

DETERMINACION DE RESIDUOS DE CARBOFURAN (FURADAN)
EN TUBERCULOS DE PAPA (Solanum tuberosum L.)

FOR:
ONICA
CESAR L. ALBORNOZ BUCHELI

MADE
CARLOS MORA ROSERO

TESIS DE GRADO PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OPTAR AL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO

PRESIDENTE DE TESIS

LUIS ALFREDO MOLINA VALERO I.A. M.Sc.

COOPRESIDENTE

RUBY LONDOÑO URIBE I.A. M.Sc. Ph.D.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PASTO - COLOMBIA

1.982

"Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de Grado, son de responsabilidad exclusiva de sus autores".

Artículo 1º del Acuerdo No 324 del 11 de Octubre de 1.966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

DEDICO A:

MI MADRE

LA MEMORIA DE MI PADRE

MI ESPOSA

MIS HIJOS

MIS HERMANOS

MIS FAMILIARES

MIS AMIGOS

FLIGHTWAY
ONYX SKIN
MADE IN U.S.A.

CESAR L. ALBORNOZ BUCHELI

DEDICO A:

MI MADRE

MI PADRE

MI HERMANA

MI ESPOSA

MIS HIJOS

MIS FAMILIARES

MIS AMIGOS

CARLOS MORA ROSERO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO	
BIBLIOTECA	
ALBERTO QUIJANO GUERRERO	
No. <u>29346-</u>	Ej. <u>Facia</u>
Ej. <u>1</u>	Lb. _____
Valor \$ _____	Don. <input checked="" type="checkbox"/> Can. _____ Com. _____
Fecha _____	Rep. _____

PLASTWAY
UNION BRUSH
MADE IN U.S.A.

AGRADECIMIENTOS A:

LUIS ALFREDO MOLINA VALERO I.A. M.Sc.

RUBY LONDOÑO U. I.A. M.Sc. Ph.D.

ANITA TORRADO P. I.Q.

INES TORO SUAREZ Q.

YESID PONCE ORTIZ Q. Ph.D.

RICARDO BARRETO Ing. Agrólogo

BERNARDO MARTINEZ SANTACRUZ I.A.

CARLOS SALCEDO I.Q.

RENE ALBORNOZ BUCHELI I.A.

BENJAMIN SANDO SOTELO I.A.

EFREN CORAL QUINTERO I.A. M.Sc. Ph.D.

AL PERSONAL DE LA SECCION DE TUBEROSAS DE
LA ESTACION EXPERIMENTAL DE OBONUCO, AL
LABORATORIO DE RESIDUOS Y TOLERANCIAS EN
TIBAITATA DEL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECU-
UARIO (ICA).

A LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA
UNIVERSIDAD DE NARIÑO.

A TODAS LAS PERSONAS QUE EN UNA U OTRA FOR-
MA CONTRIBUYERON A LA REALIZACION DE TAL
INVESTIGACION.

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 Parámetros para el estudio de residuos.....	3
2.1.1 Residuo.....	3
2.1.2 Límite Máximo de Residuo (LMR) o Tole- rancia.....	3
2.2 Bases para el establecimiento del Límite Máxi- mo de Residuo (LMR) en productos agrícolas....	3
2.2.1 Práctica agrícola correcta.....	3
2.2.2 Toma de muestras.....	4
2.2.3 Conservación y envío de muestras.....	4
2.2.4 Evaluación toxicológica.....	5
2.2.5 Ingesta Diaria Admisible (IDA).....	6
2.2.6 Evaluación Química, Física y Toxicológi- ca del Carbofuran.....	9
2.2.6.1 Origen del Carbofuran.....	10
2.2.6.2 Aspectos Químicos del Carbofu- ran.....	10
2.2.6.3 Propiedades físicas.....	11
2.2.6.4 Metabolismo.....	11

	Pág.
2.2.6.5 Toxicología	12
2.2.6.5.1 Dosis carentes de efectos toxicológicos	14
2.2.6.5.2 Residuos.....	14
2.3 Otros parámetros.....	15
2.4 Aspectos analíticos.....	15
2.4.1 Almacenamiento de las muestras.....	17
2.4.2 Extracción de residuos.....	18
2.4.3 Limpieza o (purificación del extracto).....	18
2.4.4 Concentración de soluciones.....	18
2.4.5 Detección y cuantificación de residuos.....	18
2.4.5.1 Cuantificación.....	19
2.4.5.2 Confirmación.....	19
2.4.5.3 Límite de detección.....	20
2.4.5.4 Pérdidas y degradación.....	20
III. MATERIALES Y METODOS.....	21
3.1 Trabajo de campo.....	21
3.1.1 Diseño experimental.....	21
3.1.2 Cosecha y muestreo.....	26
3.2 Muestreo a nivel de agricultor.....	28
3.3 Trabajo de laboratorio.....	28

	Pág.
3.3.1 Descripción del método analítico.....	29
3.3.1.1 Extracción de las muestras.....	29
3.3.1.2 Limpieza de las muestras.....	30
3.3.1.3 Extracción de las muestras del experimento.....	31
3.3.1.4 Limpieza de las muestras del ex perimento.....	32
3.4 Estandarización del método analítico.....	33
3.5 Cuantificación.....	34
3.6 Interpretación del análisis de estandarización.	37
3.6.1 Estandarización del método.....	37
3.6.2 Recuperación del método analítico.....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
4.1 Estandarización del método.....	42
4.2 Comparación de las alturas de los picos y tiem- pos de retención de los estándares con los de las muestras reforzadas.....	44
4.3 Análisis de las muestras del experimento.....	46
4.4 Muestras del agricultor.....	52
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57

	Pág.
5.1 Conclusiones.....	57
5.2 Recomendaciones.....	57
VI. RESUMEN.....	59
SUMMARY.....	61
VII. BIBLIOGRAFIA.....	63

MADE IN U.S.A.
NEW YORK

T A B L A S

	Pág.
TABLA I. Consumo por persona-día de alimentos en general y de papa en particular, expresado en gramos (encuestas IGBF 1.972 y PAN 1.976) (3,12)	16
TABLA II. Dosis y épocas de aplicación de Carbofuran 3G en el experimento de campo.....	24
TABLA III. Datos del estandar y muestra reformada obtenidos en la estandarización del método analítico.....	39
TABLA IV. Resultados de la estandarización.....	43
TABLA V. Comparación, altura y tiempo de retención de los estandares.....	45

ILUSTRACIONES

	Pág.
FIGURA 1. Diagrama que identifica los puntos criticos y objetivos en la evaluación toxicológica de residuos de plaguicidas (Vetorazzi 1975)	7
FIGURA 2. Vias de metabolización del Carbofuran, las flechas más gruesas representan la vía más importante. P: en plantas, I: en insectos, M: en mamíferos (22).....	13
FIGURA 3. Mapa de campo del diseño experimental.....	22
FIGURA 4. Precipitación mensual y ciclo vegetativo de la papa (1980).....	25
FIGURA 5. Esquema del equipo empleado en la congelación con nitrógeno líquido de las muestras de campo.....	27
FIGURA 6. Conformación de un cromatógrafo de líquidos de alta presión. McNair y Squivel 1975 (16).....	35
FIGURA 7. Cromatograma de Carbofuran (500 ng).....	47
FIGURA 8. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con Carbofuran a un nivel de 0.231 ppm (volumen inyectado: 300 ul).....	48

	Pág.
FIGURA 9. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con Carbofuran a un nivel de 0.577 ppm (volumen inyectado: 200 ul).....	49
FIGURA 10. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con Carbofuran a un nivel de 1.154 ppm (volumen inyectado 200 ul).....	50
FIGURA 11. Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento N° 9 (volumen inyectado 200 ml) Tratamiento N° 9, frecuencia a la siembra, a la germinación, al aporque. Dosis: 3.03 gr po/planta.....	51
FIGURA 12. Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento N° 6 (volumen inyectado 200 ul) Frecuencia a la siembra, a la germinación, al aporque. Dosis 2.02 gr po/planta.....	53
FIGURA 13. Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento N° 3 (volumen inyectado 200 ul) Frecuencia a la siembra, a la germinación, al aporque. Dosis 1.01 gr po/planta.....	54
FIGURA 14. Cromatograma de una muestra de papa tratada con Carbofuran recolectada a un nivel de agri	

Pág.

cultor, volumen inyectado 200 ul (Finca
Chillanquer, variedad: Perda Pastusa, 2
aplicaciones: Siembra y Aporque.....

55

DETERMINACION DE RESIDUOS DE CARBOFURAN (FURADAN)
EN TUBERCULOS DE PAPA (Solanum tuberosum L.) (+)

POR:

CESAR L. ALBORNOZ BUCHELI

CARLOS MORA ROSERO

I. INTRODUCCION

La agricultura moderna en su afán de contribuir a la solución de la escasez de alimentos, ha desarrollado una tecnología de producción en la cual, la utilización de los plaguicidas para el control de los insectos, malezas, hongos y otros organismos perjudiciales ha sido uno de los pilares importantes. Con el correr del tiempo la utilización no técnica de estos productos ha incrementado su cantidad por unidad de superficie, generando una serie de problemas que han llevado a serias controversias, lo cual ha requerido del establecimiento de medidas y programas de gobierno que regulen y controlen la utilización de estos productos.

El aspecto relacionado con los residuos que dejan los plaguicidas en los alimentos, el ambiente y en el hombre, ha sido una de las preocupaciones de los gobiernos de muchos países y de organismos internacionales.

(+) Tesis de Grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia de Luis Alfredo Molina Valero I.A. N.Sc.

los, tales como la Organización Mundial para la Salud (OMS) y de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Se trata de un problema complejo que debe relacionarse con diferentes conocimientos respecto al uso correcto de plaguicidas, su persistencia, toxicidad y con la actividad adelantada en su control, para lograr en forma objetiva el establecimiento o fijación de límites máximos de residuos en los productos alimentarios, tanto del hombre como de los animales.

Por tal motivo se escogió la papa, por ser el producto agrícola de mayor importancia económica en el Departamento de Nariño, el que más se consume en el país y el cultivo que más absorbe plaguicidas, siendo el Carbofuran (Furadan) uno de los insecticidas de mayor utilización para el control del gusano blanco (Promotrypes vorax H.) por presentar éste, una alta toxicidad.

Por estas y otras razones se ha planteado el presente trabajo con los siguientes objetivos:

- I. Medir la residualidad del Carbofuran en tubérculos de papa provenientes de experimentos especialmente diseñados, siguiendo la utilización recomendada para el producto.
- II. Estandarización del método de detección de carbonatos.
- III. Mediante una revisión bibliográfica presentar los fundamentos más importantes que deben tenerse en cuenta en el estudio de residuos de plaguicidas, cuando estos constituyen la base para la fijación de los Límites Máximos de Residuos (LMR) en productos de cosecha.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Parámetros para el estudio de residuos.

2.1.1 Residuo.

Se denomina residuo a cualquier sustancia o sustancias presentes en los alimentos para el hombre y los animales, que resulta del uso de un plaguicida. Incluye también cualquier derivado específico, como los productos de degradación y conversión, los metabolitos y los productos de reacción, considerados como toxicológicamente importantes (5).

2.1.2 Límite Máximo de Residuo (LMR) o Tolerancia.

Es la concentración máxima de un residuo de plaguicida recomendada, como legalmente permitida en un producto alimentario. La concentración se expresa en miligramos de residuo del plaguicida por peso del producto alimentario (5).

2.2 Bases para el establecimiento del Límite Máximo de Residuo (LMR) en productos agrícolas.

El aspecto más importante cuando se trata de establecer un Límite Máximo de Residuo (LMR), es que la cantidad final de residuo no sea superior a aquella resultante de la práctica agrícola correcta (6).

2.2.1 Prácticas agrícola correcta.

La reunión conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial para la Salud (OMS), Joint Meeting for Pesticides Residues (JMFR) (6), han definido este término "como el uso oficialmente recomendado o autorizado de un plaguicida bajo condiciones prácticas en cualquier fase de producción, almacenamiento, transporte, distribución y proceso de alimentos o cualquier otro producto agrícola, teniendo en cuenta las variaciones y requisitos entre regiones y dentro de las mismas, así como las cantidades mínimas necesarias para conseguir un control adecuado, aplicando los plaguicidas de tal forma que dejen los menores residuos prácticamente posibles y toxicológicamente aceptables". El uso "recomendado o autorizado" es aquel que observa los procedimientos, incluso la formulación dosis, frecuencia de aplicación e intervalos anteriores a la recolección aprobados por las autoridades pertinentes.

2.2.2 Toma de muestras.

Para determinar residuos de Carbofuran en un cultivo de papa, debe tomarse muestras representativas, para lo cual se seguirán normas de muestreo aceptadas internacionalmente y que son específicas para cada producto a estudiarse. El muestreo utilizado será randomizado dentro de cada lote, para evitar mucha variación. Debe evitarse muestrear los extremos de los surcos o los lados de los lotes, preferiblemente se obtendrá muestras de los surcos centrales. La muestra de campo estará conformada por varias submuestras provenientes por lo menos de 10 sitios (15).

2.2.3 Conservación y envío de muestras.

El envío de las muestras en forma adecuada y oportuna es de vital importancia; lo primero es congelar para interrumpir cualquier proceso metabólico posterior a la toma de las muestras (15).

Debe llevarse lo más pronto posible al laboratorio, oja lá el mismo día. Cada muestra debe estar perfectamente identificada para lo cual se emplean tarjetas especiales donde se consigna lo relacionado al manejo del plaguicida en especial dosis, frecuencia de la aplicación, intervalo entre la última aplicación y la cosecha, además de los datos que informen sobre el cultivo (16).

El tamaño mínimo de la muestra de papa debe ser 1.5 kg logramos, compuesta por un mínimo de 10 unidades o tubérculos (15).

2.2.4 Evaluación toxicológica.

El segundo pilar fundamental para el establecimiento de Límite Máximo de Residuo (LMR) es el conocimiento de la Ingesta Diaria Admisible (IDA), cifra a la cual se llega mediante la evaluación toxicológica que hace del producto la reunión conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial para la Salud (FAO/OMS) (6).

Esta reunión puede considerarse como el organismo más estructurado para realizar este tipo de evaluaciones, ya que está conformado por científicos de todo el mundo quienes se reúnen anualmente y son citados por los directores tanto de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) como de la Organización Mundial para la Salud (OMS). Este grupo de expertos es multidiscipli-

plinario y aplican en las evaluaciones de seguridad las técnicas desarrolladas por la toxicología moderna (6).

Según Veteranzi (28), en la evaluación toxicológica de un plaguicida existen dos etapas principales:

- a) La obtención de datos importantes, los cuales provienen de pruebas experimentales en animales de laboratorio y cuando es posible, de observaciones hechas en el hombre.
- b) La interpretación y evaluación de estos datos para llegar a una decisión acerca de los límites aceptables que protegerán al consumidor sin ir en detrimento de la utilización del plaguicida.

Este proceso se muestra en la Figura 1, la cual puede interpretarse como sigue: La metodología toxicológica y de residuos 1, que proviene de una investigación apropiada 2, debe suministrar información adecuada 3, y que dada una interpretación correcta 4, contribuye a la formulación de decisiones toxicológicas y límites de residuos 5, lo cual proporciona una base razonable para las regulaciones 6 sobre el uso conveniente de un plaguicida (28).

2.2.5 Ingesta Diaria Admisible (IDA).

Esta expresión se usa para denotar bien sea un concepto o una cifra en términos de miligramos por kilogramo de peso corporal. El concepto de Ingesta Diaria Admisible (IDA) se basa en la opi -

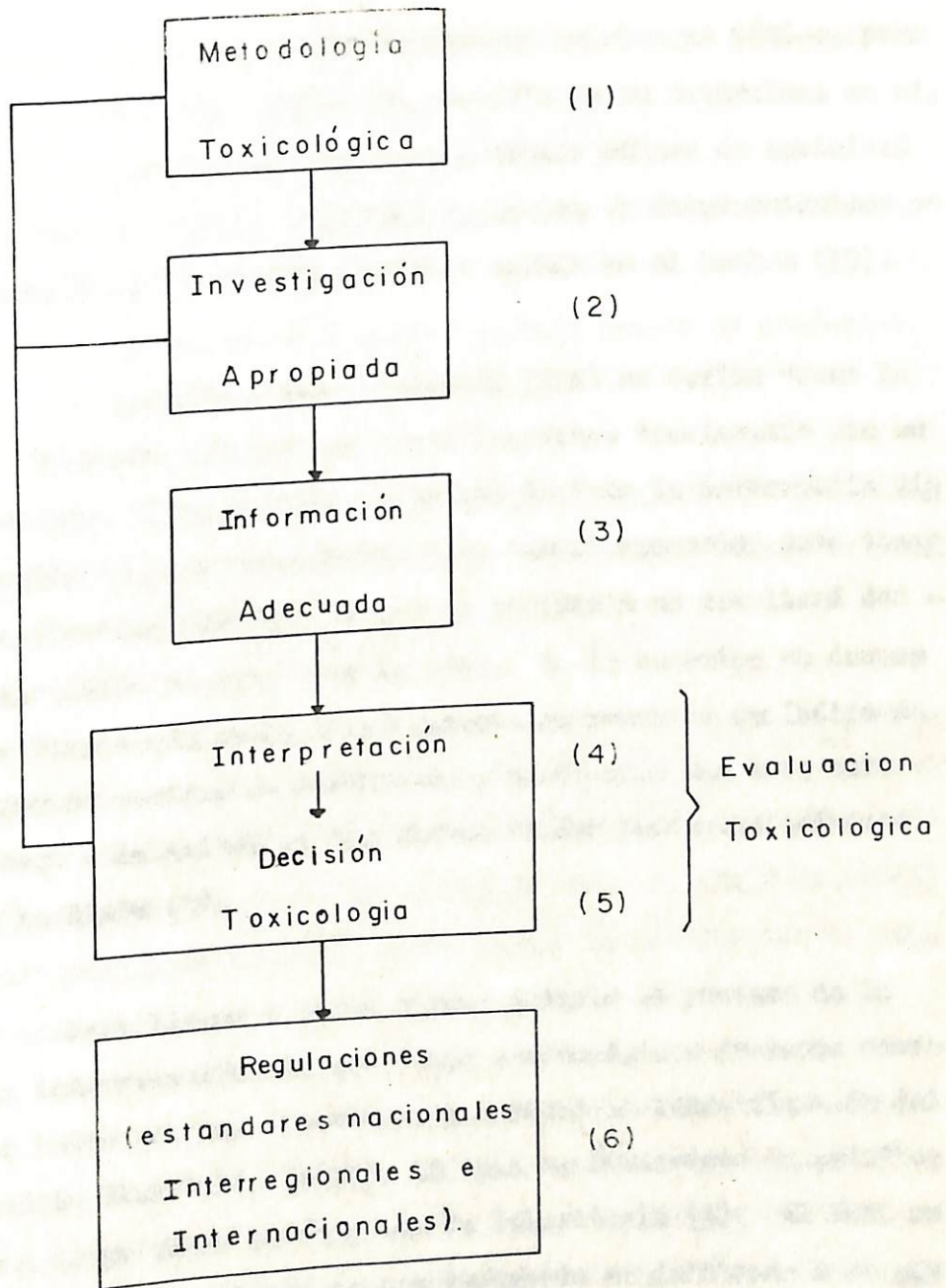


Figura 1. Diagrama que identifica los puntos criticos y objetivos en la evaluacion toxicológica de residuos de plaguicidas. (Vetorazzi 1.975)

nión ampliamente aceptada de que todo producto químico es tóxico, pero que su toxicidad varía ostensiblemente, no solo en su naturaleza en sí, sino en la cantidad que se requiere para producir signos de toxicidad (5). La cifra (mg/kg de peso corporal) se deriva de datos obtenidos en animales de laboratorio y en observaciones hechas en el hombre (19).

La Ingesta Diaria Admisible (IDA) se define "como la cantidad de un producto químico que puede ingerirse diariamente sin un riesgo aparente para el consumidor, a la luz de toda la información disponible al momento de la evaluación". "Sin riesgo aparente" debe tomarse como una certidumbre práctica de que el perjuicio no resultará después de una exposición durante toda la vida. De lo anterior se deduce que la Ingesta Diaria Admisible (IDA) intenta representar un índice de seguridad para cada residuo de plaguicida y sirve como una base para evaluar el riesgo a la salud, si hay alguno de los productos químicos que entran en la dieta (5).

Para llegar a estas cifras durante el proceso de la evaluación, la interpretación de los datos toxicológicos descansa sobre el juicio hecho por los expertos e involucra la identificación del Nivel de Efecto no Observable (NOEL), el cual se fundamenta en estudios toxicológicos a largo plazo en animales de laboratorio (5). El NOEL se define "como el nivel (cantidad) de una sustancia suministrada a un grupo de animales experimentales, en el cual no se presentan los efectos que se observan o se miden a niveles más altos y al cual no existe una diferencia significativa entre los grupos de animales expuestos a la acción del producto y el grupo testigo" (19).

El NOEL se determina en base a cuatro factores:

1. Potencial intrínseco de la sustancia para producir cambios celulares.
2. Afinidad entre la sustancia y el tejido receptor.
3. Respuesta del tejido tratado cuando se produce el contacto con el producto.
4. Efectividad de los reflejos celulares y sistémicos en resistir o modificar los cambios inducidos por la sustancia.

Una vez establecido el NOEL, el problema que se presenta es la extrapolación de este valor al género humano. La extrapolación al hombre a partir de la Ingesta Diaria Admisible (IDA) se puede conseguir dividiendo el NOEL por un factor de seguridad. El grado de seguridad obtenido por este procedimiento puede variar de acuerdo con el tamaño del factor escogido.

Este factor fue escogido en forma arbitraria por la Joint Meeting for Pesticides Residues (JMPR) y es de 100. La única razón para usarlo es que ha sido ampliamente aceptado y puede decirse que es útil como una guía general, que no debe aplicarse en forma rígida y su magnitud significa una adecuación de los datos toxicológicos disponibles (5).

2.2.6 Evaluación Química, Física y Toxicológica del Carbofuran.

2.2.6.1 Origen del Carbofuran.

Los aspectos químicos y toxicológicos más importantes del Carbofuran pueden resumirse así: pertenece al grupo de los carbamatos cuyo efecto toxicológico es como inhibidor de la colinesterasa (1).

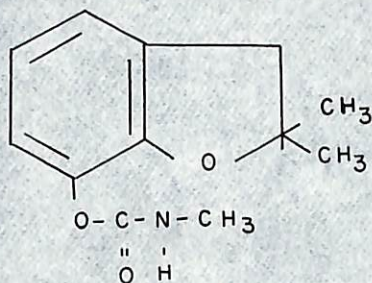
El Carbofuran es un compuesto N-acetilcarbamato se obtuvo en los laboratorios W.G. Scharpf de Alemania, se introdujo al mercado en 1.967 por la FMC Corp. bajo el nombre comercial de Furadan (1).

2.2.6.2 Aspectos Químicos del Carbofuran.

Nombre Químico: 2,3-dihidro-(2,2-dimetil-benzofurano)-7-dimetilcarbamato.

Fórmula empírica: $C_{12}H_{15}NO_3$

Fórmula estructural:



Este producto es estable en solución neutra o ligeramente ácida. La solubilidad en agua es de 700 ppm se degrada a temperaturas mayores de 130°C (24).

2.2.6.3 Propiedades Físicas.

Aroma suave a fenol. Densidad a 20°C es de 1.180 gr/cc, la temperatura de fusión es de 153°C, presión de vapor es de 2×10^{-5} mm de Hg a 33°C o 1.10^{-4} mm de Hg a 30°C, no es inflamable y soporta la combustión si se lo quema. Peso molecular 221.25 Moles. Soluble a 25°C en: N-metil-2-pyrrolidano 30% (P/P) Dimetil-formamida 27% (P/P); dimetil-sulfoxido 25% (P/P); ciclohexano 9% (P/P); benceno 4% (P/P); Xileno 4% (P/P); Eter de petróleo 1% (P/P); kerosene 1% (P/P); Agua a 25°C; 700 ppm y Metanol (1).

2.2.6.4 Metabolismo.

El Carbofuran se metaboliza mediante reacciones químicas de hidroxilación o hidrólisis en ratones, insectos y plantas. En los animales es metabolizado en el hígado y excretada en la orina. Un 50% que puede quedar en el organismo, se pierde entre 6 y 12 horas. En el suelo un 50% del producto se pierde o se degrada en un tiempo aproximado de 30 a 60 días. En plantas tratadas con éste insecticida, éste se puede translocar a los diferentes tejidos, y degradarse en los mismos, de acuerdo a la consistencia de la planta y al tiempo (21).

Debido a las diferentes reacciones que sufre el Carbofuran en el suelo, plantas y animales, este puede generar otros compuestos o metabolitos, que son el producto de la hidroxilación del carbono bencílico, como por ejemplo el 3-hidroxicarbofuran (hidroxilación), el cual puede ser subsecuentemente oxidado a 3-cetocarbofuran cuando no es bloqueado por las formas de conjugación (21).

La Figura 2 muestra la metabolización del Carbofuran en plantas, insectos y mamíferos. De estos metabolitos solo se han identificado tres, entre los cuales el de mayor importancia toxicológica es el 3-hidroxycarbofuran (23).

2.2.6.5 Toxicología.

El Carbofuran fue avaluado por la Joint Meeting for Pesticides Residues (JMPR) en 1.976 y en 1.979. De acuerdo con el informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial para la Salud (OMS) en 1.980 y no se hallaron diferencias entre las ratas jóvenes y las adultas en la inhibición de la colinesterasa. Estudios sobre la reproducción, que incluían una evaluación del potencial teratogénico del Carbofuran, mostraron que este compuesto no es teratogénico y no influye en la reproducción de los mamíferos (5).

Estudios dietéticos prolongados tanto en ratas como en ratones no lograron demostrar que el Carbofuran tenga potencial carcinogénico. En dos nuevos estudios prolongados se observó una dosis dietética carente de efectos. La depresión de la colinesterasa fue el efecto más sensible observado en estos estudios (18).

Los datos examinados satisfacían los requisitos de reuniones anteriores y permitieron el cálculo de dosis carentes de efectos en dos especies de mamíferos (ratón y rata). Con los perros los datos que revelaban una dosis carente de efectos de 50 ppm se basaban en síntomas clínicos de envenenamiento cuando no se efectuaron pruebas de colinesterasa (18).

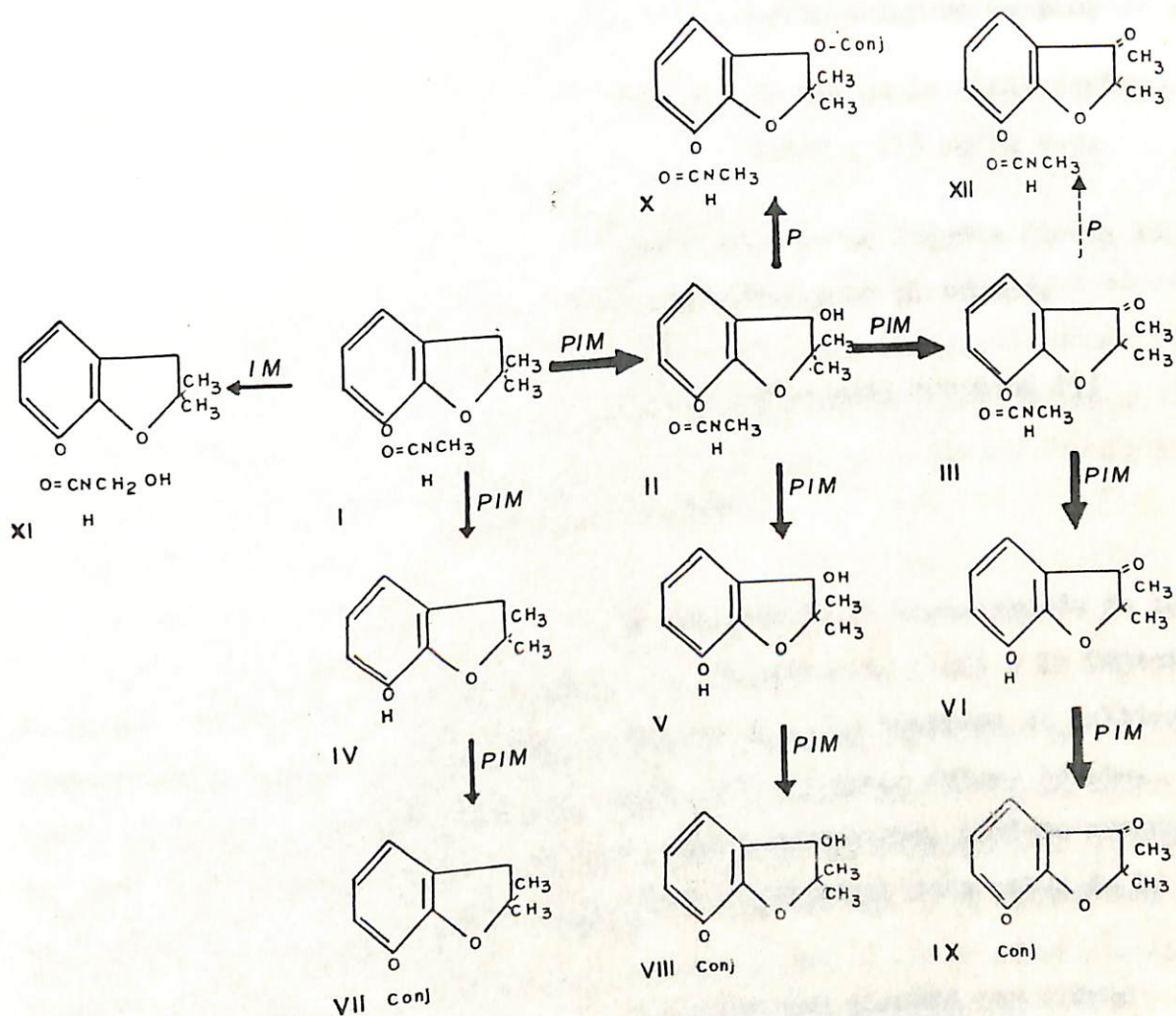


Figura 2. Vías de metabolización del carbofuran. las flechas mas gruesas representan la via mas importante. P: en plantas, I: en insectos, M: en mamíferos. (22).

2.2.6.5.1 Dosis carentes de efectos toxicológicos.

Ratas: 20 ppm en la dieta equivalente a 1.0 mg/kg p.c.

Ratóns: 20 ppm en la dieta equivalente a 2.5 mg/kg p.c.

Estimación de la Ingesta diaria Admisible (IDA) para el hombre.

0-0.01 mg/kg peso corporal (5)

2.2.6.5.2 Residuos.

El informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial para la Salud (OMS), reporta que los residuos en cultivos tratados como berenjenas, patatas, soya, maiz de grano dulce, tomate, son por regla general, muy bajos y no pueden detectarse, incluso aunque se haya hecho un tratamiento en las hojas vegetativas poco antes de la recolección (6).

Solamente las plantas que tienen una gran superficie foliar (alfalfa, col, pastos forrajeros, maiz, tabaco) contienen residuos en cantidades apreciables, que consisten principalmente en el Carbofuran intacto y en el 3-hidroxicarbofuran conjugado (7).

La mayor parte de los residuos retenidos en las plantas de frijoles tratados, con los que se alimentaron

ratas hembras fueron excretados en las heces, en tanto que los metabolitos conjugados fueron excretados en la orina (7).

El Límite Máximo de Residuo (LMR) para el Carbofuran en papa sugerido por la Joint Meeting for Pesticides Residues (JMFR) es de 0.5 mg/kg (5).

2.3 Otros parámetros.

Otras variables que se deben tener en cuenta para fijar el Límite Máximo de Residuo (LMR) de Carbofuran en papa, hacen referencia al consumo per cápita de alimentos en general y de papa en particular, y al peso corporal promedio del hombre colombiano que es de 60 kgr (Tabla I) (3, 10, 12).

2.4 Aspectos analíticos.

El análisis de residuos de plaguicidas es diferente de otro tipo de análisis químico, ya que se trata de identificar productos químicos cuya presencia es incierta o de identificar lo desconocido. Por esta razón es necesario tener presente, que los métodos o el método sea adecuado para discernir los compuestos pertinentes a los niveles adecuados; y estar seguro de la identidad de todos los residuos (19).

Los requisitos mínimos que debe reunir un buen método analítico según Londoño Ruby (16) son:

1. Definir que componentes del plaguicida tienen importancia toxicológica y farmacológica.

TABLA I

CONSUMO POR PERSONA-DIA DE ALIMENTOS EN GENERAL Y DE PAPA EN PARTICULAR,
EXPRESADO EN GRAMOS (ENCUESTA ICBF, 1.972 y PAN 1.976) (3,12)

Z O N A S	ENCUESTAS ICBF			ENCUESTAS PAN		
	Consumo aliment.	Consumo papa	% del total	Consumo aliment.	Consumo papa	% del total
Costa Atlántica	743	23	3.1	926	28	3.0
Antioqueña	770	89	11.5	902	66	7.3
Caucana	824	87	10.6	871	128	14.8
Cundinamarca	1.057	357	33.8	863	278	32.1
Villavicencio	860	186	21.6	-	-	-
Nariño	965	247	25.6	-	-	-
Santandereana	951	175	18.4	994	89	9.0
Tolimense	773	118	15.3	934	108	15.3
Territorios Nales.	909	77	8.5	-	-	-
San Andrés Islas	1.134	49	4.3	-	-	-
TOTAL NACIONAL	8.986	1.408		5.490	682	
PROMEDIO NACIONAL	899	141		915	116	

2. Producir datos a un nivel útil de detección para el establecimiento del Límite Máximo de Residuos (LMRs).
3. Ser reproducible y estar de acuerdo con métodos de comprobación.
4. Los valores obtenidos en los testigos (estándares) deben ser bajos y consistentes que permitan comparación.
5. El método debe ser específico para cada producto.
6. Las muestras analizadas deben corresponder a muestras representativas (16).

En términos generales puede decirse que los métodos empleados en la determinación de residuos de plaguicidas difieren un poco de otros métodos, ya que el tratamiento de las muestras requieren una serie de pasos para conseguir extractos que permitan una cuantificación adecuada. Los pasos más sobresalientes son:

2.4.1 Almacenamiento de las muestras.

Deben conservarse en congelación mientras es posible iniciar el análisis. El tiempo de almacenamiento depende tanto de la naturaleza del plaguicida como del producto en estudio y en todos los casos debe procurarse el mínimo tiempo de almacenamiento. Si se requiere un almacenamiento prolongado es preferible extraer la muestra y almacenar el extracto a baja temperatura (9).

2.4.2 Extracción de residuos.

Se hace mediante la utilización de solventes o mezcla de solventes, lo cual depende del plaguicida en estudio y de la muestra en sí por lo general se usa el método SOXHLET o simplemente licuar la muestra con el solvente (3).

2.4.3 Limpieza o (purificación del extracto).

Debe escogerse el método adecuado que asegure una recuperación aceptable del residuo a los límites de detección deseados y que permita una buena reducción de interferencias y una buena separación de otros plaguicidas y de otras sustancias no deseadas. Los métodos más utilizados son cromatografía de columna, partición líquido líquido, cromatografía de capa fina, reacciones químicas específicas y otros (20).

2.4.4 Concentración de soluciones.

Debe tenerse cuidado especial al evaporar las últimas trazas del solvente para evitar pérdida de los residuos. Para esto se emplea el Kuderna-danish y el rotaevaporador el cual es útil para compuestos que requieren un calentamiento moderado, ya que se realiza una evaporación a presión reducida (13).

2.4.5 Detección y cuantificación de residuos.

El método más ampliamente utilizado es el de cromatografía de gases con detectores y columnas específicas. Así por ejemplo

para la determinación de organoclorados se utiliza el detector de captura de electrones, para fosforados fotométrico de llama, y el de llama alcalina se emplea tanto en fosforados como en compuestos nitrogenados (2).

La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) es una técnica relativamente nueva que se viene usando cada vez más en análisis de residuos. Entre las ventajas de esta técnica está la de producir poca o ninguna degradación de los plaguicidas, ya que se trabaja a temperatura ambiente, evitándose así los efectos de las altas temperaturas que se presentan en la cromatografía de gases (17).

Además brinda buenas posibilidades de separación debido a la amplia gama de solventes disponibles, mezclas de ellos y gradientes de elusión. La HPLC se puede aplicar a plaguicidas no volátiles, los cuales para analizarlos por cromatografía de gases requieren un tratamiento previo de derivatización, tal como sería el caso de los carbamatos (17).

2.4.5.1 Cuantificación.

Se efectúa generalmente por la medida comparativa de la altura o el área de los picos de las muestras y de los patrones de referencia tratados en la misma forma (27).

2.4.5.2 Confirmación.

Los residuos detectados deben confirmarse mediante la utilización de métodos alternativos, tales como la cromatografía de capa fina, reacciones químicas específicas y en general los métodos de análisis de que se disponga (4).

2.4.5.3 Límite de detección.

Se define como la concentración de un plaguicida por encima de la cual en una muestra dada de material y para un método dado, puede decirse con un alto grado de confiabilidad que contiene el producto químico en estudio (26).

Este Límite depende de varios factores además de la sensibilidad del instrumento tales como: Tamaño de la muestra, procedimiento de extracción y limpieza, volumen inyectado y conocimiento y experiencia del analista (26).

2.4.5.4 Pérdidas y degradación.

En cualquier paso del análisis pueden ocurrir pérdidas o degradación del plaguicida, por lo cual deben efectuarse estudios de recuperación para tener certeza que los residuos de interés no se están perdiendo durante la conducción del análisis (16).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Trabajo de campo.

El ensayo se realizó en los terrenos del "Centro Regional de Investigaciones", Obonuco del ICA, en el Municipio de Pasto, Departamento de Nariño, situado a 2.750 msnm. con temperatura promedio de 13°C y una precipitación anual promedio de 760 mm.

3.1.1 Diseño experimental.

El experimento se realizó en base a un diseño de bloques al azar, con tres replicaciones, para tres dosis y tres frecuencias de aplicación, además de un Testigo, para un total de 10 tratamientos y de 30 unidades experimentales (Figura 3).

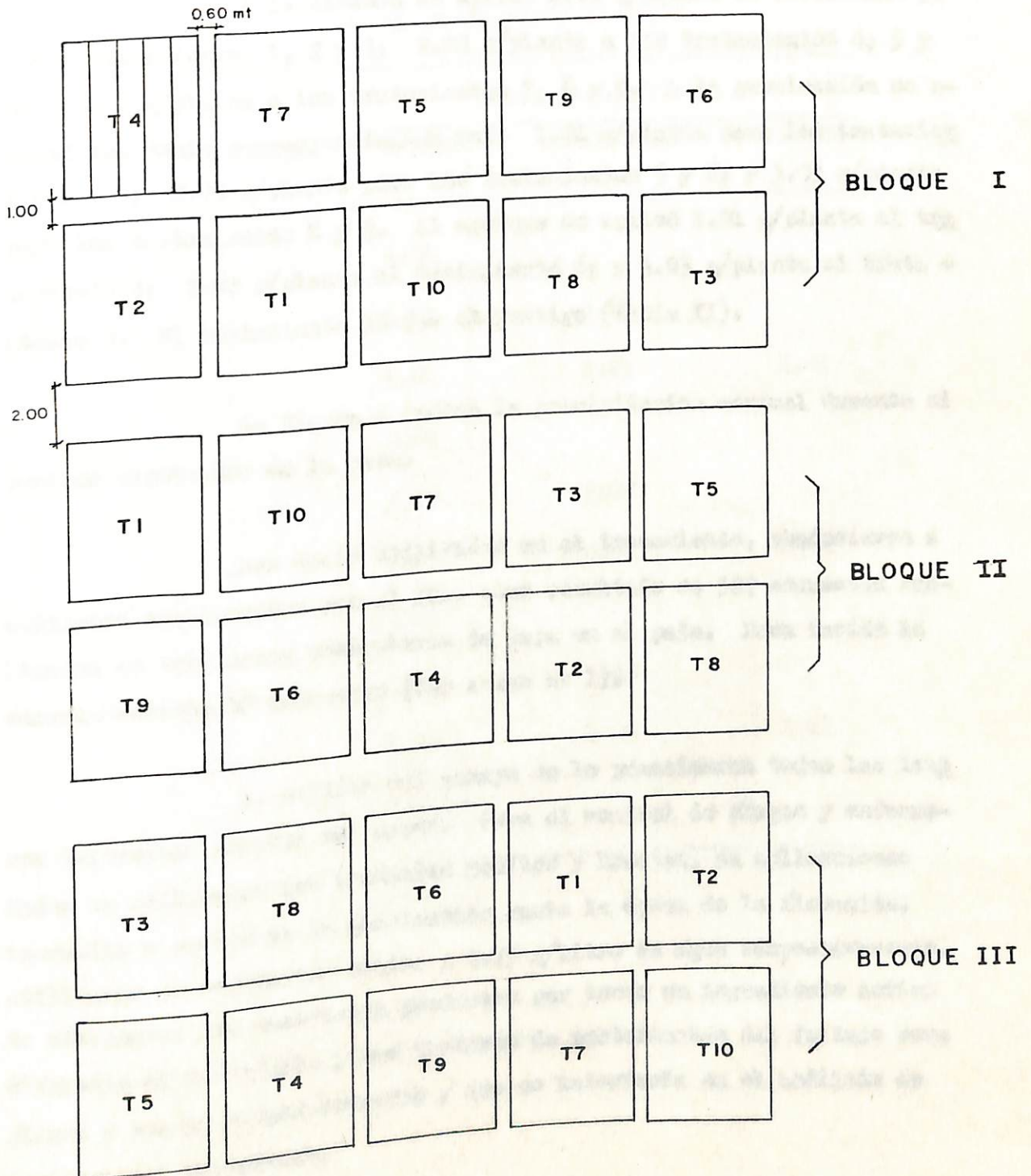
Se utilizó un lote de 1.488 metros cuadrados, incluyendo las áreas de separación. Las parcelas para cada tratamiento tuvieron una dimensión de 40 metros cuadrados (10 X 4).

La separación entre parcelas lateralmente fue de 0.60 metros, entre calles internas para cada bloque un metro y entre bloques dos metros. La distancia de siembra fue de un metro entre surcos 0.30 metros entre plantas. Para la siembra se utilizó semilla de segunda clase, de la variedad Parda Pastusa, depositando un tubérculo por sitio y 33 tubérculos por surco para un total de 132 por parcela.

Para medir las dosis de Carbofuran 3G en forma correcta y aplicar lo más exactamente posible, se tomó una medida, la cual se empleó siempre para cada dosis por planta.

Figura 3. PLANO DEL DISENO EXPERIMENTAL

Tratamientos = 10
 Replicaciones = 3
 Frecuencias = 3
 Testigo Nº 10
 Area = 1488 mts²



La aplicación de Carbofuran en el campo se realizó en la siguiente forma: en tres tubos de ensayo se marcó el volumen correspondiente a las tres dosis de aplicación, así: 1.01, 2.02 y 3.03 g/planta.

A la siembra se aplicó 1.01 g/planta de Carbofuran 3G a los tratamientos 1, 2 y 3; 2.02 g/planta a los tratamientos 4, 5 y 6; y 3.03 g/planta a los tratamientos 7, 8 y 9. A la germinación se aplicó las dosis correspondientes así: 1.01 g/planta para los tratamientos 2 y 3; 2.02 g/planta para los tratamientos 5 y 6; y 3.03 g/planta para los tratamientos 8 y 9. Al aporque se aplicó 1.01 g/planta al tratamiento 3; 2.02 g/planta al tratamiento 6; y 3.03 g/planta al tratamiento 9. El tratamiento 10 fue el Testigo (Tabla II).

La Figura 4 indica la precipitación mensual durante el período vegetativo de la papa.

Las dosis utilizadas en el tratamiento, obedecieron a criterios establecidos por el ICA, como resultado de 522 encuestas realizadas en seis zonas productoras de papa en el país. Para Nariño le correspondieron 42 encuestas (Ver Anexo No 1).

Al cultivo del ensayo se le practicaron todas las labores culturales propias del mismo. Para el control de plagas y enfermedades se utilizaron los productos Monitor y Brestan, en aplicaciones mensuales a partir de la germinación hasta la época de la floración, utilizando un centímetro cúbico y 0.75 g/litro de agua respectivamente. Se utilizaron los anteriores productos por tener un ingrediente activo diferente al Carbofuran y por tratarse de protectantes del follaje para plagas y hongos respectivamente y que no interfería en el análisis de residuos del Carbofuran.

TABLA II

DOSIS Y EPOCAS DE APLICACION DE CARBOFURAN 3%
EN EL EXPERIMENTO DE CAMPO

TRATAMIENTO	DOSIS GRANOS/PLANTA		
	SIEMBRA	GERMINACION	APORQUE
1	1.01		
2	1.01	1.01	
3	1.01	1.01	1.01
4	2.02		
5	2.02	2.02	
6	2.02	2.02	2.02
7	3.03		
8	3.03	3.03	
9	3.03	3.03	3.03
10	Testigo		

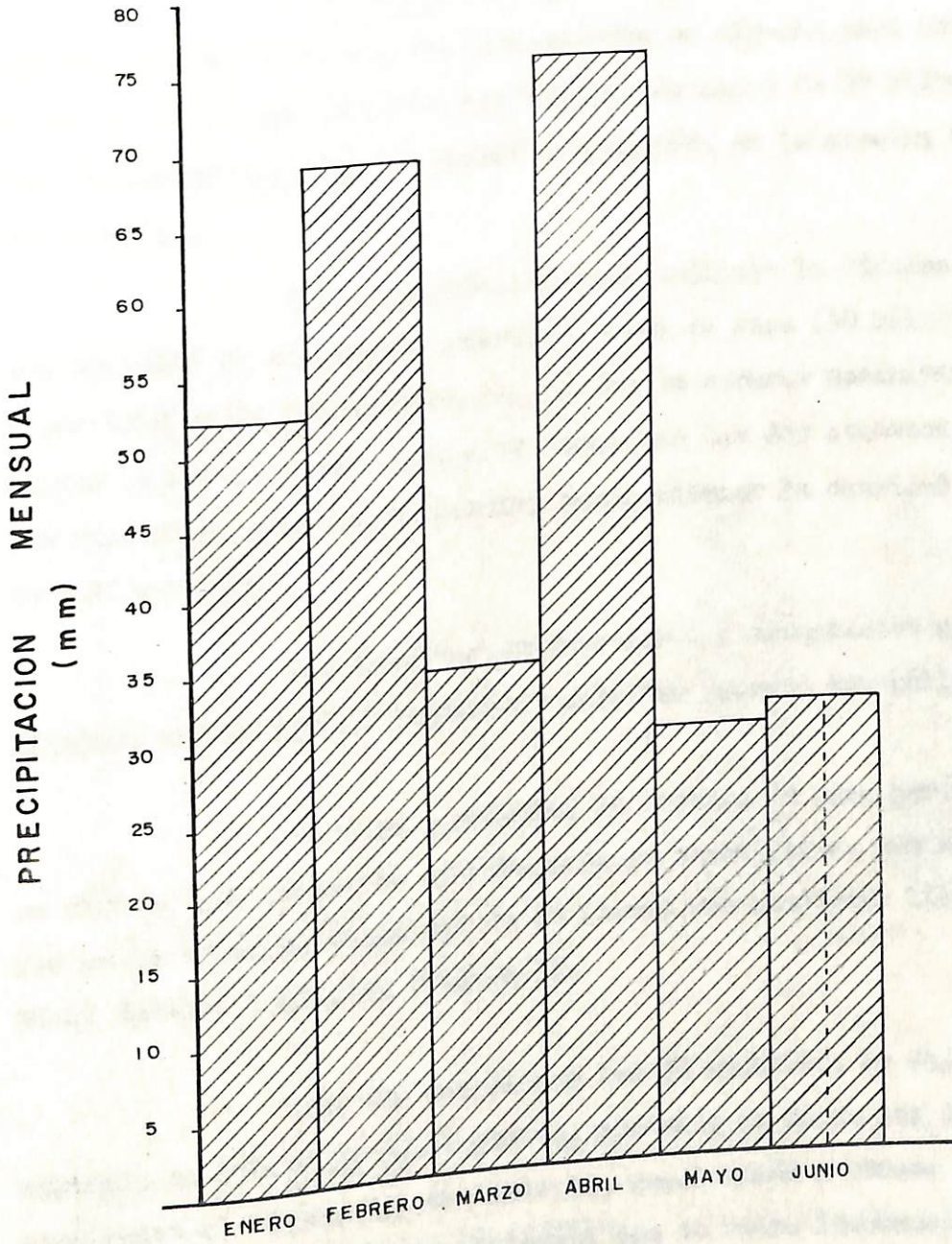


Figura 4. Precipitación mensual y ciclo vegetativo de la papa. (1980)

3.1.2 Cosecha y muestreo.

A partir de los 5½ meses, desde la siembra, se cosecharon los surcos centrales de cada parcela en zig-zag para obtener mediante la ayuda de una balanza, una muestra de campo de 30 kilos por parcela. Luego se procedió al lavado y reducción de la muestra hasta obtener 3 kilos.

Esta reducción se hizo mediante la técnica del cuarteo que consiste en colocar la cantidad bruta de papa (30 kilos) sobre una superficie plana horizontal, con el fin de separar mecánicamente cuatro partes iguales, de las cuales se descartan las dos opuestas y se juntan las sobrantes, así sucesivamente, hasta obtener la cantidad necesaria de 3 kilos (16).

Las muestras se sometieron a congelación con nitrógeno líquido, con el fin de suspender cualquier proceso metabólico (15).

Para este proceso, la muestra de cada parcela se cortó en discos, los cuales se introdujeron en canastillas, que se depositaron en un termo de capacidad de 30 litros con nitrógeno líquido (T_a = 20°C) durante 2 minutos (Figura 5).

Una vez congeladas las 30 muestras, se empaquetaron por separado en bolsas de papel grueso, anotando en éstas los datos correspondientes al número del tratamiento, replicación y otros. Dentro de cada bolsa se introdujo una etiqueta con la misma información.

Cada bolsa de papel con la muestra se colocó en otra de polietileno negro resistente, para ser llevadas inmediatamente en ca

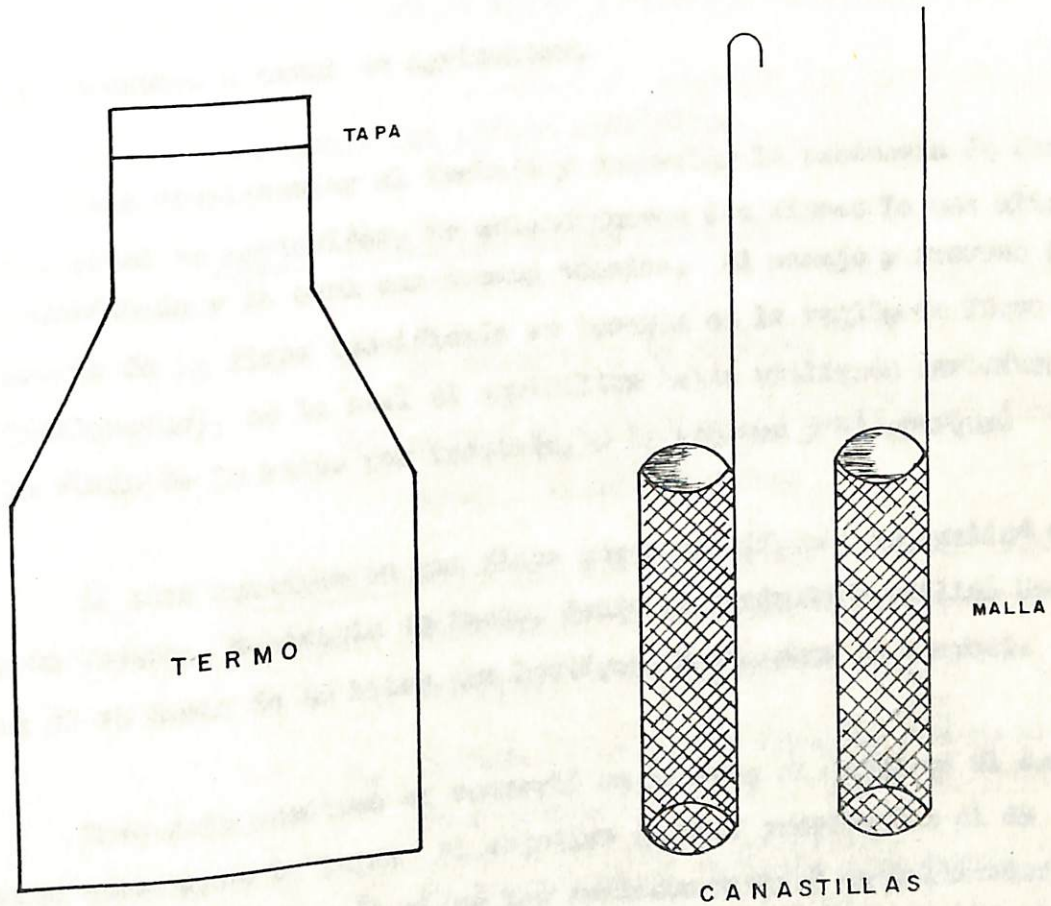


Figura 5. Esquema del equipo empleado en la congelación con nitrógeno líquido de las muestras de campo.

jas de hieopo con hielo seco al Laboratorio de Residuos y Tolerancias del Instituto Colombiano Agropecuario en Tibaitatá, Bogotá. En el laboratorio se procedió nuevamente a congelación inmediata de las muestras mientras se iniciaba el análisis de residuos (15).

3.2 Muestreo a nivel de agricultor.

Para complementar el trabajo y comprobar la presencia de Carbofuran a nivel de agricultor, se seleccionaron dos fincas la una altamente tecnificada y la otra con escasa técnica. El manejo y proceso de las muestras de la finca tecnificada se tomaron en la región de Túques (Chillanquer), en la cual el agricultor había utilizado carbofuran 3G en la dosis de 50 kilos por hectárea, a la siembra y al aporque.

El otro muestreo en una finca menos tecnificada se realizó en la Vereda Obonuco, Municipio de Pasto, donde el agricultor utilizó Carbofuran 3G en dosis de 40 kilos por hectárea, únicamente al aporque.

Para este muestreo se recorrió en zig-zag el campo en el cual se estaba cosechando la papa. El objetivo de este proceso fue el de conseguir muestras para determinar los residuos a nivel de cultivador y compararlos con los obtenidos a nivel experimental. Se tomaron tres muestras de 30 kilos por agricultor, para finalmente obtener una sub-muestra de 3 kilos de cada una de ellas.

3.3 Trabajo de laboratorio.

Las muestras se colocaron a una temperatura de congelación de -20°C . Seguidamente se inició el análisis para la determinación de re-

siduos. La metodología fue la descrita por Lawrence y Leduck (14) para el Carbofuran, utilizando cromatografía líquida de alta presión (HPLC). El método se siguió en todas sus partes para la extracción y limpieza pero se introdujeron algunas modificaciones en la cuantificación, la cual tuvo que adaptarse al tipo de columna de que dispone el laboratorio.

3.3.1 Descripción del método analítico.

3.3.1.1 Extracción de las muestras.

1. Se pesan 35 g de muestra.
2. Se licuan con 100 ml de acetona por 4 minutos a velocidad media.
3. Se filtra con vacío a través de un embudo sinterizado de porosidad media, a un erlenmeyer de 500 ml.
4. Se lava la pasta del filtrado con 10 ml de acetona.
5. Se transfiere el filtrado a un embudo de separación de 500 ml con una solución de hexano-diclorometano al 50% y se agita por dos minutos.
6. Se drena la fase acuosa (inferior) a un embudo de separación, que contiene 15 ml de solución saturada de NaCl.
7. Se extrae dos veces más la anterior mezcla con 70 ml de diclorometano.

8. Se combina los extractos orgánicos de las tres particiones en un balón de fondo redondo, filtrándolos por sulfato de sodio (5g) lentamente, se lava el sulfato de sodio con 10 ml de diclorometano.
9. Se evapora el extracto combinado en rotavapor a 30°C hasta no menos de 0.5 ml.
10. Se transfiere a un tubo de ensayo con varios lavados de diclorometano al 30% en hexano, y se lleva hasta 7 ml.
11. Se usa una alícuota de 1 ml para la limpieza con florisil.

3.3.1.2 Limpieza de las muestras.

1. Se prepara florisil desactivado al 2% añadiendo agua bidestilada a florisil activa de a 130°C por un mínimo de 18 horas llevándolo a temperatura ambiente.
2. Se agita la mezcla mecánicamente durante y se deja en un recipiente tapado antes de usarlo.
3. Colocar 5 g de florisil desactivado 2% en una columna de vidrio de 1.5 cm de diámetro interno, con lana de vidrio en el fondo.

4. Se agrega 1g de sulfato de sodio anhidrido sobre el florisil.
5. Se lava la columna con 50 ml de hexano y seguidamente se agrega el extracto de la muestra.
6. Eluir la columna con 25 ml de diclorometano al 30% en hexano y descartar esta fracción.
7. Eluir el Carbofuran con 55 ml de acetona al 15% de hexano.
8. Luego se agregan otros 10 ml de acetona al 15% en hexano y se descarta esta fracción.
9. Cada fracción con carbamatos se evapora a volumen aproximado de 0.5 ml en rotavapor a 30°C (no se debe llevar a sequedad porque pueden ocurrir pérdidas).
10. Se transfiere cuantitativamente el residuo a un tubo de centrifuga de 2 ml con metanol-agua (1:1).

3.3.1.3 Extracción de las muestras del experimento.

Para la extracción del residuo se tomaron submuestras de 35 g de la muestra de 3 kilos de cada tratamiento y licuada previamente. Cada submuestra se licuó con 100 ml de acetona durante cuatro minutos y se filtró con vacío a través de un embudo sinterizado de porosidad media.

El filtrado se transfirió a un erlenmeyer de 500 ml y seguidamente se lavó la pasta del filtrado con 10 ml de acetona. Todo el filtrado se transfirió a un embudo de separación que contenía 15 ml de solución saturada de cloruro de sodio y se extrajo dos veces la anterior mezcla adicionando cada vez 70 ml de diclorometano.

Los extractos orgánicos de cada una de las tres submuestras se combinaron en un balón de fondo redondo y se filtraron a través de 5 g de sulfato de sodio, lavando el sulfato con 10 ml de diclorometano, el extracto así obtenido se concentró en rotavapor a 30°C hasta obtener 0.5 ml aproximadamente los cuales fueron transferidos a un tubo de ensayo con varios lavados de diclorometano al 30% en hexano y se llevó hasta un volumen de 7 ml de los cuales se tomó 1 ml (alícuota) para la limpieza con florisil.

3.3.1.4 Limpieza de las muestras del experimento.

Los extractos (alícuotas) se limpiaron pasando los por una columna de florisil al 2% desactivado.

El florisil desactivado se preparó añadiendo agua bidestilada a florisil activado a 130°C por un mínimo de 18 horas llevándolo luego a temperatura ambiente, seguidamente se agitó la mezcla durante 8 horas y se dejó en un recipiente tapado antes de usarlo. Se preparó una columna de vidrio con llave de teflón de 35 cm de longitud y 1.5 cm de diámetro, a la cual se le colocó un tapón pequeño de lana de vidrio en el fondo y encima de éste, se colocó 5 g de florisil desactivado.

Sobre el florisil se agregó 1 g de sulfato de sodio anhidro y se lavó la columna con 50 ml de hexano, dejándolo drenar hasta la superficie del sulfato. Seguidamente se agregó 1 ml (alícuota) del extracto de las muestras correspondientes al experimento y se recogieron estas fracciones. Posteriormente se eluyó la columna con 25 ml de diclorometano al 30% en hexano y se descartó esta fracción.

Las fracciones que contenían el Carbofuran en las muestras del experimento se evaporaron en un rotavapor a 30°C hasta aproximadamente 0.5 ml el residuo se transfirió cuantitativamente a un tubo con metanol-agua 1:1, se llevó a un volumen final de 2 ml. De esta forma se obtuvo el extracto de residuo del experimento listo para ser inyectado al cromatógrafo. Este se conservó en congelación hasta el momento de proceder a la cuantificación de residuos. En estas condiciones el residuo del plaguicida presente no sufre alteración alguna, permitiendo almacenamiento durante períodos prolongados pero controlados (15).

Paralelo a cada tratamiento se trabajó con un blanco, el cual servía de referencia a comprobar la pureza de los solventes que se utilizaron en cada extracción.

3.4 Estandarización del método analítico.

Para demostrar la confiabilidad del método analítico descrito anteriormente, se realizó un ensayo para estandarización y recuperación del mismo. Para esto se utilizaron muestras de papa sin tratamiento alguno, a las cuales se les agregó estándares de Carbofuran, de tal modo que las concentraciones fueran 0.231 ppm; 0.577 ppm; 1.154 ppm y 2.309 ppm. Para obtener estas se agregó a 35g de papa, 4 ml de

una solución de Carbofuran de 2.02 ugr/ml (ppm) o sea: $8.08 \text{ ugr}/35\text{g} = 0.231 \text{ ppm}$.

Para la segunda concentración se tomaron 10 ml de una solución de Carbofuran de 2.02 ppm o sea $20 \text{ ugr}/35 \text{ g} = 0.577 \text{ ppm}$. Para la tercera concentración se tomaron 20 ml de una solución de Carbofuran de 2.02 ppm o sea $40.4 \text{ ugr}/35 \text{ g} = 1.154 \text{ ppm}$ y para la cuarta concentración se tomaron 40 ml de una solución de Carbofuran de 2.02 ppm o sea $80.8 \text{ ugr}/35 \text{ g} = 2.309 \text{ ppm}$ las cuales fueron sometidas al proceso de extracción, limpieza y posteriormente a la detección y cuantificación.

Durante el análisis de las muestras reforzadas, se realizaron inyecciones de solución patrón de Carbofuran cedidos por el ICA, de una solución que nos permitió elaborar una curva de referencia durante el proceso de análisis de las muestras reforzadas. Para establecer una curva estandar y obtener resultados óptimos es deseable como mínimo, realizar 3 inyecciones de estandar del producto en estudio (17).

Se realizaron siete inyecciones de estandares de Carbofuran puro de concentración 10 ppm.

3.5 Cuantificación.

Para la cuantificación tanto de las muestras del experimento muestra del agricultor, muestra reforzada y estandares se realizaron inyecciones en el cromatógrafo de cantidades de extractos que oscilaban entre 100 y 400 microlitros (ul). El cromatógrafo que se utilizó para el análisis de residuos fue uno de alta presión, marca Perkin Elmer modelo 16-01 con detector ultravioleta modelo LC 55 (Figura 6).

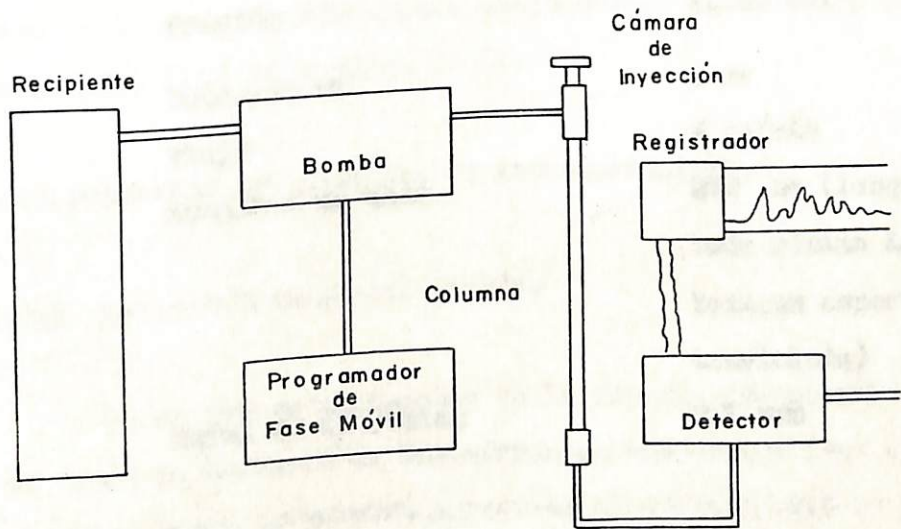


Figura 6. Conformación de un cromatografo de liquidos de alta presión. Mc Nair y Squivel. 1.975 (16).

Las condiciones de análisis fueron las siguientes:

Columna: RP 18/BrowLee Lab.

Longitud	25 cm
Diámetro interno	10 Um
Fase móvil	CH ₃ OH : H ₂ O 45: 55
Presión	1.800 PSI
Detector UV	1 mv
Flujo	2 cc/min
Longitud de onda	280 nm (longitud de onda máxima del Carbofuran espectro ultravioleta)
Nivel de detección	0.1 ppm

Espectro Ultravioleta del Carbofuran:

El espectro ultravioleta del Carbofuran se tomó con el fin de determinar la longitud de onda () de máxima absorción del Carbofuran y así fijar este valor para la ~~determinación~~ ~~por cromatografía~~ ~~líquida~~ ya que el detector empleado fue un detector ultra violeta.

La espectroscopia ultra violeta es una técnica analítica por sí misma, usada ampliamente en la identificación y cuantificación de sustancias orgánicas. Se fundamenta en el hecho de que ciertas sustancias pueden absorber radiaciones electromagnéticas, en éste caso, específicamente en el rango ultra violeta, longitud de onda () entre 200 y 350 nanómetros (10^{-9} metros) produciéndose cambios por excitación en la molécula.

Cada sustancia presenta absorciones máximas a ciertas longitudes de ondas () que se determinan corriendo un espectro.

Estas longitudes de onda de máxima absorción son características de la sustancia para tomar el espectro ultra violeta se hacen pasar radiaciones de diferente longitud de onda y se miden las absorciones, las cuales son registradas gráficamente obteniéndose el espectro para la sustancia en estudio (16) (Ver Anexo No 2).

3.6 Interpretación del análisis de estandarización.

3.6.1 Estandarización del método.

En el primer paréntesis de la fórmula que aparece en la Tabla III, se tiene la cantidad de Carbofuran en nanogramos (ng) (10^{-9} g) presente en el volumen de muestra inyectado al cromatógrafo en el momento del análisis así: al inyectarse 25 microlitros (ul), de un estándar de concentración de 10 partes por millón (ppm), quiere decir que el pico que aparece con una altura de 9.5 milímetros (mm) corresponde a la señal del detector para 250 nanogramos (ng) o sea la cantidad inyectada de estándar. De esta forma se realizaron las otras inyecciones.

Por otra parte se inyectó al cromatógrafo 300 ul de la muestra reformada a un nivel de 0.231 ppm y dió un pico de altura de 7 mm por regla de tres se puede calcular cuantos nanogramos de Carbofuran están presentes en el volumen de la muestra inyectada así:

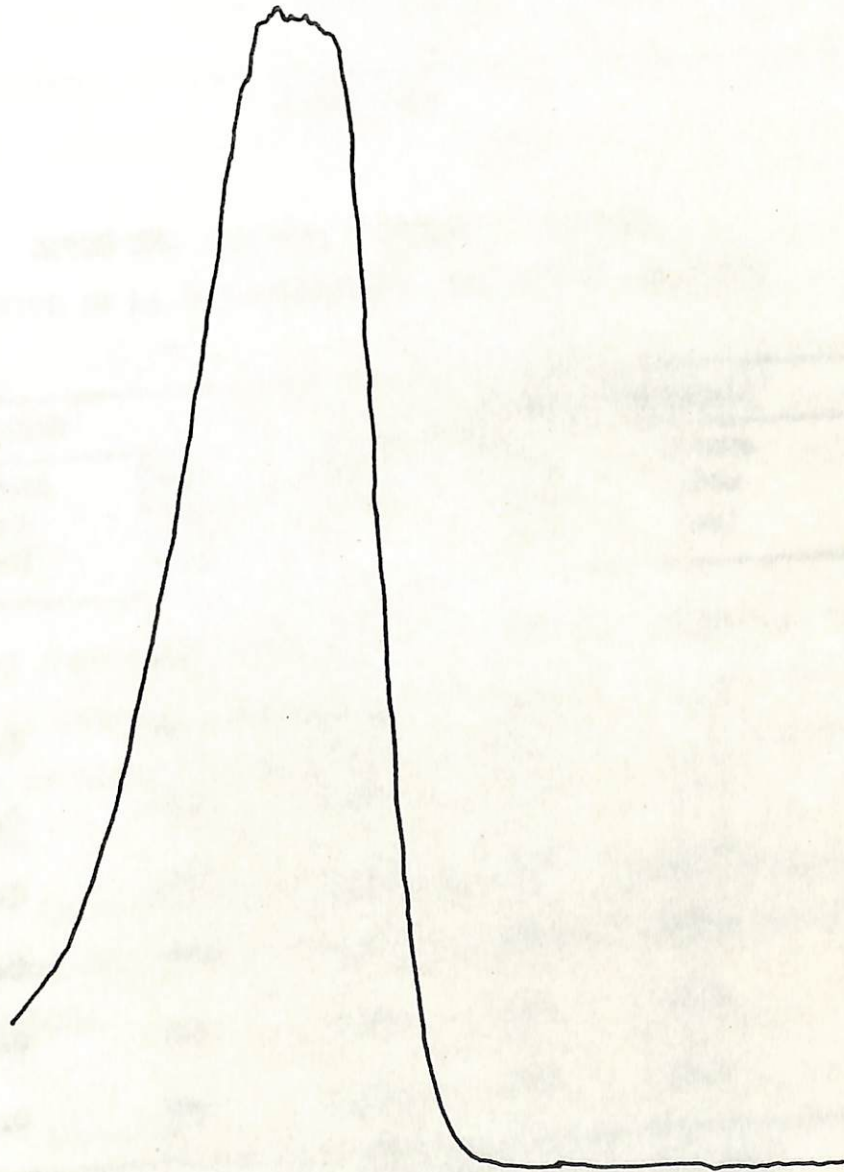
250 ng

9.5 mm

X

7 mm

X = 184.21ng

$\lambda = 270 \text{ nm}$ $\lambda = 290 \text{ nm}$ $\lambda = 330 \text{ nm}$ 

Anexo 2. Espectro Ultravioleta de carbofuran
Longitud de onda de máxima absorción (λ): 280 nm
Solvente: Metanol.
Espesor de la celda de cuadro: 1 cm
Equipo: Espectrofotometro - Cary modelo 118

Y 7 11 N 30 W
 NIMS NOHO
 ANALITICO
 TABLA III

DATOS DEL ESTANDAR Y MUESTRA REFORZADA
 OBTENIDOS EN LA ESTANDARIZACION DEL METODO ANALITICO

ESTANDAR			MUESTRA REFORZADA			
Volum. Inyec. (ul)	Altura pico (mm)	Cant. Inyec. (ng)	Nivel (ppm)	Vol. Inyec. (ul)	Altura pico (mm)	Conc. (ppm)
25	9.5	250	0.231	300	7.0	0.246
25	9.5	250	0.231	300	7.0	0.246
25	9.5	250	0.577	200	10.5	0.553
50	19.5	500	1.154	200	22.0	1.128
50	23.0	500	1.154	200	25.0	1.087
50	23.0	500	2.309	100	26.0	2.261
50	24.0	500	2.309	100	28.5	2.375

$$\text{Conc. (ppm)} = \frac{(\text{Altura pic. muestr.} \times \text{cant. inyec. estand.})}{\text{Altura pico estand.}}$$

$$\times \frac{(\text{Volumen final})}{\text{Vol. muestr. inyec.} \times \text{peso muestr.}}$$

Volumen final = 2 ml

Peso muestra = 5 g

Este es lo que está expresado en el primer factor de la fórmula. Conociendo cuantos nanogramos de Carbofuran hay en el volumen de la muestra inyectada (300 ul), se puede calcular cuantos microgramos (ugr) hay en el volumen final a que se llevó la muestra. Todas las muestras se llevaron a un volumen final de 2 ml con metanol agua en igual proporción 1:1.

Entonces:

$$\begin{array}{r}
 184.21 \text{ ng} \qquad \qquad \qquad 300 \text{ ul} \\
 \times \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad 2 \text{ ml (2.000 ul)} \\
 \hline
 X = 1228.07 \text{ ng} \\
 = 1,228 \text{ ugr}
 \end{array}$$

Una vez conocidos los microgramos de Carbofuran en el volumen final de la muestra (1,228 ugr) correspondientes a los que se encuentran en 5 g de la muestra inicial, se calculó la concentración final de cada muestra.

La concentración de Carbofuran se calculó dividiendo los microgramos (ugr) del volumen final de la muestra entre los gramos tomados para el análisis.

Entonces:

$$\text{Concentración (ppm)} = \frac{1,228 \text{ ugr}}{5 \text{ g}} = 0246 \text{ ppm}$$

De esta manera se realizaron los cálculos de concentración en ppm de las muestras reforzadas.

Desarrollando la fórmula quedaría:

$$\text{Conc. ppm} = \frac{(7 \text{ m} \times 250 \text{ ng})}{9.5 \text{ mg}} \times \frac{(2 \text{ m})}{300 \text{ ul} \times 5} = 0.246 \text{ ppm}$$

3.6.2 Recuperación del método analítico.

Analizadas todas las muestras reforzadas con Carbofuran y obtenidas todas las concentraciones para el método, se calculó la recuperación del método analítico, con el objeto de saber el porcentaje de Carbofuran recuperado de las muestras reforzadas, a las cuales se les hizo el proceso de extracción, limpieza y detección. La fórmula utilizada para cada concentración fue la siguiente:

$$\% \text{ recuperación} = \frac{0.246 \text{ ppm}}{0.231 \text{ ppm}} \times 100 = 106.3\%$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Estandarización del método.

Una vez encontradas las concentraciones en partes por millón (ppm) para cada muestra reforzada, se calcularon las recuperaciones de éstas (Tabla IV),

Para un nivel de concentración inicial de 0.231 ppm de Carbofuran inyectado, se recuperó 0.246 ppm correspondientes a 106.5%, cada muestra fue analizada por duplicado encontrando el mismo porcentaje de recuperación. Para 0.577 ppm de Carbofuran inyectado en un volumen de 200 μ l, se recuperó 0.553 ppm que correspondió a un porcentaje de 95.8% así hasta la última muestra reforzada que fue de 2.309 ppm recuperándose 2.375 ppm y 102.9% de recuperación.

En las últimas muestras inyectadas se observó pequeñas variaciones en cuanto al porcentaje de recuperación debido posiblemente a que al duplicar la inyección hubo alguna alteración del volumen inyectado, sin embargo la recuperación fue buena del 100.23%.

No obstante en este tipo de trabajos se pueden obtener recuperaciones superiores al 100% por las razones anteriormente expuestas y por la dificultad en el manejo de las unidades en la microjeringa.

El error promedio de las diferentes cantidades inyectadas fue del 0.23% que se lo considera aceptable. La desviación estandar de todos los valores fue de 5.05 que se considera confiable.

TABLA IV

RESULTADOS DE LA ESTANDARIZACION

Nivel (ppm)	MUESTRA REFORZADA Recuperación (ppm)	% DE RECUPERACION
0.231	0.246	106.5
0.231	0.246	106.5
0.577	0.553	95.8
1.154	1.128	97.8
1.154	1.087	94.2
2.309	2.261	97.9
2.309	2.375	102.9
% de recuperación promedio		100.23 %
Error promedio		0.23 %
Desviación estandar		5.05
Cantidad mínima detectable		100 ng
Coeficiente de variabilidad		5.038

La cantidad mínima detectable, se la determinó experimentalmente inyectando cantidades de estándares cada vez más pequeñas hasta que se obtuvo un pico, que se distinguió de la línea base, con alta confiabilidad. La cantidad mínima detectable fijó un límite por debajo de la cual cantidades menores no pueden ser determinadas (26, 27).

En este trabajo, se encontró que la cantidad mínima fue de 100 microlitros, la máxima de 400 y el límite de detección fue de 100 nanogramos.

4.2 Comparación de las alturas de los picos y tiempos de retención de los estándares con los de las muestras reforzadas.

Como puede observarse en la Tabla V, el tiempo de retención para los estándares fue el mismo que concordó con Londoño R (16) que el tiempo de retención es el lapso transcurrido entre la inyección de la muestra y la aparición del pico en el registrador y realmente representa el tiempo durante el cual el compuesto dado es retenido por la columna cromatográfica.

En la muestra reforzada este tiempo de retención es casi igual al del estándar (551 mm/min) mediante éste parámetro se reconoce el Carbofuran presente en las muestras reforzadas al encontrar un pico en el cromatograma con un tiempo de retención igual o próximo al de un estándar inyectado bajo idénticas condiciones, teniendo en cuenta que la velocidad del registrador es constante (1 cm/min) y como también las condiciones del tipo de columna solvente, flujo de solvente y temperatura, cada compuesto tiene un tiempo de retención determinado (16)

TABLA V

COMPARACION, ALTURA Y TIEMPO DE RETENCION DE LOS ESTANDARES

ESTANDAR			MUESTRA REFORZADA		
Volum. Inyec. (ul)	Altura pico (mm)	T. reten. (mm/min)	Volum. Inyec. (ul)	Altura pico (mm)	T. reten. (mm/min)
25	9.5	551	300	7.0	551
25	9.5	551	300	7.0	551
25	9.5	551	200	10.5	565
50	19.5	551	200	22.0	565
50	23.0	551	200	25.0	565
50	23.0	551	100	26.0	565
50	24.0	551	100	28.5	565

Esto demuestra que el cromatógrafo estaba bien calibrado y en condiciones óptimas para proceder a la identificación y cuantificación de las muestras del experimento como también las del agricultor.

El cromatograma de la Figura 7 corresponde al análisis de un estándar de Carbofuran de 500 ng (50 μ l X 10 ng/ μ l), altura del pico 19.5 mm, tiempo de retención 551 mm/min.

Las Figuras 8, 9 y 10 corresponden a cromatogramas de análisis de muestras reforzadas cuyas alturas y tiempos de retención se compararon con los del estándar.

4.3 Análisis de las muestras del experimento.

Para la cuantificación del residuo en las muestras experimentales, se realizaron inyecciones entre 100 y 400 microlitros por duplicado de los extractos obtenidos de las 90 muestras.

Primeramente se procedió a realizar las inyecciones en el cromatógrafo de los extractos correspondientes a las dosis de aplicación más alta (3.03 g/planta) y en los tratamientos con mayor frecuencia de aplicación (siembra, germinación y aperque) correspondientes al tratamiento 9 de los bloques I, II, III sin que se hubiera presentado residuo alguno a un nivel de detección de 0.1 ppm.

Corridos dos cromatogramas con un volumen de inyección de 200 microlitros cada uno, para estos tratamientos no se encontró pico alguno que se lo hubiese podido comparar con los obtenidos en la estandarización del método (Figura 11).

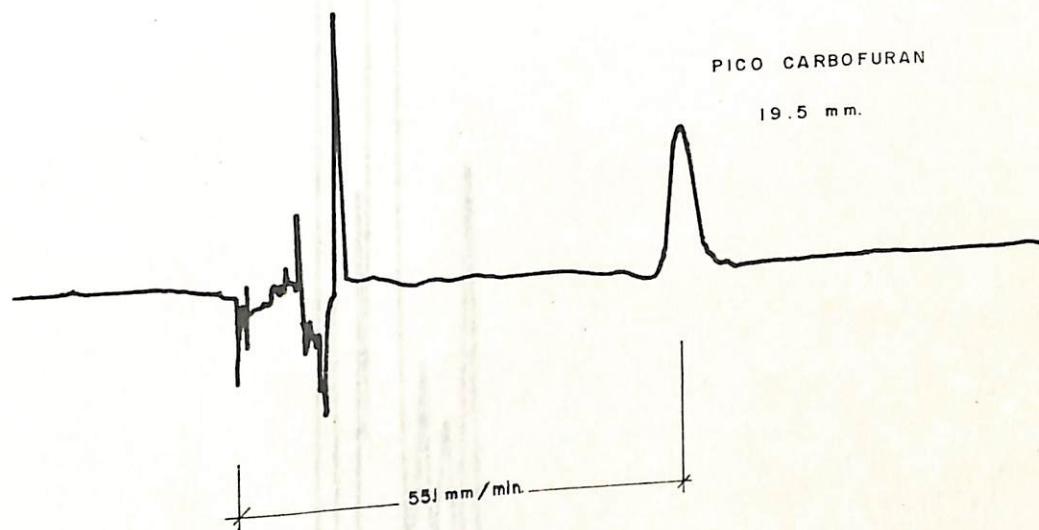


Figura 7. Cromatograma de carbofuran (500 ng)

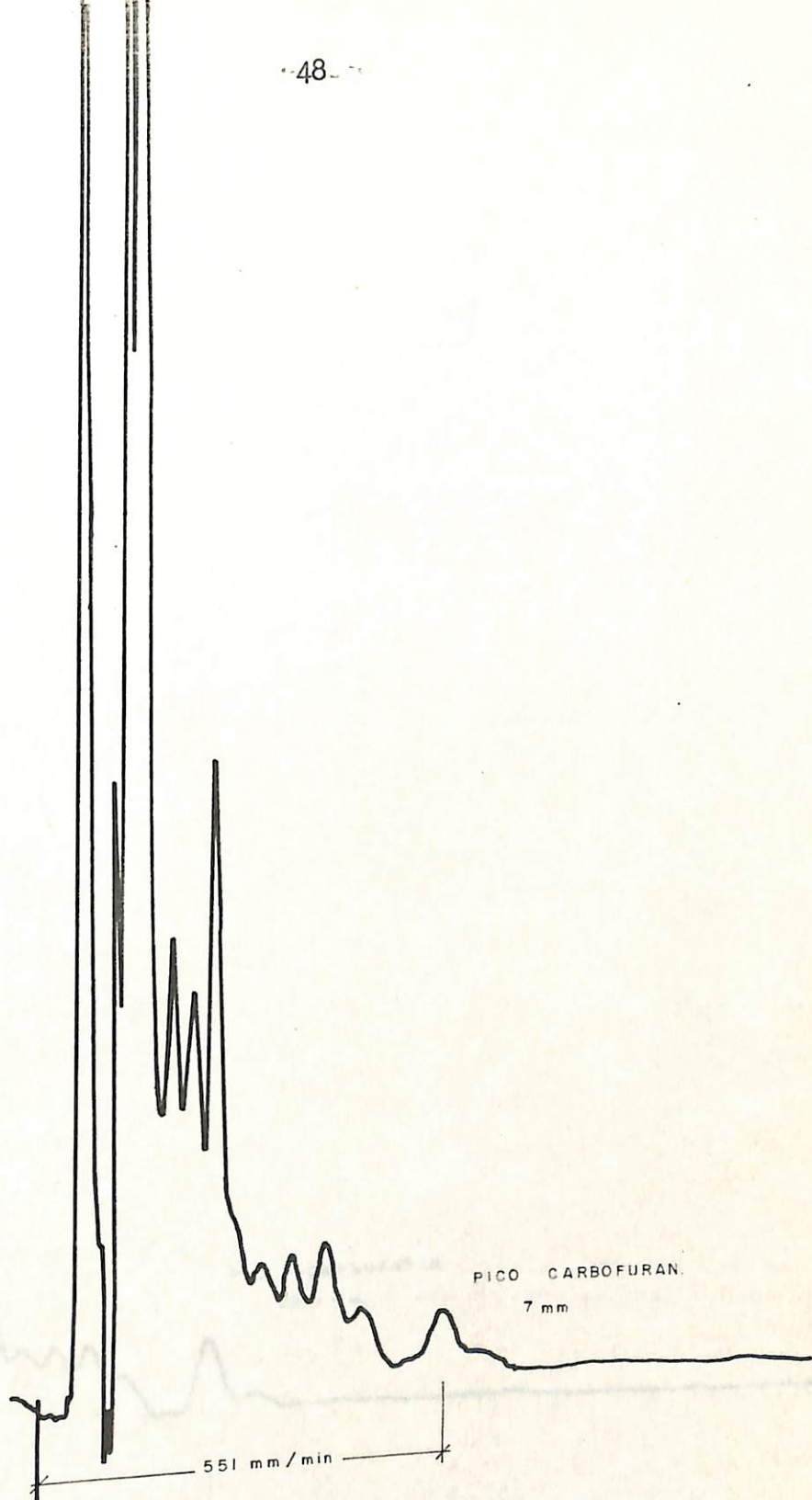


Figura 8. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con carbofuran a un nivel de 0.231ppm (volumen inyectado: 300 µl)

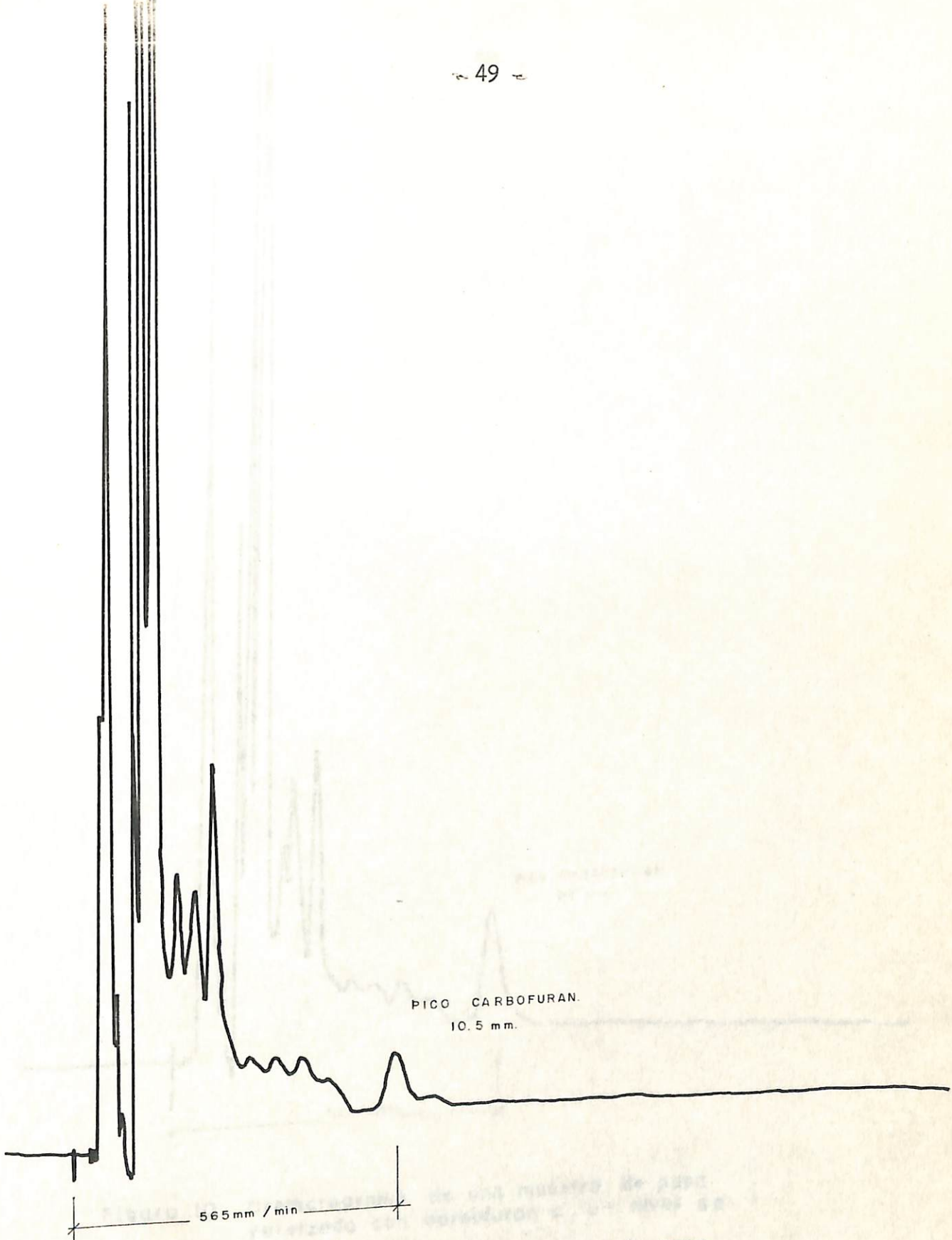


Figura 9. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con carbofuran a un nivel de 0.577 ppm. (volumen inyectado: 200 μ l)

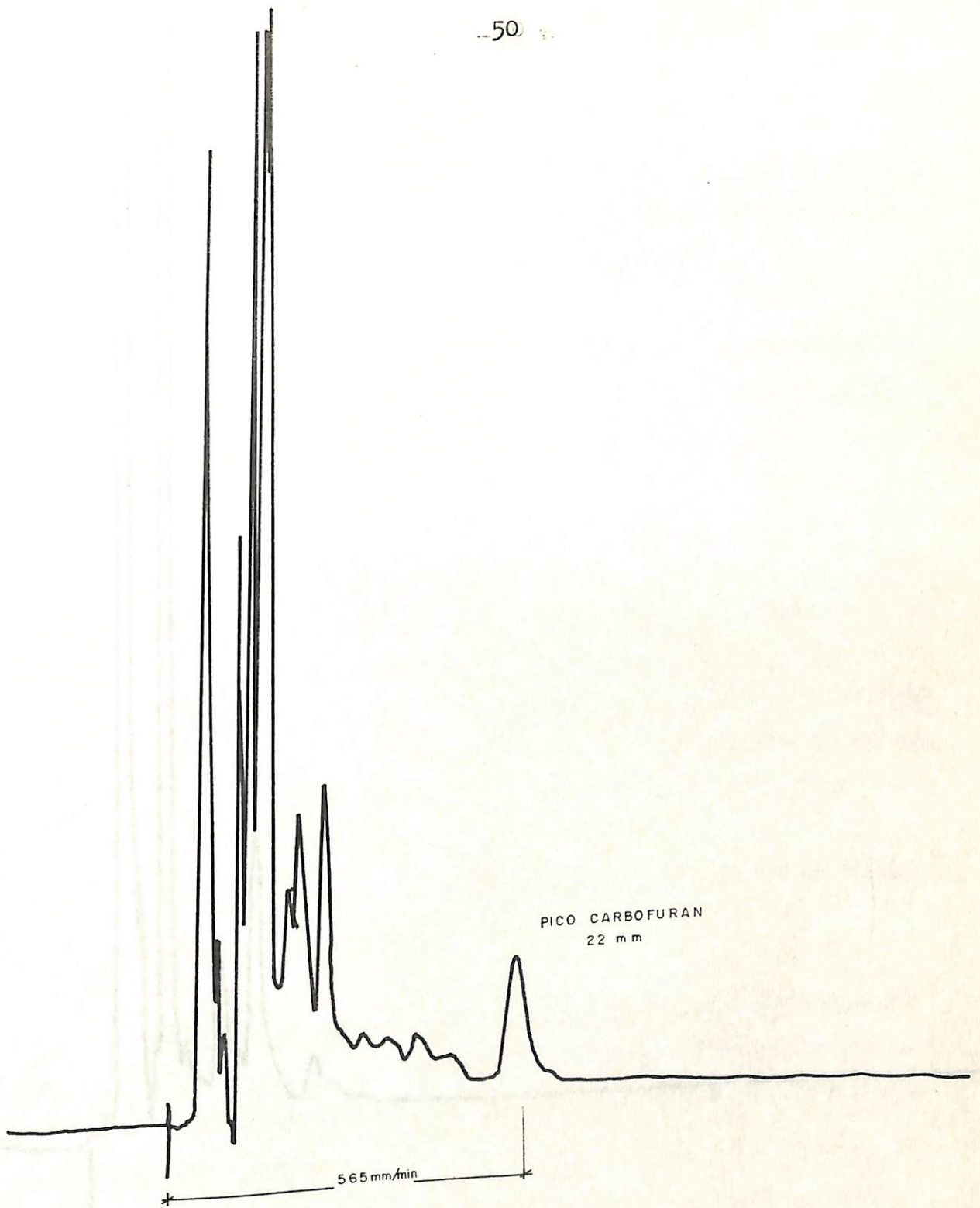


Figura 10. Cromatograma de una muestra de papa reforzada con carbofuran a un nivel de 1.154 ppm. (volumen inyectado 200 μ l)

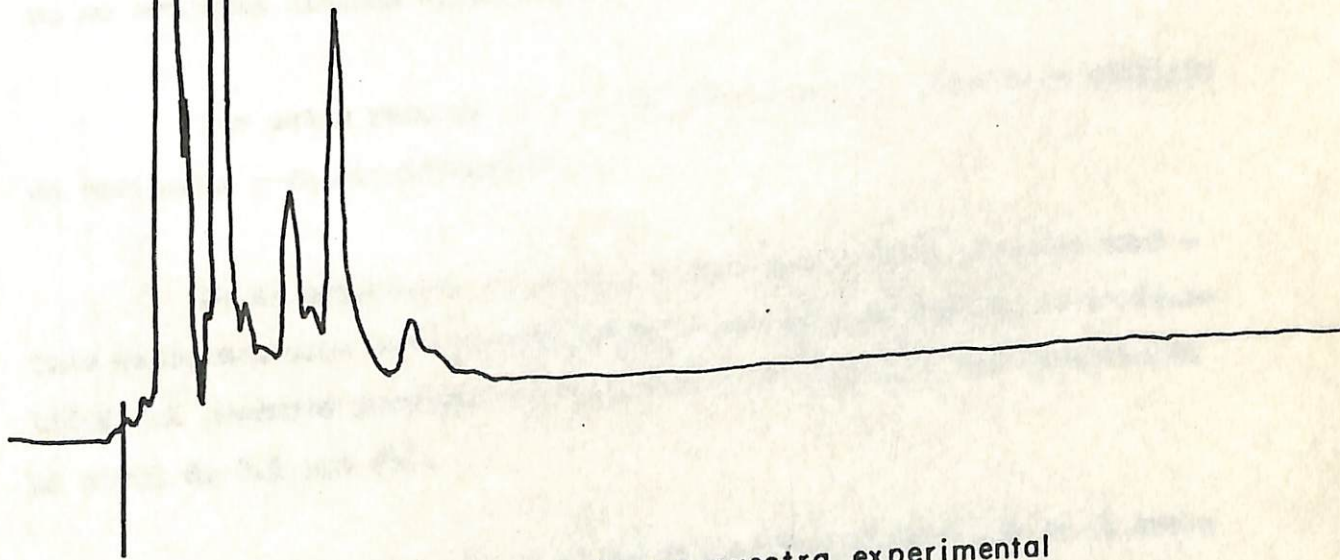


Figura II. Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento N.º 9 (volumen inyectado. 200 ml)

Frecuencia : A la siembra.

A la germinación.

Al aporque.

Dosis : 3.03 gr. p.c/planta.)

Las dosis de aplicación de 2.02 g/planta a la siembra, germinación y aporque del tratamiento 6 y de los bloques I, II, III no presentaron residuos de Carbofuran detectable (Figura 12).

Las dosis de aplicación de 1.01 g/planta a la siembra, germinación y aporque del tratamiento 3 de los bloques I, II, III tampoco presentaron residuos detectables de Carbofuran (Figura 13).

4.4 Muestras del agricultor.

En el caso de las muestras del agricultor se inyectaron los extractos obtenidos de 20 submuestras con inyecciones por duplicado en un volumen de 100 400 microlitros, y corridos dos cromatogramas por muestra no se presentó residuo detectable a un nivel de 0.1 ppm, cuyo cromatograma no presenta ninguna alteración en el nivel de la línea 0 (Figura 14).

Por estas razones no se pudo concretar las pruebas de análisis de variancia y de significación.

No se detectaron residuos de Carbofuran tanto para las muestras experimentales como de agricultores ya que posiblemente la residualidad del producto parental fue muy baja y no alcanzó a ser determinada al nivel de 0.1 ppm (6).

Según Metcalf, R.L. Fukuto et al (21), afirman que en el suelo el Carbofuran se degrada en un 50%, en un tiempo aproximado de 30 a 60 días. En el ensayo objeto de esta discusión de la última aplicación de Carbofuran hasta la cosecha transcurrieron 60 días.

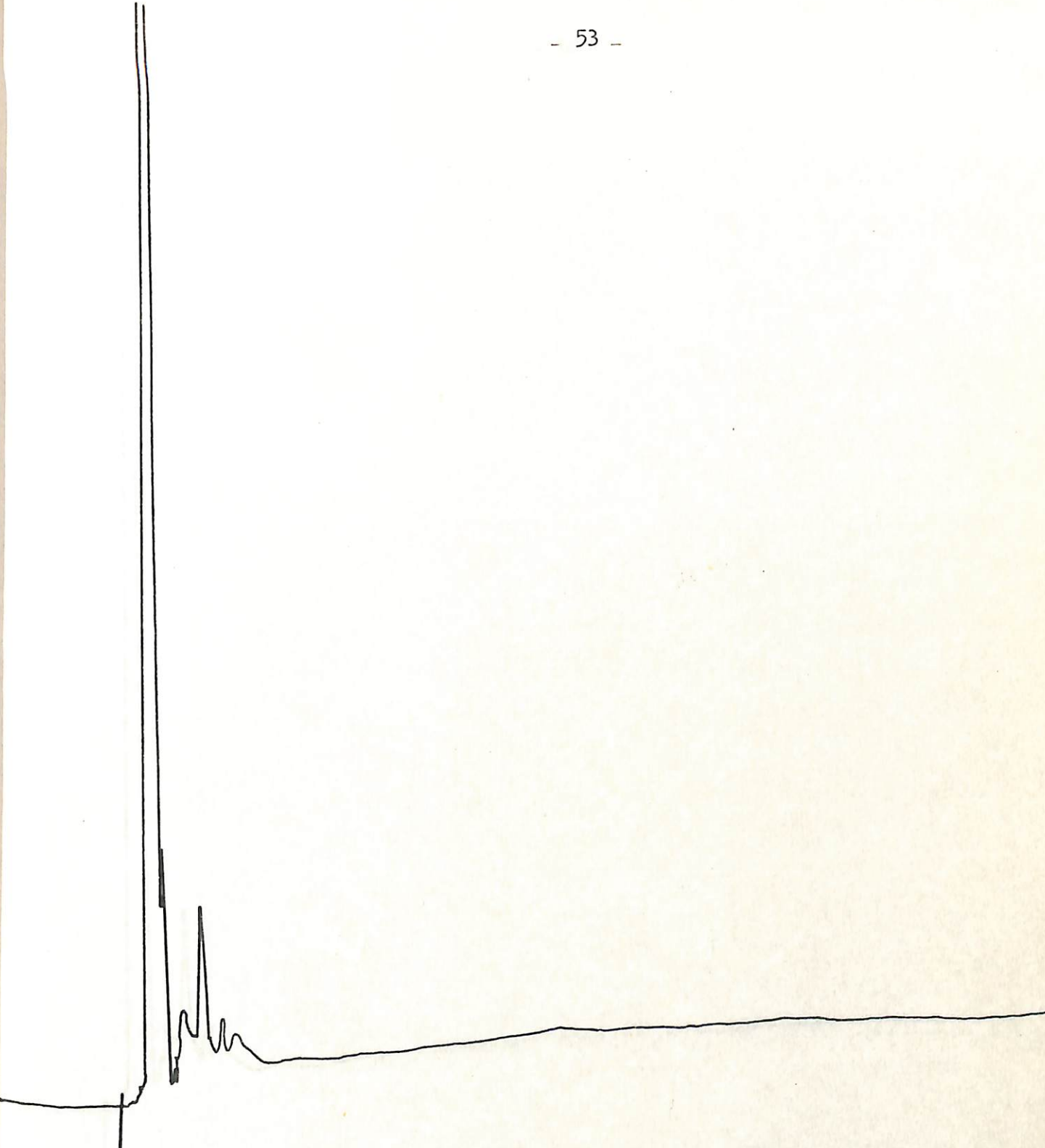


Figura 12 Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento No 6 (volumen inyectado 200 ul)
Frecuencia: A la siembra
A la germinación
Al aporque
Dosis: 2.02 gr. p.c/planta.

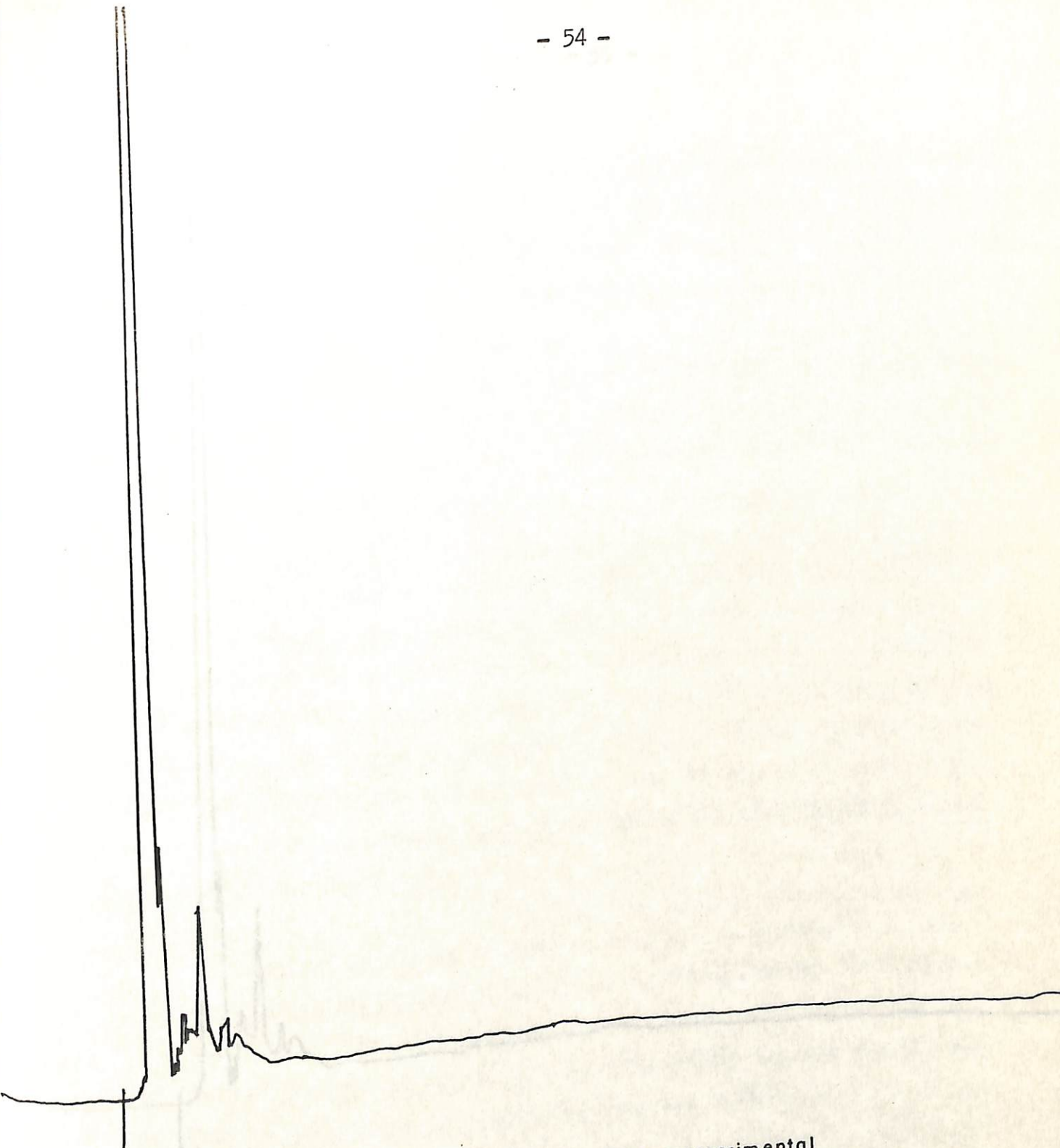


Figura 13. Cromatograma de una muestra experimental de papa que recibió el tratamiento No 3 (volumen inyectado 200 ul)
Frecuencia : A la siembra.
 A la germinación.
 Al aporque.
Dosis : 1.01 gr. p.c/planta.

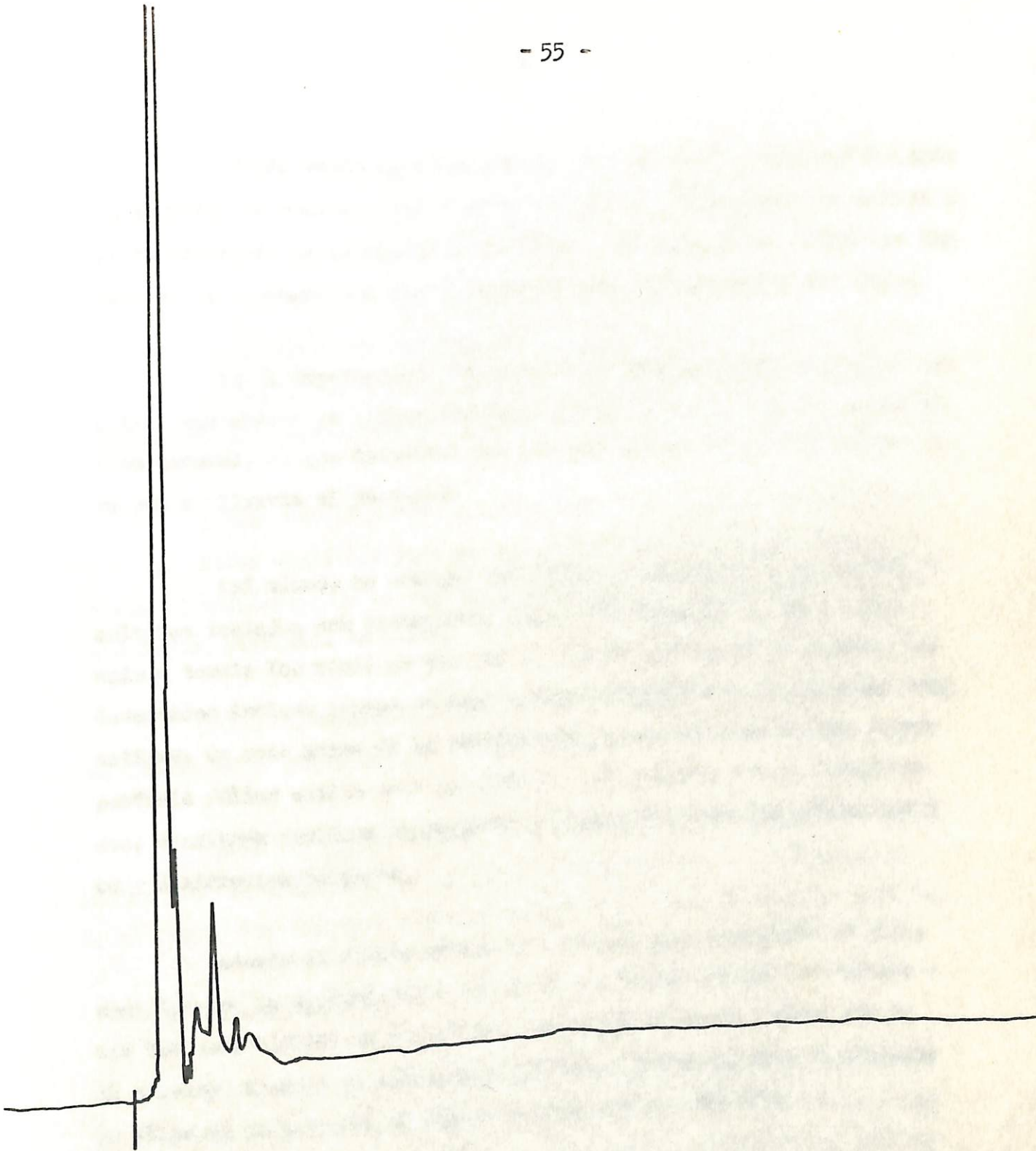


Figura 14. Cromatograma de una muestra de papa tratada con carboruran recolectada a un nivel de agricultor. Volumen inyeccion 200 ul (Finca: CHillanquer variedad: Pardo Pastusa. 2 aplicaciones: Siembra y Aporque.)

Además según la misma fuente, en las plantas tratadas con este insecticida (Carbofuran 3G) puede ser degradado rápidamente de acuerdo a la consistencia de la planta y al tiempo. De igual forma indica que Carbofuran es biodegradado por microorganismos heterotróficos del suelo.

En el experimento pudo influir la precipitación pluvial ya que a las tres épocas de aplicación tuvo: 57.7, 69.1 y 75.8 mm de precipitación mensual, lo que demuestra que las cantidades fueron suficientes para que se lixivie el producto.

Así mismo, se observa que según los informes de la FAO/OMS en cultivos tratados con Carbofuran, tales como berenjenas, soya, papa, maíz y tomate los residuos son por lo general muy bajos y no pueden ser detectados incluso aunque se haya hecho un tratamiento en las hojas vegetativas, un poco antes de la recolección, y solamente en plantas de superficie foliar amplia como la alfalfa, col, tabaco, pastos forrajeros etc. contienen residuos en cantidades apreciables como Carbofuran intacto y 3-hidroxicarbofuran.

Además el Límite Máximo de Residuos para Carbofuran en papa, sugerido por la FAO/OMS (6) a través de la "Joint Meeting for Pesticides Residues" (JMPR) es de 0.5 ppm por lo que se puede indicar que en el presente trabajo no existieron residuos, puesto que para el análisis de ellos se trabajó con un límite de detección de 0.1 ppm.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

5.1.1 Mediante el análisis químico por cromatografía líquida de alta presión, no se detectó ningún residuo de Carbofuran (Furadan) en muestras de papa provenientes del experimento a un nivel de 0.1 ppm.

5.1.2 Con la presente investigación se logró la estandarización del método analítico para el Carbofuran, técnica que constituye un avance significativo en el desarrollo del análisis de residuos para el país y poca difundida en otros.

5.1.3 Mediante el método de recuperación y estandarización del mismo, se comprobó que la técnica empleada en el análisis fue buena.

5.1.4 El Carbofuran no es acumulativo en tubérculos de papa, lo que permite establecer un margen de seguridad para el consumidor si se lo aplica técnicamente y con un tiempo de 60 días antes de la cosecha.

5.2 Recomendaciones.

5.2.1 Se sugiere estudiar las técnicas analíticas que conducen a la detección del 3-hidroxicarbofuran, y con ésta base realizar nuevos estudios, siguiendo la metodología descrita en éste trabajo, para recomendar límites máximos de residuos.

5.2.2 Realizar ensayos con mayores dosis a las utilizadas en el ensayo.

5.2.3 Realizar ensayos de residuos con las diferentes clases y denominaciones de Furadan.

5.2.4 Para futuros ensayos aplicar el producto en épocas post teriores al aperque (es decir cuando estén formados los tubérculos).

FRUITWAY
ONION SKIN
MADE IN U.S.A.

VI. RESUMEN

El presente trabajo se realizó entre Enero de 1.980 y Noviembre de 1.981, en el "Centro de Investigaciones Obonuco" del ICA, en el Municipio de Pasto, Departamento de Nariño, ubicado a 2.750 msnm. con una temperatura anual promedio de 13°C y una precipitación promedio anual de 760 mm y en los Laboratorios de Residuos y Tolerancias del ICA en Tibaitatá - Bogotá, con el objeto de medir la residualidad del Carbofuran en tubérculos de papa a tiempo de cosecha.

Se utilizó un diseño de bloques al azar, con tres replicaciones y 10 tratamientos correspondientes a: tres dosis 1.01 g/planta, 2.02 g/planta, 3.03 g/planta de Carbofuran 3G en tres épocas (siembra, germinación y aporque) y un Testigo; la variedad de papa que se empleó para el estudio, fue la Parda Pastusa.

A los 5½ meses se efectuó la cosecha y se tomaron 30 kilos de cada parcela y se lavaron. De estas muestras se tomaron submuestras de 3 kilos que se congelaron en nitrógeno líquido para su transporte al sitio del análisis. Como complemento al estudio se tomaron en cultivos de dos fincas, una en Tóquerres (Chillanquer) y otra en Pasto (Obonuco), en las cuales se utilizó Carbofuran (Furadan 3G).

Para el análisis de residuos se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) con detector ultravioleta previa calibración y estandarización del método. Se analizaron las muestras del ensayo y no se detectó ningún residuo de Carbofuran 3G, en ninguno de los tratamientos utilizados.

Aunque no se detectaron residuos mediante ésta técnica cromatográfica, este trabajo constituye un aporte valioso en materia de residuos, puesto que es el primer estudio de residuos de Carbofuran realizado en papa en el país.

SUMMARY

The present work was carried on between January 1.980 and November 1.981, in the "Centro de Investigaciones Obonuco" ICA, Municipality of Pasto, Department of Nariño, located at 2.750 m above sea level, 13°C annual average temperature and 760 mm annual average rainfall and in the laboratories of residues and tolerances of ICA, Tibaitatá - Bogotá, to measure the residuality of Carbofuran on potato tubers at harvest.

A complete block design with 3 replicates and 10 treatments corresponding to three dosages (1.01 g/planta; 2.02 g/planta; 3.03 g/planta) of Carbofuran 3G three vegetative stages (seeding, germination and apor_{que}) and a check, was used; "Parda Pastusa" cultivar was employed in the study.

The harvest was made after 5½ months and samples of 30 k were taken from each plot. 3 k subsamples were taken that were placed in liquid nitrogen to be transported to the place of analysis. As a complement, two samples were taken from two farms Túquerres (Chillanquer) and Pasto (Obonuco) where Carbofuran 3G was used.

High pressure chromatography liquid (HPLC) with U.V. detector, previously calibrated and standardized was utilized for the analysis of residues.

When the analysis of samples was carried out, it was not detected any Carbofuran residue, even in the treatments with the highest dosage, 3.03 g/planta in the three vegetative stages. The same situation was observed in the samples of the farmers.

Although, it was not detected any residue with the HPCL, this study it is avaluable contribution respect to residue analysis, because the proper methodology for this kind of investigations was utilized. Moreover, this is the first study about Carbofuran residues in Colombia.

FLEETWAY
ONION SKIN
MADE IN U.S.A.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. ANALYTICAL METHODS FOR PESTICIDES AND PLANT GRAN MACULATOR. Carbo-
furan, analytical standard, material is available from FMC corpo-
ration, Middleport, New York 1.973. 60 p.
2. BOWMAN, M.C. and BEROZA. Gas chromatographic detector for simulta-
neous sensing of phosphorus and sulfur containing compounds by
flame photometry. Anal. Chem. 40 (10): 1488 - 1452. 1.972.
3. BOWMAN, M.C. and BEROZA, and LEUCK, D.B. Procedure for extracting
residues of phosphorus insecticides and metabolites from field -
treated crops. J. Agric. Food. Chem. 16 (5): 796 - 802. 1.968.
4. COBURN, J.A. and A.S.Y. CHAU, A.S.Y. Confirmation of pesticides re-
sidues identity. VII. Ass. Offic. Anal. Chem. 57 (6): 1272 -
1278. 1.974.
5. CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Joint FAO/WHO Food standards progra-
mme. Eleventh session. 1.976. Report of the eight session of
the codex commite on pesticide residues, the kague. 1.975. Ali -
norm. 1.976. 91 p.
6. FAO/OMS. Residuos de plaguicidas en los alimentos . Estudio FAO:
Producción y Protección vegetal N°. 20. 1.979. 78 p.
7. FAO/OMS. Residuos de plaguicidas en los alimentos - Estudio FAO:
Producción y Protección vegetal N°. 26. 1.980. 70 p.

8. FEDERAL INTERDEPARTMENTAL COMMITTEE ON PESTICIDE CHECK SAMPLE PROGRAMME. London, Ontario, Guidelines for sampling and transporting samples for pesticide residue analysis. 1.979. 20 p.
9. FEDERAL WORKING GROUP ON PEST MANAGEMENT. Washington, Guidelines on analytical methodology for pesticide residue monitoring. Traducción realizada por la Sección Residuos y Tolerancias del ICA (Documental consulta interna) 1.975. 74 p.
10. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Análisis de los parámetros que deben tenerse en cuenta para fijar límites máximos de residuos en las condiciones de Colombia. Documento inédito de la Sección de Residuos y Tolerancias, Bogotá 1.981. 195 p.
11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Uso de plaguicidas en cultivos de papa en seis departamentos productores de Colombia documento de trabajo de la Sección Residuos y Tolerancias, Bogotá 1.981. 64 p.
12. INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. Encuestas nutricionales. Fascículos de resultados, Bogotá 1.972. 35 p.
13. KIRKLAND, J.J. Columns form modern analytical liquid chromatography. Anal. Chem. 43 (12): 36 - 48. 1.971.
14. LAWRENCE, J.F., and LEDUC, R. Direct analysis of Carbofuran and two Non-conjugated metabolites in crops by High - pressure liquid Chromatography with UV absorption detection. J. Agric. Food. Chem. 25 (6): 1362. 1.977.

15. LIKKEN, L. Guía de muestreo para análisis de residuos. Residue Review. Springer verlag, Berlin. 1.963. 30 p.
16. LONDOÑO, U.R. Guía de metodología analítica para determinación de residuos de plaguicidas. ICA, servicio de supervisión de residuos y tolerancias. Bogotá, ICA. 1.977. 60 p.
17. McNAIR, H., ESQUIBEL, B. Cromatografía líquida de alta presión. Organización de los Estados Americanos. Washington, D.C. 1.973
18. MATSUMURA, F., Toxicology of insecticides. Department of Entomology, University of Wisconsin. Madisam. New York and London, Plenum press, 1.975. 503 p.
19. MAYBURY, R. Análisis de residuos de plaguicidas (conferencias) Canadá, 21 p.
20. MCKINLEY, W.P., D.E. COFFIN, and K.A. McCULLY. Clean up processes for pesticide residue analysis. J. Ass. Offic. Agric. Chem. 47 (5): 863 - 871. 1.978.
21. MERCALF, R.L., FUKUTO, R.T., COLLINS, E. y BARCK, K. Metabolism of 2,2-dimethyl-2,3-dihydrobenzofuranyl-7-N-methylcarbamate (FURADAN), in plants, insect and mammals. Journal agricultural foodchemistry 16: 300. 1.968.
22. MONITORING PANEL, FWCFM. Guidelines sampling and statistical methodologies for ambiente pesticide monitoring. Federal working group on pest management, Washington. D.C. 1.974. 60 p.

23. NANOGEN INDEX A DICTIONARY OF PESTICIDES AND CHEMICAL POLLUTANS.
Compiled & Edited by Kingsley Packer. Printed in the United States of America. 1.975. 256 p.
24. OBBRIEN, R.D., Insecticides action and metabolism. Section of neurobiology and behavior and Department of Entomology. Cornell University. ITHACA, New York. Academic press, 1.967.
86 p.
25. PLAN NACIONAL DE ALIMENTACION Y NUTRICION. Encuestas hábitos alimenticios, 1.977. Material para tabulación y análisis, Bogotá 1.978. 43 p.
26. SKOGERBOE, R.K., and C.L. GRANT. Comments on the definitions of terms sensitivity and detection limit. Spectroscopy letters 3 (889): 215 - 220. 1.970.
27. SEUTERLAND, C.L. Residue analytical limits of detectability. Residue review. 10: 85 - 96. 1.965.
28. VENTORAZI, G. Technological decisions and recommendations resulting from the safety assessment of pesticide residues in food Reprinted from critical Reviews in toxicology, 4 (2): 125 - 182. 1.975.

Fungicidas aplicados

(nombre comercial y concentración)	Dosis	Epoca de aplicación	Enfermedades que controla
------------------------------------	-------	---------------------	---------------------------

_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

Número de aplicaciones: A los 8 días _____
 A los 15 días _____
 A los 30 días _____

Controla insectos: Sí _____
 No _____

Insecticidas aplicados

(nombre comercial y concentración)	Dosis	Epoca de aplicación	Insectos que controla
------------------------------------	-------	---------------------	-----------------------

_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

Número de aplicaciones: A los 8 días _____
 A los 15 días _____
 A los 30 días _____

Emplea mezclas de plaguicidas: Sí _____
 No _____

Mezclas utilizadas	Dosis	Epocas de aplicación
--------------------	-------	----------------------

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Otros datos:

Labor de cultivo

Días después de la siembra

Primera desyerba

Segunda desyerba (alzada)

Aporque

Cosecha

DESTINO DEL PRODUCTO:

Almacenamiento Sí _____ Por cuánto tiempo _____
No _____

Comercializa inmediatamente Sí _____
No _____
Dónde _____

Posible uso posterior:

Mercadeo _____
Procesamiento _____
Exportación _____
Consumo directo _____
Con cáscara _____
Sin cáscara _____

OBSERVACIONES:

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

T
633.491
A339d
Ej. 1

Inventario: 29346
Autor: Cesar Albornoz, Carlos Mora
Título: Determinación de residuos de
Profesor



T
633.491
A339d
Ej. 1

29346

Universidad de Nariño
Pasto (Nariño)

29346 -

Universidad de Nariño
BIBLIOTECA
ALBERTO QUIJANO GUERRERO

29346

