13).

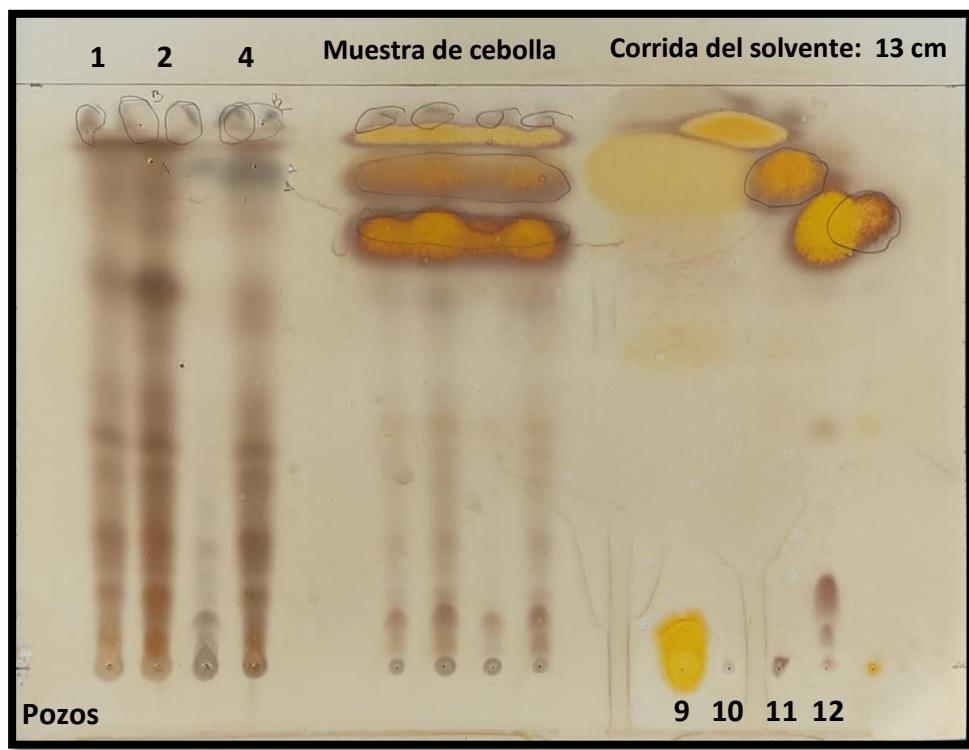


Figura 29. Placa cromatográfica de la muestra de cebolla

Leyenda: Pozo 1 (Muestra Mercado Milagrosa), Pozo 2 (Muestra Mercado Periférico) y Pozo 4 (Muestra Mercado Soto Rosa); Pozo 9,10,11 y 12 (Patrones de organofosforados).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Tabla 13. Valores de Rf de la cebolla

Muestra	Mercado	Rf
Cebolla		
1	Milagrosa	0,92
2	Periférico	0,93
4	Soto Rosa	0,94

En el ajo porro obtenido del Mercado Milagrosa, se observaron manchas en las muestras 1A y 1B (ver Figura 30 y Tabla 14), en el ajo porro obtenido del Mercado Periférico, se observaron manchas en las muestras 2A y 2B (ver Figura 30 y Tabla 14) y en el ajo porro obtenido del Mercado Soto Rosa, se observó una mancha en la muestra 4 (ver Figura 30 y Tabla 14).

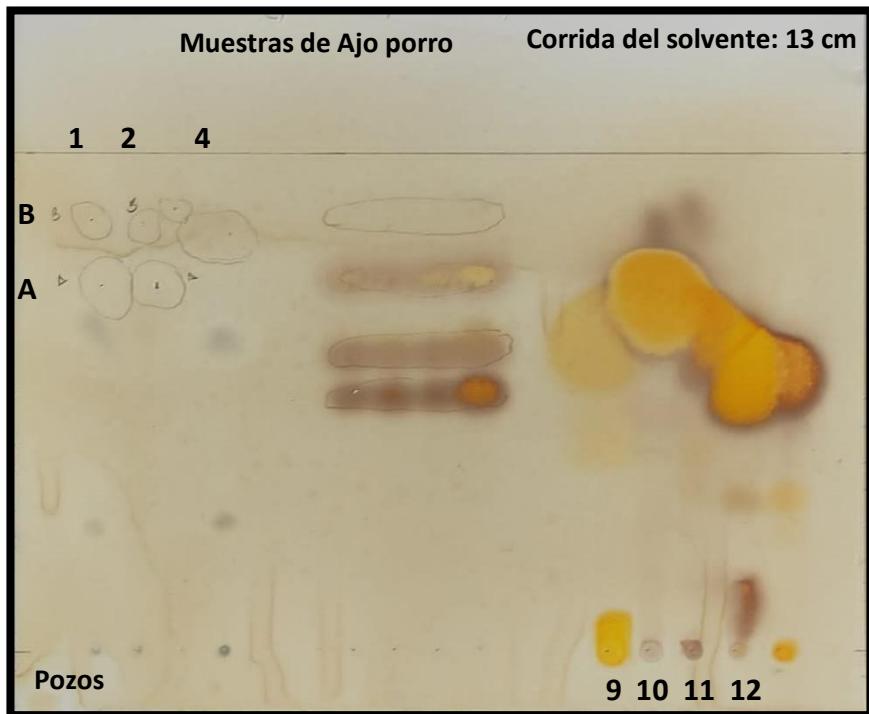


Figura 30. Placa cromatográfica de la muestra de ajo porro

Leyenda: Pozo 1A Y 1B (Muestra Mercado Milagrosa), Pozo 2A Y 2B (Muestra Mercado Periférico), Pozo 4 (Muestra Mercado Soto Rosa) y Pozos 9, 10 ,11 y 12. (Patrones organofosforados).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Tabla 14. Valores de Rf del ajo porro

Muestra	Mercado	Rf
Ajo porro		
1.A	Milagrosa	0,74
1B		0,869
2.A	Periférico	0,776
2B		0,85
4	Soto Rosa	0,94

En la fresa obtenida del Mercado Milagrosa se observaron manchas en las muestras 1A, 1B y 1C (ver Figura 31 y Tabla 15), en la fresa obtenida del Mercado Principal se observaron manchas en las muestras 3A, 3B y 3C (ver Figura 31 y Tabla 15).

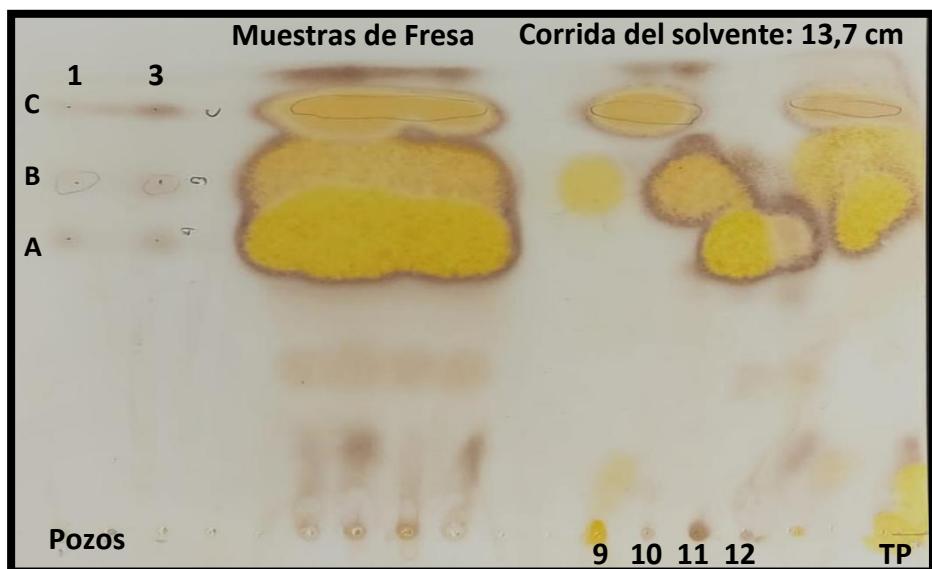


Figura 31. Placa cromatográfica de la muestra de la fresa

Leyenda: Pozo 1A, 1B Y 1C (Muestra Mercado Milagrosa), Pozo 3A ,3B Y 3C. (Muestra Mercado Principal); Pozo 9, 10, 11 y 12 (Patrones organofosforados), Pozo 13 (todos los plaguicidas).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Tabla 15. Valores de Rf de la fresa

Muestra	Mercado	Rf
Fresa		
1.A	Milagrosa	0,635
1B		0,75
1C		0,91
3.A	Principal	0,62
3B		0,74
3C		0,897

En los plaguicidas organofosforados, se observaron manchas denotando un resultado positivo (ver Tabla 16). Finalmente, en los patrones: plaguicidas organofosforados (directos con metanol), se observaron manchas, señalando positividad en todos los patrones.

Tabla 16. Valores de Rf de los Plaguicidas Organofosforados

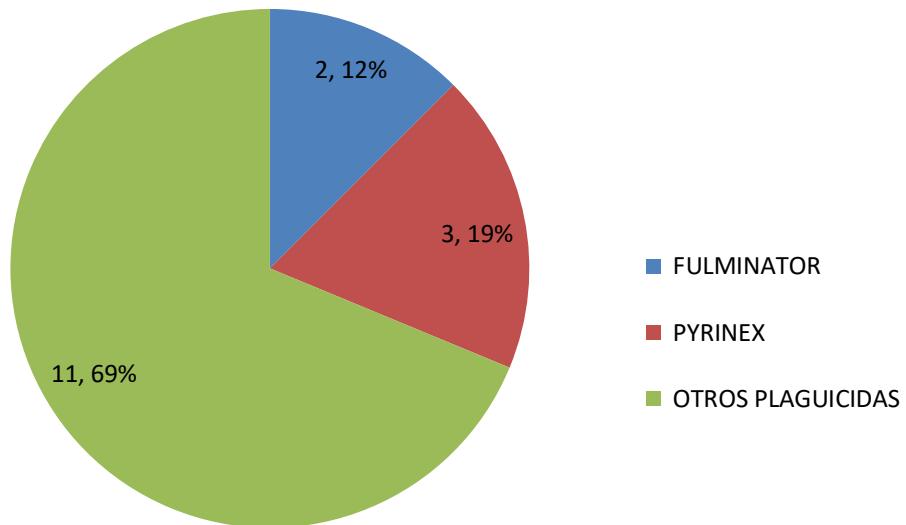
Plaguicidas organofosforados	Rf
Fulminator	0,64
Pyrinex	0,72
Parathion	0,55
Malathion	0,47

Rf de los Patrones

En la presente investigación, se tomaron como patrones, los mismos valores de Rf de los plaguicidas organofosforados con los que se trabajó (ver Tabla 15).

Al confrontar los valores de Rf de las muestras, por ejemplo la lechuga del Mercado Periférico y Soto Rosa, ambas con un Rf de 0,96; la cebolla del Mercado Milagrosa (1: Rf 0,92), Periférico (1: Rf 0,93) y Soto Rosa (1: Rf 0,94), el ajo porro del Mercado Milagrosa (1A: Rf 0,74 y 1B: Rf 0,869), Mercado Periférico (2A: Rf 0,776 y 2B: Rf 0,85) y Mercado Soto Rosa (4: Rf 0,94) y la fresa del Mercado Milagrosa (1A: Rf 0,635; 1B: Rf 0,75 y 1C: Rf 0,91) y Principal (3A: Rf 0,62; 3B: Rf 0,74 y 3C: Rf 0,897); con los valores de Rf de los patrones: Fulminator (0,64), Pyrinex (0,72), Parathion (0,55) y Malathion (0,47), se pudo notar que la mayoría de los valores de Rf de las muestras(11muestras), se hallaron por encima de los valores de Rf de los patrones, por lo que se dedujo que estas muestras contenían presencia de otro plaguicida no trabajado en este estudio, por tanto solo se tomaran en cuenta las muestras que dieron en el rango de Rf de los plaguicidas organofosforados, las cuales serán corroboradas por cromatografía preparativa, las muestras que dieron por encima de los valores de Rf de los plaguicidas estudiados no se tomaran en cuenta para realizar la cromatografía preparativa.

Grafico 2. Porcentaje de muestras positivas a los PO, por cromatografía de capa fina



www.bdigital.ula.ve
Hidrolisis Alcalina

Una vez realizada la prueba, se logró observar que todas las muestras probadas como la lechuga (Mercado Periférico y Soto Rosa); la cebolla (Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa); el ajo porro (Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa) y la fresa (Mercado Milagrosa y Principal), dieron positivas a PO, la misma se evidenció gracias a la aparición de un color amarillo pálido (ver Figura 32).

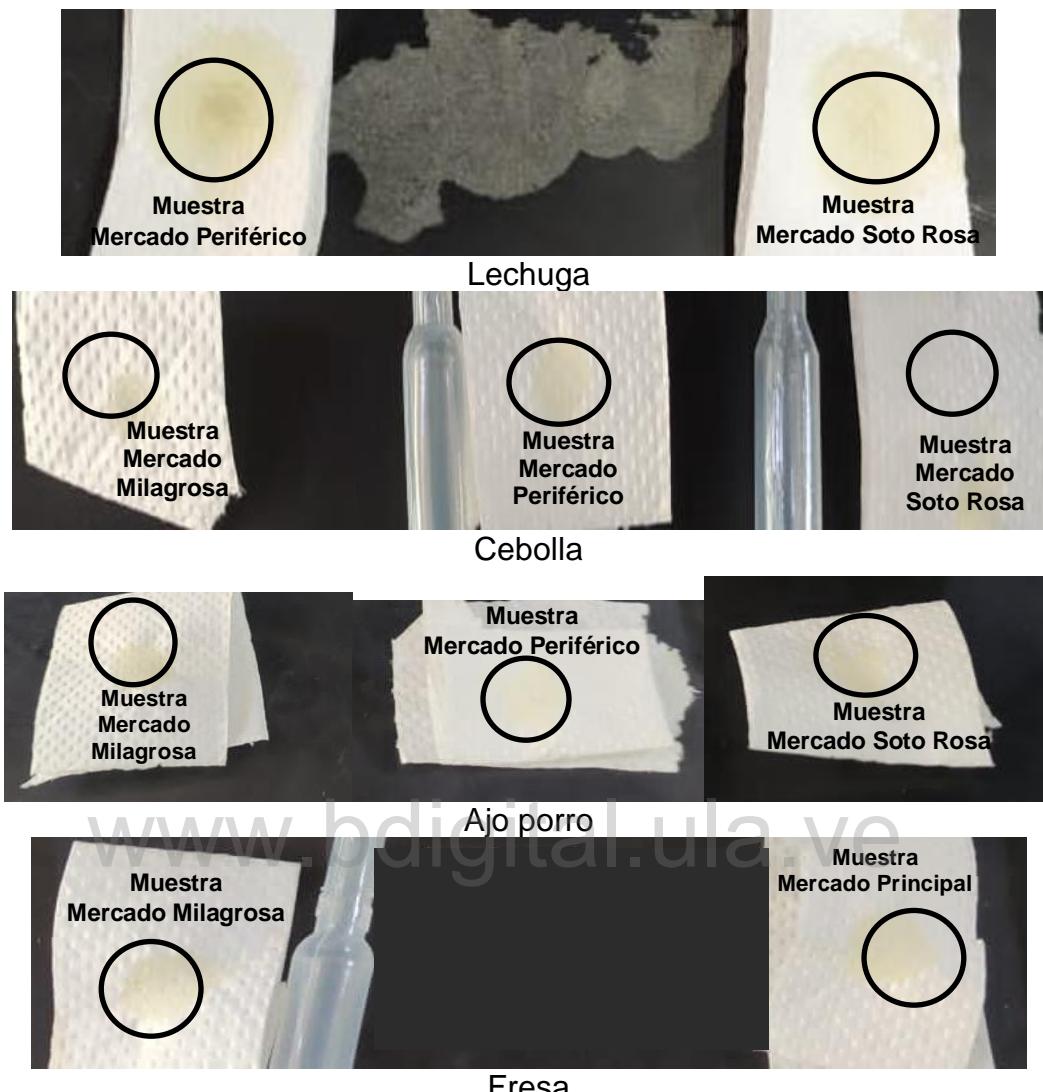


Figura 32. Resultados de la prueba de hidrolisis alcalina

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología
"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Averell-Norris

Finalizada la prueba, en todas las muestras estudiadas como la lechuga (Mercado Periférico y Soto Rosa); la cebolla (Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa); el ajo porro (Mercado Milagrosa, Periférico y Soto Rosa) y la fresa (Mercado Milagrosa y Principal), se apreció un color violeta claro, expresando la presencia de PO (ver Figura 33).

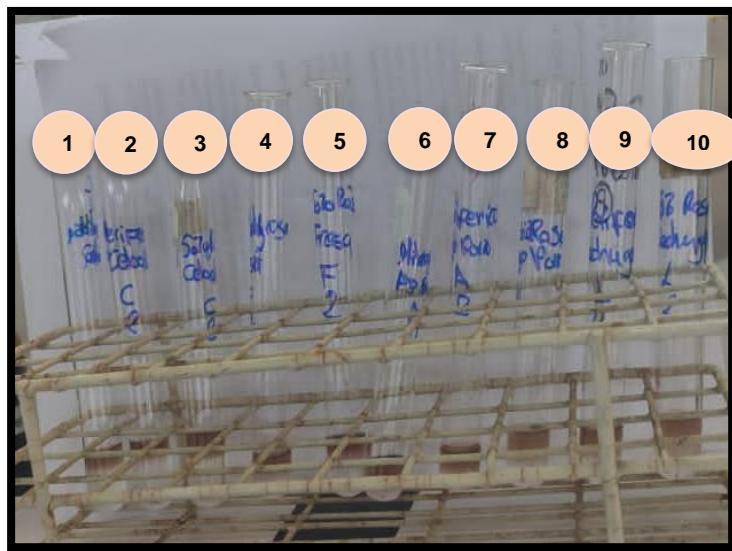


Figura 33. Resultados de la prueba de Averell-Norris

Leyenda: 1 (Muestra cebolla Mercado Milagrosa), 2 (Muestra cebolla Mercado Periférico), 3 (Muestra cebolla Mercado Soto Rosa), 4 (Muestra fresa Mercado Milagrosa), 5 (Muestra fresa Mercado Principal), 6 (Muestra ajo porro Mercado Milagrosa), 7 (Muestra ajo porro Mercado Periférico), 8 (Muestra ajo porro Mercado Soto Rosa), 9 (Muestra lechuga Mercado Periférico) y 10 (Muestra lechuga Mercado Soto Rosa).

Foto tomada por Quintero, María. Laboratorio de Toxicología

"Dr. Pablo Paredes Vivas". Facultad de Farmacia y Bioanálisis. ULA

Cromatografía Preparativa

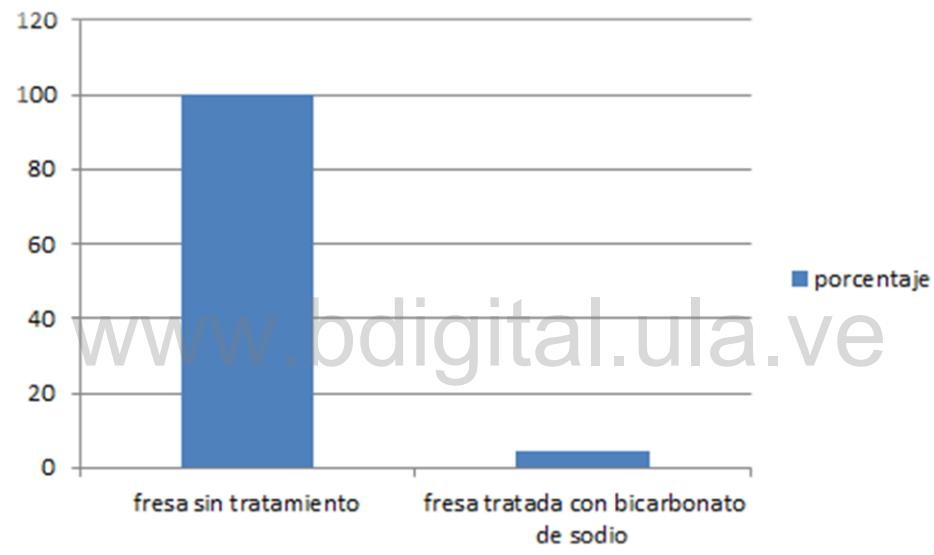
Tratamiento

El revelado físico con lámpara de luz UV a las placas cromatográficas, preparativas conteniendo a las muestras de fresa (una muestra tratada previamente con agua y bicarbonato de sodio), recolectadas en el Mercado Principal (leídas a un barrido de 200-350 nm); indicó que, realizando tal tratamiento, se pudo disminuir significativamente la presencia de los PO, con bicarbonato de sodio 4,49 % (ver Gráfico 2), ya que; una vez analizadas las placas, se visualizó una mancha muy clara. Seguidamente a estas manchas se les realizó la lectura en el espectrofotómetro arrojando ciertas longitudes de onda que se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Longitudes de onda del Tratamiento a la fresa con bicarbonato de sodio

Muestra C	Mercado	Longitud de onda
Fresa pura		231,8
Fresa tratada con bicarbonato de sodio	Principal	221,4

Gráfico 3. Porcentaje de reducción de PO en la muestra de fresa tratada con agua y bicarbonato.



Una vez realizada la cromatografía preparativa, de las muestras de alimentos vegetales y una fruta, se detectaron algunas manchas, en la muestra de ajo porro del Mercado Milagrosa se visualizaron tres manchas (1A,1B y 1C), en la muestra de fresa obtenida del Mercado Milagrosa, se observaron cuatro manchas (1A, 1B, 1C y 1D), al igual que el Mercado Principal (3A,3B,3C y 3D), dando un total de 11 manchas, que posteriormente se les realizará la lectura en el espectrofotómetro.

Por otro lado, las lecturas obtenidas en el revelado físico con lámpara de luz UV, de las tres muestras de alimentos vegetales y una fruta, leídas a un barrido de 200-350 nm, se pueden ver en las Tablas 18 y 19. Cabe destacar, que una vez

comparadas estas longitudes de onda, con las longitudes de onda de los patrones (PO) trabajados directamente con metanol, se logró constatar que de las 11 muestras (ajo porro y fresa), analizadas por cromatografía preparativa, un alto porcentaje de las muestras ($n=10$); 36 % ($n=4$) concordaron con la longitud de onda del patrón Parathion; 27% ($n=3$) concordaron con la longitud de onda del patrón Pyrinex; otro 27% ($n=3$) concordó con la longitud de onda del patrón Malathion, particularmente 91 % de todas ellas ($n=11$), fueron positivas para estos PO (ver Gráfico 4).

Tabla 18. Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa del ajo porro

Muestra	Mercado	Longitud de onda
Ajo porro		
1.A		236,2
1B	Milagrosa	245,2
1C		241,8

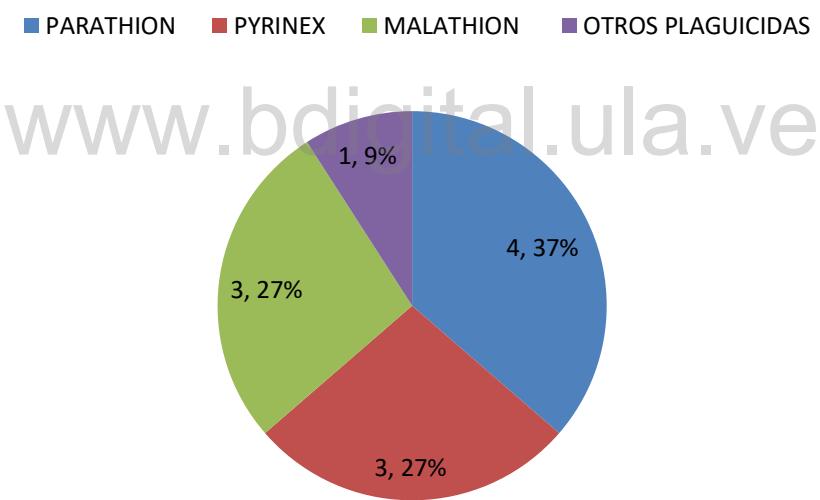
Tabla 19. Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa de la fresa

Muestra	Mercado	Longitud de onda
Fresa		
1.A		235,6
1B	Milagrosa	242,4
1C		241,4
1D		246,2
3.A		244,2
3B	Principal	235,4
3C		238,8
3D		250,6

Tabla 20. Longitudes de onda de la Cromatografía preparativa de los Plaguicidas Organofosforados

Plaguicidas organofosforados	Longitud de onda
Fulminator	217,2
Pyrinex	236,0
Parathion	237,0
Malathion	243,8

Gráfico 4. Porcentaje de muestras positivas para los patrones (PO): Parathion, Pyrinex, Malathion detectado mediante cromatografía preparativa



DISCUSIÓN

En la presente investigación, los resultados evidenciaron plaguicidas organofosforados, en las muestras probadas (lechuga, ajo porro, cebolla y fresa), por medio de la técnica de cromatografía en capa fina; puesto que la mayoría de

los valores de Rf de las muestras, sobrepasaron los valores de Rf de los patrones (PO). Estos hallazgos, también fueron determinados usando las pruebas preliminares y de orientación de hidrolisis alcalina y Averell-Norris; aunado a ello, corroborados por la técnica de cromatografía preparativa, logrando demostrar que un alto porcentaje de las muestras (n=10); 36 % (n=4) concordaron con la longitud de onda del patrón Parathion; 27% (n=3) concordaron con la longitud de onda del patrón Pyrinex; otro 27% (n=3) concordó con la longitud de onda del patrón Malathion, particularmente 91 % de todas ellas (n=11), lo cual se interpretó como un resultado positivo para estos PO.

Al respecto, algunos investigadores han publicado una serie de artículos que guardan relación con la presente investigación. Tal como, lo referido por Sánchez y Martínez (2017), estos determinaron la presencia de pesticidas organofosforados en 30 remolachas; mediante la técnica de cromatografía en capa fina, demostraron que un total de 21 muestras fueron positivas a pesticidas organofosforados, un 70 % de ellas estaban contaminadas. Aunque, otros investigadores obtuvieron porcentajes más bajos de PO; de igual forma, detectaron su presencia en las muestras estudiadas, entre ellos, Ramírez y Oregel (2018), quienes en muestras de calabaza, pepino, jitomate, cebolla, fresa y manzana (n= 30), además de jitomate y fresa orgánicos (n= 6), analizaron residuos de Malathion y Clorpirifos-etílico; a través de cromatografía en capa fina de alta resolución lograron notar residuos de Clorpirifos-etílico en 4 muestras de cebolla y en 1 muestra de manzana, para un 20 % de todas las muestras.

En el mismo orden de ideas, Ariful y Cols., (2019) determinaron los principales residuos de pesticidas organofosforados en 50 muestras de repollo, como patrones usaron el Clorpirifos, Diazinón, Fenitrotión y Quinalfos. Los resultados revelaron que, de las 50 muestras, 6 muestras con un 12 %, contenían residuos de Diazinón (3 muestras) y Clorpirifos (3 muestras); hubo algo muy característico, y es que todas las muestras que dieron un resultado positivo, estaban por encima de los LMR establecidos por la Comisión Europea, presentaron de 5 a 18 veces mayor cantidad de residuos. Del mismo modo, los autores Laureano y Peña (2021), analizaron la presencia de residuos del PO Metamidofos en papa, 15

muestras provenientes de 15 parcelas, por la técnica de cromatografía en capa fina. Encontraron que el 13,3 % de las muestras de papa, fueron positivas al PO Metamidofos.

Es importante destacar que si bien hay relación con los trabajos previos; también, existen algunas diferencias, en especial con los porcentajes, estas pueden estar relacionadas con las diferentes técnicas usadas, los patrones y las muestras recolectadas.

En un estudio realizado por Yang (2017) descubrió que sumergir manzanas en una solución de bicarbonato de sodio durante 2 minutos eliminaba más pesticidas que un remojo de 2 minutos en una solución de cloro o un enjuague con agua corriente del grifo, sin embargo, en este trabajo se necesitaron de 15-20 minutos de remojo en la solución de bicarbonato de sodio para tratar dicha muestra.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Un alto porcentaje de las muestras analizadas por cromatografía en capa fina, fueron positivas a PO, destacan las muestras de lechuga obtenidas del Mercado Periférico y Soto Rosa con un 50 %, ambas con un Rf de 0,96; la cebolla del Mercado Milagrosa (1: Rf 0,92), Periférico (2: Rf 0,93) y Soto Rosa (4: Rf 0,94) con un 75 %; el ajo porro del Mercado Milagrosa (1A: Rf 0,74 y 1B: Rf 0,869), Periférico (2A: Rf 0,776 y 2B: Rf 0,85) y Soto Rosa (4: Rf 0,94) con un 75 %; por último la fresa del Mercado Milagrosa (1A: Rf 0,635; 1B: Rf 0,75 y 1C: Rf 0,91) y Principal (3A: Rf 0,62; 3B: Rf 0,74 y 3C: Rf0,897) con un 50 %.
- Los Rf de los patrones fueron: Fulminator (0,64), Pyrinex (0,72), Parathion (0,55) y Malathion (0,47); teniendo en cuenta estos valores, 11 de las muestras (n=16) de lechuga, cebolla, ajo porro y fresa, estuvieron por encima de los Rf de los patrones (PO), por lo que se dedujo que estas muestras contenían presencia de otro plaguicida no trabajado en este estudio.
- Al confrontar los valores de Rf de las muestras con los valores de Rf de los patrones, de las 16 muestras estudiadas (lechuga, cebolla, ajo porro y fresa), 31% (n=5), coincidieron con el valor de Rf de los patrones de los plaguicidas usados en este estudio.

- Los resultados anteriores también se les realizó las pruebas preliminares y de orientación para plaguicidas organofosforados, las pruebas de hidrolisis alcalina y Averell-Norris. En ambas pruebas, las muestras fueron positivas; en la primera, se percibió un color amarillo pálido y en la segunda, un color violeta claro; demostrando así la presencia de residuos de PO en las muestras vegetales y una fruta.
- La técnica de cromatografía preparativa, ratificó los resultados hallados, en la cromatografía de capa fina.
- Los resultados obtenidos en la cromatografía preparativa, fueron evaluados en el espectrofotómetro, donde el total de las muestras ($n=11$) analizadas, 4 muestras coincidieron con las longitudes de onda del patrón Parathion, 3 coincidieron con las longitudes de onda del patrón Pyrinex, 3 coincidieron con la longitud de onda del patrón Malathion, indicando su presencia en los alimentos estudiados, representando un 91 % de contaminación de estos alimentos con dichos PO.
- Considerando que los PO (Fulminator, Pyrinex, Parathion y Malathion) detectados en las muestras examinadas (lechuga, cebolla, ajo porro y fresa), son muy poco solubles en agua; existe una gran posibilidad de que la población que los consume, corra el riesgo de intoxicación, si no toman medidas para disminuir sus concentraciones. Entre estas medidas, se pueden mencionar el tratamiento con agua y bicarbonato, el cual disminuyó notablemente la presencia de los PO al ser aplicados en la fresa, por tal motivo puede ser excelente alternativas a usar.
- La lechuga, cebolla, ajo porro y la fresa, se caracterizan por ser los rubros más consumidos por la población del estado Mérida; por ende, es una de la principal vía de exposición a los PO; llegando a ser

perjudicial a largo plazo en la salud de quienes los incluyen en su dieta alimenticia.

- Es el trabajo más reciente en Venezuela, sobre la determinación de plaguicidas organofosforados por cromatografía en capa fina, en alimentos vegetales.

RECOMENDACIONES

Estas recomendaciones surgen tras haber presentado algunas limitaciones durante la realización de la investigación, por esto los autores recomiendan:

- Determinar la presencia de plaguicidas organofosforados, en posteriores trabajos utilizando como blanco muestras de vegetales orgánicos, para así poder obtener los límites de detección.
- Determinar la presencia de plaguicidas organofosforados en otros alimentos vegetales como papa, tomate, repollo y ajo, e incluir más frutas, entre ellas mora y guayaba, que forman parte de la alimentación diaria de la población del Estado Mérida, mediante cromatografía de gases; debido a que esta técnica es más específica, permite determinar la cantidad del compuesto presente; así como su estructura química.
- Realizar una investigación comparativa sobre la determinación de PO en alimentos vegetales y frutas, usando cromatografía en capa fina y electroforesis capilar; de esta forma, verificar cuál de estas dos técnicas es más reproducible y sensible.
- Dar charlas a la población sobre el uso del tratamiento con bicarbonato de sodio y agua, aquí mencionado e incentivarla para que lo apliquen en los rubros que consumen, de esta manera les permita

reducir las concentraciones de los PO en los alimentos y por tal sea más segura su ingesta, algunos estudios refieren que realizando estos tratamientos puede ser una forma efectiva de eliminar algunos pesticidas (Yang, 2017).

- Visibilizar a los agricultores para que disminuyan el uso de PO en cultivos y, opten por la implementación de extractos vegetales de algunas especies como *Kalanchoe pinnata* y *Vernonanthura patens*; puesto que, estudios recientes argumentan que poseen actividad antibacteriana y antifúngica (Molina, 2022), (la primera especie se puede encontrar fácilmente en la ciudad de Mérida). Gracias a esta excelente e innovadora opción, se pueden obtener cosechas productivas y de calidad, aptas para su consumo sin ningún tipo de riesgo en la población, especialmente en los niños y adolescentes quienes tienen mayores requerimientos por estar en crecimiento; además, se cuida el ambiente, la tierra, el aire y el agua, se previenen problemas de aprendizaje, neuropatías y enfermedades futuras como el cáncer.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Arias, F. (2006). *El Proyecto de Investigación: Introducción a la Metodología Científica.* (5^a Ed.). Caracas: Episteme.
- Ariful, M., Ullah, A., Habib, M., Islam, M., Islam, S., Kaium, A., y Dalower, M. (2019). Determinación de los principales residuos de pesticidas organofosforados en repollo recolectado de diferentes mercados de Dhaka. Asia Pacific ***Environmental and Occupational Health Journal.***, 5(2): 30-35.
- Arroyo, P., Mazquiaran, L., Rodríguez, P., Valero, T., Ruiz, E., Ávila, J., y Varela, G. (2018). *Informe de Estado de Situación sobre "Frutas y Hortalizas: Nutrición y Salud en la España del S. XXI".* España: Fundación Española de la Nutrición (FEN).
- Bouchard, M., Bellinger, D., Wright, R., y Weisskopf, M. (2009). Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. ***Pediatrics.***, 125(6): 1270-1277.
- Bleecker, J., Neucker, K., y Colardyn, F. (1993). Intermediate Syndrome in Organophosphorus Poisoning: A Prospective Study. ***Critical Care Medicine.***, 21(11): 1706-1711.
- Camelino, O., Minchiotti, M., Bariles, R., López, R. (2018). Optimización de un procedimiento de oro mediante espectrofotometría UV/Vis. ***Materia.***, 23(2): 1-7.
- Centro de Ecogenética y Salud Ambiental, Universidad de Washington (2012). Riesgos a la salud por pesticidas en los alimentos. ***Center Ecogenetics and Environmental Health.***, 5 (1): 1-2.
- Chen, C., Qian, Y., Liu, X., Tao, C., Liang, Y., y Li, Y. (2012). Risk assessment of chlorpyrifos on rice and cabbage in China. ***Regulatory Toxicology and Pharmacology.***, 62, 125-130.

- Condarco, G., Cervantes, R., y Renjel, S. (2008). Manual de diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas por plaguicidas. (2^a ed.). Bolivia: Fundación PLAGBOL.
- Curl, C., Fenske, R., y Elgethun, K. (2003). Organophosphorus pesticide exposure of urban and suburban preschool children with organic and conventional diets. *Environ Health Perspect.*, 111(3): 377–382.
- Damalas, C., y Eleftherohorinos, I. (2011). Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental.*, 8, 1402-1419.
- Doménech, J. (2004). Plaguicidas. *Revista Elsiever.*, 23(7): 108-114.
- Eldefrawi, M., Eldefrawi, A. (1983). Neurotransmitter Receptors as Targets of Pesticides. *Journal of Environmental Science and Health.*, 18 (1): 65-88.
- Eddleston, M., y Phillips, M. (2004). Self Poisoning with Pesticides. *British Medical Journal.*, 328(1): 42-4.
- FAOSTAT, (2016). Visualizador de Cultivos y productos de Ganadería. Consultado [14 de junio, 2023]. Disponible: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize>
- Fernández, D., Mancipe, L., y Fernández, D. (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista Med.*, 18 (1): 84-92.
- Flanagan, R.J. (1995). *Manual de procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios de baja complejidad*. Geneva.
- Forman, J., y Silverstein, J. (2012). Comm on Nutrition; Council on Environmental Health. Organic foods: health and environmental advantages and disadvantages. *Pediatrics.*, 126 (1): 203-206.

- Gil, M., Selma, M., López, F., y Allende, A. (2009). Fresh-cut product sanitation and ash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology.*, 134, 37-45.
- Guyton, Hall. (2006). *Textbook of Medical Physiology*, (11^a Edition). Pág: 752.
- Henao, S., y Nieto, O. (2002). *Plaguicidas de Tipo Órganofosforados y Carbamatos*. Medellín: INCAP MDE. Pág: 2-5.
- Hernández, R., Fernández, C., y Batista, P. (2010). *Capítulo III. Planteamiento del Problema Cuantitativo. En: Metodología de la Investigación*. (5^a Ed.). México: Mc Graw Hill. Pág: 41.
- Hoffmann, U., y Papendorf, T. (2006). Organophosphate poisonings with parathion and dimethoate. *Intensive Care Med.*, 32(3): 464-8.
- Horton, P., y Hunt, C. (1988). "Sociología". (2^a edi.). México: Mc Graw Hill
- Hurtado, C., y Gutiérrez. M. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(4): 1-6.
- Hurtado, J. (2010). *El “Para Qué”, o los Objetivos de la Investigación. En: El Proyecto de Investigación. Comprensión Holística de la Metodología y la Investigación*. Caracas, Bogotá: Ediciones Quirón; Pág: 89-95, 150.
- Hurtado, J. (2012). *El proyecto de Investigación. Compresión holística de la metodología y la investigación*. Caracas: FEDUPEL.
- Laureano, J., y Peña, K. (2021). "Determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en *Solanum tuberosum* (papa) en la provincia de

Huancayo 2021" (Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico). Universidad Roosevelt, Huancayo-Perú.

Lotti, M. (1995). Cholinesterase Inhibition: Complexities in Interpretation. *Clinical Chemistry*, 41:1814-1818.

Lu, Ch., Toepel, K., Irish, R., Fenske, R., Barr, D., y Bravo, R. (2006). Organic Diets Significantly Lower Children's Dietary Exposure to Organophosphorus Pesticides. *Environ Health Perspect.*, 114(2): 260–263.

Mathews, C., Holde, V., y Ahern, K. (2006). *Bioquímica*. (3era ed.). España: Pearson Addison Wesley. Pág: 876 - 878.

Molina, S. (2022). Evaluación antibacteriana y antifúngica de extractos vegetales de *Vernonanthura patens* y *Kalanchoe pinnata* en condiciones de laboratorio. (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias naturales, Guayaquil, Ecuador.

Mosquera, D. (2012). *Estandarización de un método para la cuantificación de pesticidas organoclorados y organofosforados en suelos por cromatografía de gases con detectores FID y ECD* (Trabajo de grado para optar al título de Químico industrial). Universidad Tecnológica de Pereira, Risaralda: Colombia.

Opawoye, A., y Haque, T. (1998). Insecticide/Organophosphorus Compound Poisoning in Children. *Annals of Saudi Medicine*, 18(1): 171-2.

Ramírez, R., y Oregel, E. (2018). Estudio preliminar para la determinación de plaguicidas en vegetales comercializados en una zona de Michoacán (México). *Revista de Ciencias Ambientales: Tropical Journal of Environmental Sciences*, 52(2): 39-56.

Sánchez, V., y Martínez, J. (2017). *Presencia de pesticidas organofosforados en remolacha (*Beta vulgaris*)* (Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico). Universidad Alas Peruanas, Perú.

Yang, T. (2017). Effectiveness of Commercial and Homemade Washing Agents in Removing Pesticide Residues on and in Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65 (44): 9744–9752.

Vallejo, Y., (2021). La cromatografía en capa fina: una alternativa vigente en la industria farmacéutica. *Revista de Química.*, 35(2): 19-25.

Vilaplanta, M. (2004). Verduras y hortalizas. *Elsiever.*, 23(2): 120-132.

www.bdigital.ulb.ve