



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**“MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL”**

**TITULO:**

**"EFECTOS COLINESTERASICOS Y CONTAMINACIÓN DEL AGUA  
CAUSADOS POR EL USO DE PLAGUICIDAS EN ZONAS  
AGRÍCOLAS DEL CANTÓN SANTA ISABEL"**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE MAGISTER EN TOXICOLOGÍA  
INDUSTRIAL Y AMBIENTAL**

**AUTOR:** DMVZ. Bolívar Auquilla González.

**DIRECTOR:** Ing. M.Sc. Raúl Alejandro Vanegas Cabrera

**CUENCA - ECUADOR**

**2015**



## RESUMEN

Aproximadamente el 86% de los pobladores de Dandán, Lunduma y Tugula, del cantón Santa Isabel perteneciente a la provincia del Azuay, se dedican a la agricultura, y por su actividad se encuentran expuestos a diferentes plaguicidas.

Los objetivos fueron determinar los niveles de colinesterasa de los agricultores, la posible contaminación del agua de consumo humano y riego por plaguicidas e identificar los diferentes plaguicidas aplicados en la zona. Se realizó encuestas y entrevistas a los agricultores y expendedores de agroquímicos, obtención de muestras sanguíneas y análisis para determinar la colinesterasa, así como también el muestreo y análisis de agua para establecer residuos de plaguicidas.

Entre los plaguicidas utilizados están los organofosforados y carbamatos. El 4,39% de agricultores presentaron valores de colinesterasa inferiores al normal, el 1,09% superó el nivel normal, mientras que el 94,52% estuvieron entre el rango normal (4 659-14 443 U/L). Existe una relación inversamente proporcional no significativa ( $P\ 0,180 > 0,05$ ) entre la colinesterasa y la exposición, es decir conforme la exposición se incrementa la colinesterasa tiende a disminuir y viceversa. Una correlación semejante se presentó entre la colinesterasa y la edad de los agricultores. El nivel de colinesterasa entre el género masculino y femenino estadísticamente es similar, al igual que los promedios de colinesterasa entre el grupo de agricultores y los que se dedican a otras actividades económicas ( $P > 0,05$ ). Estos resultados nos llevan a concluir que la exposición a pesticidas organofosforados y carbamatos, afectan sobre los niveles de colinesterasa de los agricultores en estudio, con tendencia a la disminución.

Los análisis de laboratorio no detectaron residuos de plaguicidas en las muestras de agua de consumo humano y riego, sin embargo estos resultados no son concluyentes, por ello se sugiere realizar futuras investigaciones sobre este tema.

**Palabras claves:** Organofosforados, Carbamatos, Colinesterasa, Intoxicación, Agricultura.



## ABSTRACT

Approximately 86% of the inhabitants of Dandan, Lunduma and Tugula, in Canton Santa Isabel belonging to the province of Azuay, is engaged in agriculture, and its activities are exposed to different pesticides.

The objectives were to determine cholinesterase levels of farmers, the possible contamination of drinking water and irrigation pesticides and identify the different pesticides applied in the area. Surveys and interviews were conducted to farmers and retailers of agrochemicals, blood sampling and analysis to determine cholinesterase, as well as sampling and analysis of water to establish pesticide residues.

Among the pesticides used are organophosphates and carbamates. 4.39% of the farmers cholinesterase values were lower than the normal cholinesterase, 1.09% exceeded the normal level, while 94.52% were among the normal range (4 659 to 14 443 U / L). There is no significant inverse relationship ( $P\ 0.180 > 0.05$ ) between cholinesterase and exposure, ie as exposure increases cholinesterase tends to decrease and vice versa. A similar correlation was found between cholinesterase levels and age of farmers. Cholinesterase levels between male and female gender is statistically similar, as are the averages of cholinesterase among the group of farmers and people engaged in other economic activities ( $P > 0.05$ ). These results lead us to conclude that exposure to organophosphate and carbamate pesticides affect on cholinesterase levels of farmers in the study, with a tendency to decrease.

Laboratory tests did not detect pesticide residues in samples of water for human consumption and irrigation, but these results are not conclusive, so it is suggested that future research on this topic.

**Keywords:** organophosphates, carbamates, cholinesterase, intoxication, agriculture



## INDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1: Tipos de plaguicidas según el organismo que controlan .....   | 5  |
| Tabla 2: Grupos químicos de los plaguicidas .....  | 5  |
| Tabla 3: Categorías toxicológicas de plaguicidas según DL50 ratas (mg/Kg de peso corporal) .....                   | 6  |
| Tabla 4: Síntomas comunes asociados con el envenenamiento por pesticidas carbamatos y organofosforados .....       | 14 |
| Tabla 5: Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico que requieran desinfección ..... | 40 |
| Tabla 6: Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola.....   | 41 |
| Tabla 7: Límites máximos de residuos para plaguicidas expresados en mg/Kg ..                                       | 43 |
| Tabla 8: Operacionalización de las variables .....   | 47 |
| Tabla 9: Lugares de muestreo georeferenciados .....  | 54 |
| Tabla 10: Identificación y categoría toxicológica de los agroquímicos usados en el área en estudio.....            | 59 |
| Tabla 11: Estadística descriptiva de la variable colinesterasa en las zonas de estudio.....                        | 64 |
| Tabla 12: Estadística descriptiva de la variable colinesterasa.....  | 65 |
| Tabla 13: Frecuencias y porcentajes de la variable género .....  | 65 |
| Tabla 14: Niveles de colinesterasa según el género .....   | 66 |
| Tabla 15: Estadística descriptiva de las variables edad y años de exposición....                                   | 66 |
| Tabla 16: Niveles de colinesterasa según la edad .....   | 67 |
| Tabla 17: Colinesterasa según actividad económica .....  | 67 |
| Tabla 18: Correlación entre colinesterasa y edad .....   | 70 |
| Tabla 19: Correlación entre colinesterasa y la exposición .....  | 71 |
| Tabla 20: Promedios de colinesterasa según actividad económica .....   | 72 |
| Tabla 21: Análisis de varianza de la variable colinesterasa con respecto al género .....                           | 72 |
| Tabla 22: Resultados de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis. ....  | 73 |
| Tabla 23: Resultados de los análisis de agua de riego. ....  | 74 |
| Tabla 24: Resultados de análisis de agua de consumo humano .....   | 75 |



## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Fórmula estructural de la acetilcolina .....                                    | 17 |
| Figura 3: Contaminación del ambiente por el uso de plaguicidas (Jáquez, et al 2013) ..... | 25 |
| Figura 4: Ubicación geográfica de Santa Isabel. Fuente: Elaboración .....                 | 44 |
| Figura 6: Obtención de muestras de sangre .....   | 52 |
| Figura 7: Muestras sanguíneas previas al análisis .....                                   | 53 |
| Figura 8: Localización de los puntos de muestreo en el área en estudio. ....              | 55 |
| Figura 10: Niveles de colinesterasa de agricultores del sector Dandán .....               | 61 |
| Figura 12: Niveles de colinesterasa de agricultores del sector Tugula.....                | 62 |
| Figura 14: Diagrama de dispersión entre colinesterasa y edad.....                         | 69 |
| Figura 15: Diagrama de dispersión entre colinesterasa y la exposición.....                | 70 |



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

**Ach:** Acetilcolina

**ACE:** Acetilcolinesterasa

**CE:** Colinesterasa

**CEAS:** Centro de Estudios y Asesoría en Salud

**CEPIS:** Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente

**COPs:** Contaminantes orgánicos persistentes.

**CL50:** Concentración letal media

**DL 50:** Dosis Letal Media

**DS:** Desviación estándar

**ERA:** Evaluación del riesgo ambiental

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

**HPLC/MS/MS:** Cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de masas doble

**INEC:** Instituto Nacional de Estadística y Censos

**IOF:** Insecticidas organofosforados.

**Koc:** Coeficiente de adsorción de carbono orgánico

**Kow:** Coeficiente de Partición Octanol/Agua

**LC:** Cromatografía líquida

**LMR's:** Límite Máximo de Residuos.

**LMP:** Límite máximo Permisible

**mg:** Miligramo

**MMR:** Métodos multi-residuales

**MPS:** Ministerio de Protección Social (Colombia)

**MS:** Espectrometría de masas

**ND:** No detectables

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PIC:** Plaguicidas inhibidores de colinesterasa.

**PNUMA:** Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.

**ppm:** Partes por millón

**rpm:** revoluciones por minuto



**SNP:** Sistema nervioso periférico

**SNC:** Sistema Nervioso Central

**U/L:** Unidades por litro

**µm:** Microgramo.

**USEPA:** Agencia para la Protección Ambiental de Estados Unidos

**nm:** Nanómetro

**MINAM-** Perú: Ministerio del Ambiente de Perú



## INDICE DE CONTENIDOS

|   |    |
|---|----|
| PORTADA .....   | 1  |
| RESUMEN.....  | 2  |
| ABSTRACT .....  | 3  |
| INDICE DE TABLAS .....                                | 4  |
| LISTA DE FIGURAS .....                                | 5  |
| ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA.....                        | 6  |
| INDE DE CONTENIDOS .....                              | 8  |
| CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR.....                    | 11 |
| CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL .....               | 12 |
| AGRADECIMIENTOS.....                                  | 13 |
| DEDICATORIA .....                                     | 14 |
| CAPITULO I:.....                                      | 0  |
| 1. INTRODUCCION .....                                 | 0  |
| 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....                 | 0  |
| 1.2. OBJETIVOS.....                                   | 2  |
| 1.2.1. Objetivo general.....                          | 2  |
| 1.2.2. Objetivos específicos: .....                   | 2  |
| 1.3. HIPOTESIS.....                                   | 2  |
| CAPITULO II:.....                                     | 3  |
| 2. REVISION BIBLIOGRAFICA .....                       | 3  |
| 2.1. GENERALIDADES .....                              | 3  |
| 2.2. LOS PLAGUICIDAS.....                             | 4  |
| 2.2.1 Clasificación de los plaguicidas.....           | 4  |
| 2.2.2. Aspectos toxicológicos de los plaguicidas..... | 6  |
| 2.2.3 Exposición a Plaguicidas .....                  | 7  |



|   |    |
|---|----|
| 2.2.4 Principales Rutas de Exposición .....   | 8  |
| 2.3 PLAGUICIDAS INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA .....   | 9  |
| 2.3.1 Los organofosforados .....  | 10 |
| 2.3.2 Los carbamatos .....  | 12 |
| 2.3.3 Exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa .....                                 | 13 |
| 2.3.4 Intoxicación aguda por inhibidores de colinesterasa .....                                   | 15 |
| 2.3.5. Estudios toxicológicos.....  | 16 |
| 2.4. ACETILCOLINA Y COLINESTERASA .....   | 17 |
| 2.4.1. Acetilcolina.....  | 17 |
| 2.4.2 Acetilcolinesterasa .....   | 18 |
| 2.5. BIOMARCADORES PARA POBLACIONES EXPUESTAS A PLAGUICIDAS .....                                 | 21 |
| 2.5.1. Determinación de actividad colinesterásica.....  | 22 |
| 2.5.2. Métodos para determinar los niveles de colinesterasa .....                                 | 22 |
| 2.6. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR AGROQUÍMICOS.....  | 23 |
| 2.6.1. Ruta de los plaguicidas en el ambiente .....   | 24 |
| 2.6.2. Factores que influyen en el destino de los contaminantes y en el transporte ambiental..... | 25 |
| 2.6.3. Contaminación del agua por plaguicidas.....  | 26 |
| 2.7. RIESGO AMBIENTAL.....  | 29 |
| 2.7.1. Evaluación del riesgo ambiental (ERA) .....  | 30 |
| 2.7.2. Evaluación del transporte y destino de los plaguicidas.....                                | 32 |
| 2.8. MODELOS PARA PREDECIR LA DISTRIBUCIÓN Y EL DESTINO DE LOS PLAGUICIDAS EN EL AMBIENTE .....   | 34 |
| 2.9. PRINCIPALES MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE TOXICOS EN MATRICES AMBIENTALES.....                 | 35 |
| 2.9.1. Monitorización ambiental .....   | 35 |
| 2.9.2. La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) .....                                   | 36 |



|   |           |
|---|-----------|
| 2.9.3. Espectrometría de masas .....  | 37        |
| 2.10. MARCO LEGAL: .....  | 37        |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 44        |
| 3.1. ÁREA DE ESTUDIO .....  | 44        |
| 3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....   | 45        |
| 3.3. METODOLOGÍA .....  | 48        |
| 3.3.1. Identificación de los plaguicidas utilizados en la zona de estudio.....          | 48        |
| 3.3.2. Determinación de niveles de colinesterasa .....                                  | 49        |
| 3.3.3 Determinación de residuos de plaguicidas en agua .....                            | 53        |
| 4. RESULTADOS .....   | 58        |
| 4.1. PLAGUICIDAS UTILIZADOS EN LA ZONA .....  | 58        |
| 4.2. RESULTADOS DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA SÉRICA .....                            | 60        |
| 4.2.1 Estadística descriptiva .....   | 64        |
| 4.2.2. Estadística Inferencial .....  | 69        |
| 4.3. RESULTADOS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN AGUA.....                                 | 73        |
| CAPITULO V: .....   | 76        |
| 5. DISCUSION.....   | 76        |
| <i>Determinación de niveles de colinesterasa en agricultores.....</i>                   | <i>76</i> |
| <i>Determinación de residuos de plaguicidas en agua para consumo humano y riego ...</i> | <i>78</i> |
| CAPITULO VI: .....  | 79        |
| 6. 1. CONCLUSIONES .....  | 79        |
| 6.2 RECOMENDACIONES.....  | 81        |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....   | 82        |



## CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR



Universidad de Cuenca  
Clausula de derechos de autor

*Bolívar Auquilla González*, autor/a de la tesis "Efectos colinesterásicos y contaminación del agua causados por el uso de plaguicidas en zonas agrícolas del cantón Santa Isabel", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de (título que obtiene). El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor/a

Cuenca, 9 de febrero del 2015

Bolívar Auquilla González

C.I: 010197037-4



## CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca  
Cláusula de propiedad intelectual

Bolívar Auquilla González, autor/a de la tesis "Efectos colinesterásicos y contaminación del agua causados por el uso de plaguicidas en zonas agrícolas del cantón Santa Isabel", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 9 de febrero del 2015.

Bolívar Auquilla González

C.I: 010197037-4



## AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento al señor Ing. M.Sc. Raúl Vanegas, quién con sus vastos conocimientos y experiencia apoyó con la Dirección de este trabajo, de igual manera a la Universidad de Cuenca por la apertura de esta maestría. A todos los profesionales de la salud quienes colaboraron en la obtención de muestras, y de manera especial a la B.Q.F Geovanna Zea quién participó de manera incondicional.

Mención especial para los dirigentes de la Junta de Regantes del Canal San Francisco, especialmente a su Presidente el señor Ernesto Guerrero, así como también a todas las personas que participaron en el presente estudio.



## DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mí querida familia, de manera especial a mi amada esposa Graciela, por el apoyo incondicional que me ha brindado.

A mis queridos padres Victoriano y Regina por su perseverancia en mi formación profesional, así también a mis hijos Renato, Álvaro y Lisseth quienes con su paciencia y comprensión me acompañaron en los momentos difíciles.



## **CAPITULO I:**

### **1. INTRODUCCION**

Los agricultores se encuentran en el grupo poblacional con alto riesgo de exposición a plaguicidas, debido al uso de insecticidas, fungicidas, nematicidas, entre otros (Pitarch, 2001).

González (2011) manifiesta que los plaguicidas han proporcionado beneficios a nivel económico y en salud pública, sin embargo por su actividad biológica y por su persistencia en el ambiente, estos compuestos son potencialmente riesgosos para la salud por sus efectos a corto y largo plazo.

La exposición potencial del ambiente a los plaguicidas puede ser estimada por medio del monitoreo ambiental. La exposición de la población afectada se evalúa mediante el monitoreo biológico de tejidos humanos y fluidos corporales. Uno de los biomarcadores más comúnmente empleados para detectar la exposición a insecticidas organofosforados y carbamatos, es el nivel de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Gentile et al, 2003).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere la medición de la colinesterasa plasmática, como indicador biológico de exposición a plaguicidas, así una disminución de la actividad de la colinesterasa plasmática de un 30 % indicaría una exposición baja a plaguicidas, y disminuciones mayores al 50% indicarían una alta exposición (Huamani, et al, 2005).

#### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La principal actividad de los habitantes de Dandán, Lunduma y Tugula es la agricultura (INEC 2010) con diversos cultivos a campo abierto y bajo invernaderos, esto constituye un factor predisponente para que los agricultores se encuentren expuestos a los pesticidas durante periodos prolongados, con el consiguiente riesgo de afección en la salud y alteración del nivel de colinesterasa por efecto de los plaguicidas que inhiben esta enzima.



Los agroquímicos utilizados en estas actividades agrícolas, también representan un peligro para la contaminación del ambiente (suelo, agua y aire). El agua de riego constituye el medio más eficiente de transporte de contaminantes hacia los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, por ello es importante realizar un monitoreo, con la finalidad de determinar residuos de pesticidas en ciertas matrices ambientales.

En ésta zona no se han efectuado estudios toxicológicos, especialmente los relacionados con alteración de la colinesterasa en agricultores, también no se han reportado investigaciones sobre contaminación del agua por plaguicidas organofosforados y carbamatos.

En nuestro País se ha investigado sobre la colinesterasa sérica en trabajadores de una plantación florícola del cantón Biblián, determinándose una tendencia a la disminución de esta enzima, pero sin llegar al límite inferior (Luzuriaga y Vega, 2011). Samaniego (2011) en un estudio realizado en la plantación “Flor de Azama” concluye que los niveles de colinesterasa disminuyen de acuerdo al tiempo de exposición a los pesticidas organofosforados.

Milla y Palomino (2002) en la comunidad Carapongo de Perú, establecieron que los organofosforados y carbamatos afectan considerablemente el nivel de la actividad de la colinesterasa sérica. Mientras que en Putumayo Colombia, la determinación de la acetilcolinesterasa permitió conocer la dimensión real del problema de los plaguicidas y utilizarla para hacer una intervención educativa sobre los trabajadores (Varona et al, 2006).

En lo que respecta a contaminación de aguas en nuestro País, Da Ros (1995) manifiesta que el Instituto Ecuatoriano de Obras Sanitarias (IEOS) a partir de 1990 realizó un programa de investigación para determinar residuos de organoclorados y organofosforados en pequeños sistemas rurales de abastecimientos de agua potable, en Imbabura, Pichincha y Cotopaxi, detectando la presencia de plaguicidas como dimetoato, malathión y etil paratión, pero sin sobrepasar el límite máximo admisible para sustancias tóxicas que es de 0.1 mg/l.



Por otra parte en una investigación realizada para la determinación de plaguicidas en la laguna de Gandoca en Limón, Costa Rica, como resultado se indica que, ningún plaguicida fue detectado (Coll, Cortés y Sauma, 2004).

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivo general**

Determinar si el uso de plaguicidas organofosforados y carbamatos están afectando los niveles de colinesterasa sérica en agricultores; o a su vez están contaminando el agua destinada para consumo humano y/o de riego en los sectores Dandán, Lunduma y Tugula del cantón Santa Isabel.

### **1.2.2. Objetivos específicos:**

1. Determinar los niveles de colinesterasa sérica en los agricultores expuestos a plaguicidas.
2. Establecer posibles relaciones entre el nivel de colinesterasa sérica con su exposición a plaguicidas, edad, actividad económica, y género.
3. Establecer la presencia de residuos de plaguicidas organofosforados y carbamatos en agua para consumo humano y para riego.
4. Identificar los diferentes plaguicidas aplicados en las áreas en estudio

## **1.3. HIPOTESIS**

En la zona agrícola de Santa Isabel se utilizan plaguicidas inhibidores de colinesterasa, los mismos que causarán su disminución de los valores normales en las personas expuestas, así como la presencia de residuos de estos pesticidas en el agua para consumo humano y para riego.



## CAPITULO II:

### 2. REVISION BIBLIOGRAFICA

#### 2.1. GENERALIDADES

Los pesticidas cumplen una función importante en la agricultura moderna, y por ello se ha incrementado el uso para controlar las distintas plagas que amenazan los alimentos y otros productos agrícolas, las intoxicaciones por plaguicidas es un tema importante ya que han ocurrido graves hechos en todo el mundo, donde estos compuestos químicos han causado enfermedades. El uso intensivo e indiscriminado de insumos agrícolas, especialmente de plaguicidas de amplio espectro como son los organofosforados y carbamatos, viene generando innumerables problemas sobre la salud de la población (Rodríguez et al, 2010).

La exposición a plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa (Organofosforados y carbamatos) es un riesgo que se debe controlar en cualquier grupo ocupacional que presente exposición a estos productos, especialmente en los trabajadores del sector agrícola que laboran en cultivos como frutas, hortalizas, flores, etc. (Ministerio de Protección Social de Colombia, MPS, 2007).

La sintomatología por intoxicación con carbamatos es corta y menos severa que con compuestos organofosforados, excepto en casos de carbofuran y aldicarb, los cuales se comportan de manera muy severa (Hurtado y Gutiérrez, 2005).

Si bien es cierto que los plaguicidas se utilizan en agricultura para el control de plagas, la exposición de humanos puede ocurrir no solo por la aplicación, sino también por la contaminación de suelos, agua y alimentos entre otros (Yucra et al, 2008).

Según Pérez, R. (2012) las actividades agrícolas contaminan el agua con nutrientes, pesticidas, sedimentos minerales y patógenos. Estos contaminantes se transportan en el agua de riego y las lluvias llegando hasta los cuerpos de aguas superficiales y subterráneos, a través de escorrentía, lixiviación, filtración y deposición atmosférica.



## 2.2. LOS PLAGUICIDAS

La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) define a un plaguicida como “una sustancia o mezcla de sustancias 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, o transporte de los alimentos, también pueden ser administrados a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en sus organismos” (Ramírez y Lacasaña, 2001).

### 2.2.1 Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus características principales (González, 2011).

1. Según el tipo de organismo que se desee controlar.
2. El grupo químico del principio activo.
3. Según su persistencia al medio ambiente: persistentes, poco persistentes, no persistentes.
4. De acuerdo a la toxicidad aguda (categoría toxicológica).

La clasificación de los plaguicidas según el organismo que controlan, se presentan en la tabla 1. En este grupo se encuentran los fungicidas, insecticidas, herbicidas y otros de uso agrícola.



Tabla 1: Tipos de plaguicidas según el organismo que controlan

| <b>Tipo de Plaguicida</b> | <b>Efecto sobre</b> |
|---------------------------|---------------------|
| Insecticida               | Insectos            |
| Acaricida                 | Ácaros              |
| Garrapaticida             | garrapatas          |
| Nematicida                | Nemátodos           |
| Molusquicida              | Moluscos            |
| Rodenticida               | Roedores            |
| Fungicida                 | Hongos              |
| Herbicida                 | Plantas indeseadas  |

Fuente: González, G. 2011.

Otro tipo de clasificación se presenta en la tabla 2, establecida según el grupo químico al que pertenecen los pesticidas. En este se encuentran los organofosforados y carbamatos.

Tabla 2: Grupos químicos de los plaguicidas

| <b>Grupo Químico</b>              |
|-----------------------------------|
| Organoclorados                    |
| Organofosforados                  |
| Carbamatos                        |
| Tiocarbamatos                     |
| Piretroides                       |
| Derivados bupiridilos             |
| Derivados de triazinas            |
| Derivados del ácido fenoxiacético |
| Derivados cloronitrofenólicos     |
| Compuestos orgánicos del estaño   |
| Compuestos inorgánicos            |
| Compuestos de origen botánico     |

Fuente: Ramírez, J., Lacasaña M. 2001

La toxicidad de los plaguicidas es otro factor que se considera para su clasificación, característica que nos permite conocer su peligrosidad. En la tabla 3 se resume las categorías tóxicas según DL50 (dosis letal media).

Tabla 3: Categorías toxicológicas de plaguicidas según DL50 ratas (mg/Kg de peso corporal)

| CATEGORIA<br>(color de banda) | Considerado           | ORAL      |            | DERMICO    |            |
|-------------------------------|-----------------------|-----------|------------|------------|------------|
|                               |                       | Sólidos   | Líquidos   | Sólidos    | Líquidos   |
| I = Roja                      | Extremadamente tóxico | 5 ó menor | 20 ó menor | 10 ó menor | 40 ó menor |
| II.= Amarilla                 | Altamente tóxico      | 5.0 - 50  | 20-200     | 10-100     | 40-400     |
| III. = Azul                   | Moderadamente tóxico  | 50 - 500  | 200 - 2000 | 100 -1000  | 400 -4000  |
| IV. = Verde                   | Ligeramente tóxico    | > 500     | > 2000     | > 1000     | > 4000     |

Fuente: Hurtado y Gutiérrez. 2005

Los pesticidas de las categorías I y II son considerados los más peligrosos para la salud de las personas debido a su alta toxicidad.

### 2.2.2. Aspectos toxicológicos de los plaguicidas

Sin obviar la importancia de los plaguicidas, tanto en la agricultura como en las actividades de salud pública, son innegables los efectos tóxicos que generan en el ser humano. Su biodisponibilidad en el organismo depende de su toxicocinética: absorción, distribución, metabolismo y eliminación. La absorción depende de las propiedades de la fórmula y de la vía de entrada, pues a través de ella se absorben cantidades significativas de diversos plaguicidas, mientras que en la población general la vía de absorción más importante es el aparato digestivo por la ingestión de alimentos y agua contaminados (Ramírez y Lacasaña, 2001).

El epitelio alveolar de los pulmones también permite una rápida y eficiente absorción de plaguicidas, se metabolizan en una primera fase (oxidación, reducción e hidrólisis) que generalmente son catalizadas por enzimas hepáticas, y en segunda fase por (conjugación y síntesis). La eliminación puede ser por tres vías principales: la orina, las heces fecales y el aire exhalado, algunos productos son eliminados fácilmente por vía urinaria sin haber sufrido cambio alguno, los que llegan al cuerpo en forma de gases o vapores son eliminados comúnmente por vía respiratoria (Ramírez y Lacasaña, 2001).

### 2.2.3 Exposición a Plaguicidas

La exposición ocupacional se presenta de manera directa de las fuentes emisoras en los puestos de trabajo, y una de las vías de ingreso al organismo es la respiratoria, podemos mencionar tres elementos que componen la exposición ocupacional:

- El tiempo de exposición
- La concentración de la sustancia en el ambiente de trabajo.
- Las medidas de protección utilizadas al aplicar los pesticidas.

Es así, que se puede reconocer dos tipos de exposición: *aguda* (de corta duración pero con alta concentración) y *crónica* (de larga duración con bajas, medianas o altas concentraciones) que van a producir efectos nocivos a la salud de tipo agudo o crónico, que de acuerdo con las medidas preventivas que se tomen y a la susceptibilidad individual pueden ser de efectos reversibles o irreversibles (Yucra, et al. 2008).

Existen trabajadores que están expuestos a diversas mezclas de plaguicidas, principalmente en invernaderos y en campo abierto, donde se cultivan hortalizas y plantas ornamentales. En espacio abierto la exposición de los jornaleros que laboran en actividades agrícolas sucede en varias formas, tanto para quién aplica así como para quién formula y hace las mezclas. En invernaderos, el efecto es más prolongado debido a la humedad relativa alta y la temperatura, también es



frecuente que los trabajadores de dichas actividades no respeten las instrucciones de aplicación de los plaguicidas (Martínez y Gómez, 2007).

Aquino y Castro (2008) señalan que existen varias formas por las cuales los seres humanos pueden verse expuesto a los plaguicidas:

- a. Exposición accidental: En el sector agrícola se presentan accidentes provocados durante el mezclado y aplicación, el uso de un equipo de protección reduce las posibilidades de daños mayores.
- b. Exposición ocupacional: Las personas expuestas al mayor riesgo son las que preparan las mezclas de plaguicidas, debido a que el producto está en su más alta concentración. Otro grupo de riesgo constituye los aplicadores, porque ellos trabajan diariamente con los mismos.
- c. Exposición por residuos en alimentos: El consumo de alimentos con altos niveles de residuos es otra forma de exposición a los plaguicidas.
- d. Exposición por aguas contaminadas con plaguicidas: El uso inadecuado de plaguicidas o la eliminación indebida de éstos, puede contaminar tanto las aguas superficiales como las subterráneas mediante el filtrado a través del suelo.

## 2.2.4 Principales Rutas de Exposición

De acuerdo a Niño (2010) la exposición a plaguicidas puede presentarse por las siguientes vías:

La piel (absorción cutánea): El contacto con la piel es la vía más común de exposición a las sustancias tóxicas, algunos factores pueden afectar la absorción cutánea:

- El estado de la piel.- La epidermis es una barrera eficaz contra la absorción de algunas sustancias químicas tóxicas. No obstante, un corte o abrasión, permite la penetración de las sustancias tóxicas.



- La composición química de la sustancia.- Las sustancias químicas inorgánicas no se absorben fácilmente a través de la piel intacta, mientras que las sustancias químicas orgánicas disueltas en el agua no penetran fácilmente, porque la piel es impermeable al agua. Sin embargo los solventes orgánicos, como el diluyente de pinturas o la gasolina, se absorben fácilmente a través de la epidermis.
- El aumento de la concentración de la sustancia tóxica o el tiempo de exposición incrementa la tasa o la cantidad del material absorbido.

El sistema respiratorio (inhalación): La inhalación es el medio más fácil y rápido de exposición a las sustancias tóxicas porque se absorben fácilmente en el sistema respiratorio. Algunos factores afectan la inhalación de estas sustancias:

- La concentración de sustancias tóxicas en la atmósfera.
- La tasa respiratoria.
- Duración de la exposición.
- Estado del sistema respiratorio, y
- El tamaño de la partícula tóxica.

El sistema digestivo (ingestión): La función principal del sistema digestivo es digerir y absorber los alimentos que comemos. La absorción de sustancias tóxicas es afectada por factores físicos y químicos.

Otras rutas de exposición: Los ojos son un punto de contacto común para las sustancias tóxicas, siendo la córnea el sitio primario de contacto.

### **2.3 PLAGUICIDAS INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA**

Los plaguicidas organofosforados junto a otros fosfatos, sulfatos y sulfonatos orgánicos, así como los carbamatos, son compuestos químicos que se caracterizan por un efecto común en el organismo, la inhibición de un grupo de enzimas llamadas colinesterasas (Ibarra y Linares, 2012)

Los plaguicidas organofosforados y carbámicos se usan a gran escala a nivel mundial, la toxicidad aguda de la gran mayoría de estos es muy alta y los casos



de intoxicaciones humanas son frecuentes, además de las intoxicaciones agudas, los organofosforados también pueden causar efectos a largo plazo (Milla y Palomino, 2002).

### Características de los plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa

El MPS de Colombia (2007) explica que estos plaguicidas son sustancias con diferentes características físicas, ya que pueden ser líquidos y aplicarse sin diluir, diluidos, en aerosol, como concentrado emulsionable o suspensión concentrada; o pueden ser sólidos y aplicarse sin disolver como polvos o gránulos, o disueltos como polvo humectable o granos solubles. Algunos actúan como inhibidores reversibles de la enzima acetilcolinesterasa (carbamatos) y otros ejercen una inhibición irreversible (organofosforados).

### Toxicidad de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa

La toxicidad aguda de los organofosforados y carbamatos está asociada con la acumulación del neurotransmisor acetilcolina (Ach) en las terminales nerviosas, debido a la inhibición de las enzimas colinesterasas cuya actividad biológica más conocida es la hidrólisis de la Ach. La acumulación de la Ach da lugar a una excesiva estimulación de los receptores colinérgicos muscarínicos y nicotínicos en el Sistema Nervioso Central (SNC), Sistema Nervioso Periférico (SNP) y Sistema Nervioso Autónomo (Roldan y Sánchez, 2004).

#### **2.3.1 Los organofosforados**

Se denominan insecticidas organofosforados (IOF) aquellas sustancias orgánicas derivadas de la molécula del ácido fosfórico. Estas son utilizadas para el control de plagas que atacan los cultivos o insectos transmisores de enfermedades, la mayoría se emplean en la agricultura o también en programas de salud pública (Luzuriaga y Vega, 2011).

Sin embargo a pesar que son menos persistentes en el ambiente, no dejan de representar un riesgo para la salud humana y para el deterioro de los



ecosistemas, sobre todo si no se manejan de manera adecuada (Pérez et al, 2008)

La mayoría de los organofosforados pueden agruparse en: Fosfatos, fosforotionato, fosforoditioato, fosforotiolato, fosforoamidato, fosforodiamidato, pirofosfato, fosfonato, y fosfotionato. Todos los derivados fosfóricos presentan un modo de acción primario semejante, los insecticidas organofosforados tienen acción tóxica específica a nivel sináptico, en donde al enlazarse de forma covalente con la acetilcolinesterasa, inhiben su actividad enzimática normal de hidrólisis de la acetilcolina, lo que da como resultado la acumulación excesiva de este neurotransmisor (Badii y Varela, 2008).

### Toxicocinética

Según publicación del Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España (1999) la toxicidad aguda por vía dérmica se evalúa mediante la determinación experimental de la DL50 (dosis letal media), es decir, la dosis (mg/kg de peso del animal) que causa la muerte del 50 % de los animales a los que se les ha administrado por aplicación sobre la piel.

Absorción.- La absorción por la piel no es uniforme en toda la superficie corporal para un determinado compuesto químico, la temperatura ambiental elevada es un factor que contribuye a favorecer la absorción cutánea. Por vía inhalatoria es muy elevada, y será considerada cuando se trata de plaguicidas cuyo ingrediente activo se volatiliza fácilmente.

Distribución.- Una vez absorbidos, los organofosforados y sus metabolitos se distribuyen rápidamente por todos los órganos y tejidos, aunque las concentraciones más elevadas se alcanzan en el hígado y los riñones.

Metabolismo.- El catabolismo (descomposición en sustancias más sencillas) de los compuestos organofosforados tiene lugar, en parte, a través de las llamadas esterasas "A", enzimas que los hidrolizan a una velocidad considerable, actuando como detoxificadoras.



Las esterasas “B” no tienen esta función, al contrario, son las moléculas diana sobre las que los organofosforados actúan en el organismo, ejerciendo así su acción tóxica, como es el caso de la acetilcolinesterasa cuya actividad bioquímica resulta inhibida, con una rapidez e intensidad que depende de la naturaleza del compuesto. La butirilcolinesterasa, o colinesterasa sérica, por encontrarse en el suero, es de características análogas a la anterior pero con función detoxificadora frente a los organofosforados.

El metabolismo.- Transcurre principalmente en el hígado, y como resultado final de la transformación de la molécula se originan los “grupos salientes” que son característicos de cada organofosforado en particular (por acción de citocromos P-450), y un total de hasta 8 alquilfosfatos diferentes (por acción de las esterasas A), que son comunes para el conjunto de los organofosforados. De estos últimos, los 6 más frecuentes son los siguientes: el dimetilfosfato (DMP), dietilfosfato (DEP), dimetiltiofosfato (DMTP), dietiltiofosfato (DETP) dimetilditiofosfato (DMDTP), dietilditiofosfato (DEDTP); el dimetilfosforotiolato (DMPTh), y el dietilfosforotiolato (DEPTh) son menos frecuentes.

Eliminación.- En términos generales, entre el 75 y el 100% de los organofosforados administrados por vía oral se transforma en compuestos solubles, entre los que se encuentran los alquilfosfatos. La absorción por vía dérmica puede ser más lenta, y como consecuencia, la eliminación prolongarse.

### **2.3.2 Los carbamatos**

Son ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetilcarbámico se emplean como insecticidas, herbicidas, fungicidas y nematicidas. Son menos persistentes que los organoclorados y los organofosforados y de igual manera que estos últimos inhiben a la acetilcolinesterasa (Martínez y Gómez, 2007).

Los carbamatos empleados como insecticidas tienen baja presión de vapor y baja solubilidad en agua, son moderadamente solubles en benceno y tolueno y lo son más en metanol y acetona. La primera etapa de su degradación metabólica en suelos es la hidrólisis (González, 2011).



### Mecanismos de toxicidad por carbamatos

Según los autores Plazas y Olarte (2011) los carbamatos tienen un mecanismo de acción similar a los organofosforados, sin embargo, son dos las características farmacocinéticas que los diferencian:

- a) No sufren el proceso de envejecimiento, por lo cual, la unión entre el tóxico y la colinesterasa es reversible, permitiendo una reactivación espontánea de la enzima después de una variable de tiempo dependiendo del producto.
- b) Los carbamatos no cruzan de forma fácil la barrera hematoencefálica, por lo que los síntomas en el sistema nervioso central son limitados.

### Toxicodinamia y toxicocinética

Los mismos autores mencionan que los carbamatos se absorben bien por vía dérmica, por mucosas, por inhalación e ingesta. Los niveles pico séricos de algunos compuestos son medidos de 30 a 40 minutos después de la ingesta.

Metabolismo: la mayoría de los carbamatos sufren 3 procesos de metabolismo hepático y en la pared intestinal: hidrólisis, hidroxilación y conjugación.

Eliminación: se hace principalmente por la orina, en tres días.

### **2.3.3 Exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa**

La exposición a plaguicidas puede presentarse durante la fabricación, distribución, almacenamiento, mezclado, aplicación, mantenimiento del equipo de fumigación, al ingresar a áreas fumigadas, o durante la eliminación de los envases. El manejo incorrecto de plaguicidas es una de las principales causas de intoxicación a nivel ocupacional y el uso en determinadas condiciones incrementa el riesgo de intoxicación, tales como la aplicación de plaguicidas en climas cálidos o durante horas con más calor (se incrementa la absorción dérmica), al igual que realizar la aspersión a favor del viento o en espacios cerrados (MPS, Bogotá, 2007).

La exposición extrema puede causar malestar de inmediato, exposiciones menores provocan síntomas que no son inmediatamente evidentes. No obstante; con el tiempo, pequeñas y repetidas exposiciones a dichos pesticidas puede reducir los niveles de colinesterasa en las personas. La inhibición de esta enzima debido al contacto con estas familias de pesticidas causan efectos agudos o retardados que van desde envenenamiento leve a severo (Fishel, 2012).

En la tabla 4 se presenta los diferentes síntomas que pueden presentarse a causa de la exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa.

Tabla 4: Síntomas comunes asociados con el envenenamiento por pesticidas carbamatos y organofosforados

| Grado de envenenamiento | Síntomas   |
|-------------------------|--|
| Leve                    | Fatiga, dolor de cabeza, mareo, visión borrosa, sudor y salivación excesiva, náusea/vómito, dolores de estómago, y diarrea.                        |
| Moderado                | Incapacidad para caminar, debilidad, malestar en el pecho, constricción de las pupilas, y síntomas leves que son más severos.                      |
| Severo                  | Pérdida de conciencia, constricción severa de pupilas, calambres musculares, secreción nasal, salivación, problemas respiratorios, coma, y muerte. |

Fuente: Frederick M, Fishel 2012

Las personas intoxicadas pueden tener algunos de estos síntomas dependiendo de la toxicidad del plaguicida, el tiempo de exposición y la vía de ingreso al organismo.

#### **2.3.4 Intoxicación aguda por inhibidores de colinesterasa**

El MPS de Colombia (2007) señala que cuando se presenta una exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa (PIC), pueden identificarse diferentes efectos de acuerdo con la vía y la dosis frente a la cual se presentó la exposición, ya que la severidad de la intoxicación está determinada por la duración y magnitud de la exposición, describiéndose los siguientes síndromes:

- a) Síndrome muscarínico: Originado por la estimulación excesiva de los receptores muscarínicos de los órganos con innervación colinérgica y caracterizado por miosis, bradicardia, broncorrea, bronco constricción, dolor abdominal tipo cólico, diarrea, sialorrea, hipotensión, visión borrosa e incontinencia urinaria.
- b) Síndrome nicotínico: Ocasionado por la acumulación de acetilcolina en los receptores nicotínicos, se caracteriza por la presencia de fasciculaciones musculares, debilidad muscular, midriasis, taquicardia e hipertensión.
- c) Síndrome de compromiso de Sistema nervioso central: Originado por inhibidores de colinesterasa que tienen la propiedad de atravesar la barrera hematoencefálica; se caracteriza por síntomas como ansiedad, agitación, insomnio, cefalea, vértigo, visión borrosa, depresión, temblores y otros síntomas inespecíficos.

#### **Síndrome intermedio**

Este cuadro clínico se presenta después de la aparente recuperación de la intoxicación aguda con organofosforados, se inicia después de la resolución de la crisis colinérgica aguda pero antes del desarrollo de la neuropatía retardada inducida por organofosforados. Se origina por efecto de la acumulación de acetilcolina en los receptores nicotínicos y se caracteriza por el inicio progresivo de debilidad de los músculos proximales de las extremidades, que va comprometiendo los músculos flexores del cuello y, por último, los músculos respiratorios (diafragma, músculos intercostales), llegando a originar falla respiratoria en caso de no instaurar tratamiento oportuno.



### Neuropatía retardada inducida por organofosforados

De acuerdo al MPS de Colombia (2007) la neuropatía periférica puede presentarse días o semanas después de la exposición aguda a organofosforados. En caso de exposición crónica su inicio es incierto (meses e incluso años). Este retraso está relacionado con la dosis del agente tóxico y con su naturaleza química. Algunos OF inducen efectos neurotóxicos retardados después de una sobreexposición aguda, que se manifiesta como una parálisis ascendente de las extremidades inferiores, originada por la degeneración axonal de los nervios motores. Este efecto neurotóxico retardado es independiente de la inhibición de la acetilcolinesterasa y es atribuido a la fosforilación de una estearasa específica del tejido nervioso conocida como *estearasa neurotóxica* (NTE). La exposición crónica a bajas dosis, consideradas seguras en relación con la medición de niveles de actividad colinesterásica, puede originar otros efectos adversos, entre ellos los síntomas de intoxicación y alteraciones neurocomportamentales.

#### **2.3.5. Estudios toxicológicos**

En el año 2005, la Dirección Departamental de Salud del Putumayo-Colombia, reveló la intoxicación causada por plaguicidas en 145 personas. Las mujeres presentaron mayor número de intoxicaciones (56,5%) que los hombres (43,4%) (Varona et al., 2007).

Luzuriaga y Vega (2011) detectaron niveles normales de colinesterasa sérica en el 90.2% de los trabajadores de una plantación de rosas en la provincia del Cañar, mientras que el 9,8% presentaron niveles superiores al límite de normalidad.

Un estudio en el Municipio de Villa de Leyva (Boyacá-Colombia) en trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados en invernaderos donde se cultivaba tomate, señala que el género femenino tiene 2.2 veces mayor riesgo de poseer niveles de colinesterasa anormales (Rodríguez, et al. 2010).

## 2.4. ACETILCOLINA Y COLINESTERASA

### 2.4.1. Acetilcolina

Es un neurotransmisor que se sintetiza a partir de la colina sérica. La acetilcolina está formada por dos componentes acetato y colina, los cuales se unen mediante la acción de la acetilcolina transferasa. Esta reacción tiene lugar en su mayor parte en los terminales nerviosos más que en otras regiones neuronales. Su fórmula química es  $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_3$  (Samaniego, 2011).

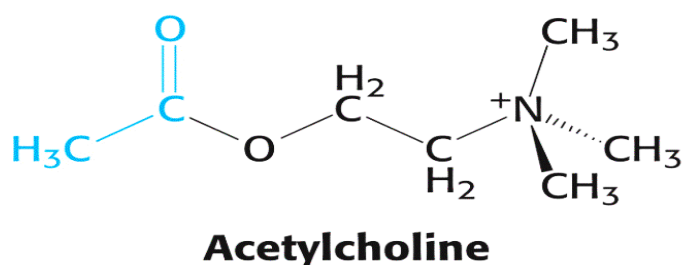


Figura 1: Fórmula estructural de la acetilcolina

La acetilcolina es la sustancia encargada de la transmisión de impulsos nerviosos de las neuronas pre-ganglionares a las post-ganglionares, en los ganglios del sistema nervioso autónomo. A nivel del sistema nervioso parasimpático también media la transmisión entre la neurona postganglionar y el órgano efector, además es el mediador de la transmisión nerviosa de la placa motora terminal (Samaniego, 2011).

#### Funciones de la Acetilcolina

**Funciones Motoras:** Produce contracción muscular similar a la causada por estimulación del nervio motor, disminución del potencial de reposo en el músculo intestinal aislado y aumento en la frecuencia de producción de espigas, acompañado de incremento en la tensión. A pesar de que la innervación colinérgica de los vasos sanguíneos es limitada, los receptores muscarínicos colinérgicos se presentan en los nervios vasoconstrictores simpáticos. El efecto vasodilatador sobre los vasos sanguíneos aislados requiere la presencia de un



endotelio intacto. La activación de los receptores muscarínicos produce liberación de una sustancia vasodilatadora (Samaniego, 2011).

**Funciones Neuroendócrinas:** Aumenta la secreción de vasopresina por estimulación del lóbulo posterior de la hipófisis, también disminuye la secreción de prolactina de la hipófisis posterior.

**Funciones Parasimpáticas:** Interviene en la ingestión de alimentos y en la digestión, en los procesos anabólicos y el reposo físico. Aumenta el flujo sanguíneo, el tono muscular y las secreciones endocrinas gastrointestinales. Disminuye la frecuencia cardíaca.

**Funciones Sensoriales:** Las neuronas colinérgicas cerebrales forman un gran sistema ascendente cuyo origen se halla en el tronco cerebral e inerva amplias áreas de la corteza cerebral y es probablemente idéntico al sistema activador reticular, además de mantener la consciencia parecen intervenir en la transmisión de información visual. La acetilcolina también interviene en la percepción del dolor y la memoria (Samaniego, 2011).

#### **2.4.2 Acetilcolinesterasa**

La acetilcolinesterasa es una enzima esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso del cuerpo humano. Ésta inactiva el químico mensajero acetilcolina, el cual es normalmente activo en las uniones entre nervios y músculos, entre nervios y glándulas, y en las sinapsis entre ciertos nervios en el sistema nervioso central. Cuando los niveles de colinesterasa son bajos por la excesiva inhibición, el sistema nervioso puede funcionar mal (Fishel, 2012).

La acetilcolinesterasa produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente disminución de la transmisión del impulso nervioso. La reacción química producida en este proceso es:

Paso 1: Acetilcolina + enzima (Acetilcolinesterasa) -----> Colina + Acetilcolinesterasa acetilada.

Paso 2: Acetilcolinesterasa acetilada + H<sub>2</sub>O -----> Acetilcolinesterasa + ácido acético.

La colina puede regresar a la membrana presináptica y ser reutilizada en la síntesis de la acetilcolina (Henao y Nieto).

En la fig. 2 se puede observar una representación de la transmisión nerviosa en la sinapsis colinérgica.

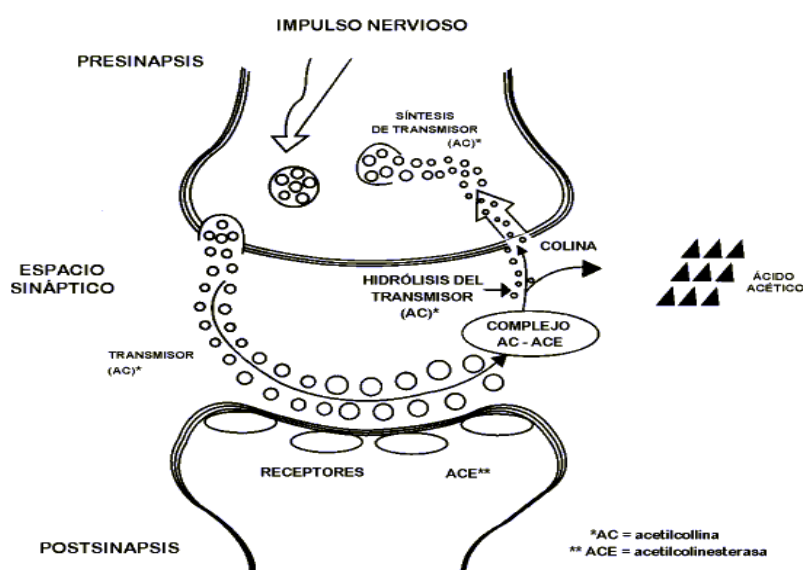


Figura 2: Transmisión del impulso nervioso en la sinapsis colinérgica

De acuerdo a Ibarra y Linares (2012) el grupo de las enzimas llamadas colinesterasas se dividen en dos subgrupos:

- La acetilcolinesterasa (ACE) también llamada *colinesterasa verdadera*, es una enzima esencial con un alto grado de especificidad en cuanto al sustrato, y que está presente unida a estructuras celulares en las regiones de las sinapsis colinérgicas, la sustancia gris del sistema nervioso central, los ganglios autonómicos, las sinapsis simpáticas pre y postganglionar y las terminaciones motoras de los músculos, así como en las sinapsis postganglionar parasimpáticas y los eritrocitos. Esta enzima tiene la función fisiológica de desdoblar rápidamente la acetilcolina neurotransmisora (AC) en colina y ácido acético, inactivándola de esta manera.



- b) Las colinesterasas (CE), conocidas también como colinesterasas no específicas (pseudocolinesterasas, colinesterasas plasmáticas o séricas, butirilcolinesterasas), que forman un grupo de isoenzimas. Son menos específicas y están presentes en todo el organismo, se desconoce a ciencia cierta su función fisiológica. Una de sus funciones es la detoxificación de fosfatos y carbamatos.

No existen diferencias entre los mecanismos de reacción enzimática de la acetilcolinesterasa y de la colinesterasa. La inhibición puede ser reversible o irreversible, dependiendo de la reactivación que se produzca de la enzima. La acetilcolinesterasa se inhibe por una gran variedad de sustancias, incluyendo los fármacos cuya acción se basa precisamente en la inhibición reversible de la ACE, y aquellos otros en que la inhibición reversible es un efecto secundario a su acción farmacológica real. Inhibidores irreversibles clásicos de estas enzimas son los fosfatos orgánicos (Ibarra y Linares, 2012).

Los inhibidores de las colinesterasas se agrupan de acuerdo con su mecanismo de acción, de la siguiente forma:

1. Inhibidores prostéticos: Se incluyen en este grupo los compuestos que producen un efecto competitivo reversible, por ejemplo, la neostigmina.
2. Inhibidores oxidapóricos: Con efectos reversibles o irreversibles:
  - a) Carbamatos: Como los insecticidas (carbaril, isolán). Los síntomas de la intoxicación por carbamatos son similares a los de la intoxicación por alquilfosfatos, pero la primera se apacigua rápidamente.
  - b) Fosfatos orgánicos (alquilfosfatos): Son ésteres o amidas de los ácidos fosfóricos, tiofosfórico, fosfónico o fosfínico. En este grupo están los insecticidas (paratión, bromofós, demetón, diclorvos, dimetoato). Las diferencias de toxicidad de los fosfatos se deben principalmente al hecho de que algunos ésteres se metabolizan más rápidamente en animales de sangre caliente, pero mucho menos en insectos. Algunos alquilfosfatos pueden sólo reaccionar con las colinesterasas después de metabolizarse (inhibición indirecta).



- c) Ésteres orgánicos del ácido sulfúrico (alquilsulfatos) y sulfonatos: Existe poca experiencia práctica con estos compuestos.

La inhibición de la acetilcolinesterasa tiene importancia fisiológica, por cuanto ocasiona acumulación de acetilcolina, la misma que actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso autonómico y en las terminaciones motoras. La acetilcolina libre afecta el potencial eléctrico de los nervios debido a cambios en la permeabilidad de las membranas de las terminaciones nerviosas para los iones de sodio y potasio. Si la acetilcolina liberada no puede ser desdoblada y desactivada rápidamente por la ACE, se produce el espasmo y eventualmente parálisis de la musculatura estriada y fallo respiratorio. Por otra parte las colinesterasas (CE) no específicas, también pueden desdoblar e inactivar a la acetilcolina y, al no hacerlo por estar inhibidas, se produce también, acumulación de acetilcolina con sus respectivos efectos negativos en el organismo (Ibarra y Linares, 2012).

## **2.5. BIOMARCADORES PARA POBLACIONES EXPUESTAS A PLAGUICIDAS**

Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos medibles que se producen en un sistema biológico y se interpretan como reflejo o marcador de la exposición a un agente tóxico. Los biomarcadores suelen utilizarse como indicadores del estado de salud o del riesgo a enfermedades de los seres humanos (Martínez y Gómez, 2007).

La exposición de la población que habita el área afectada se evalúa mediante el monitoreo biológico de tejidos humanos y fluidos corporales, para detectar efectos biológicos de los plaguicidas antes de que causen efectos adversos en la salud desde un punto de vista clínico se emplean los biomarcadores. Uno de los más empleados para detectar la exposición a insecticidas organofosforados y el riesgo de sufrir una intoxicación es el nivel de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (Gentile et al, 2003).



### 2.5.1. Determinación de actividad colinesterásica

Se puede considerar como biomarcador de exposición o de efecto, la inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa en eritrocitos, de la actividad de la pseudocolinesterasa (butirilcolinesterasa) o de colinesterasas totales. (Hurtado y Gutiérrez., 2005).

La acetilcolinesterasa (ACE) se encuentra en el tejido nervioso y hematíes, mientras que la butirilcolinesterasa es una CE que se encuentra en el plasma, hígado, corazón y otros tejidos. Aunque frecuentemente los órgano-fosforados y carbamatos ejercen su efecto inhibitorio sobre la ACE en las terminaciones nerviosas, clínicamente se monitorea la colinesterasa plasmática debido a que su concentración es mucho mayor y los cambios en su nivel son fácilmente detectables por las técnicas de laboratorio (Pineda, 2007).

### 2.5.2. Métodos para determinar los niveles de colinesterasa

Según Pineda (2007) existe una variada gama de reacciones químicas para realizar la determinación del nivel de colinesterasa en un individuo:

Método de Lovibond: También llamado método de Edson que utiliza una muestra obtenida de un sujeto control supuestamente normal como patrón, su resultado se expresa en porcentaje de actividad en relación a lo observado en el control. Además, requiere que el paciente analizado posea un hematocrito normal y no presente patología hepática evidente, lo que lo hace un método con demasiadas variables analíticas involucradas.

Método pH Stat: Es un método de titulación, siendo la actividad de la colinesterasa proporcional al consumo de NaOH. Su resultado se expresa en  $\mu\text{moles de NaOH} / \text{minuto} / \text{ml}$ .

Método de la Butirilcolina: La reacción química empleada es sencilla, la colinesterasa plasmática presente en la muestra del individuo analizado reacciona con el sustrato presente en el reactivo, que en este caso corresponde a butirilcolina, que es hidrolizada a tiocolina, ésta tiocolina reduce otro reactivo



incluido en la determinación. Este proceso es monitorizado mediante espectrofotometría a 400 nm y 37° C.

La Organización Mundial de la Salud recomienda el método descrito originalmente por Ellman et al. en 1961, que consiste en una determinación espectrofotométrica basada en la hidrólisis de la acetilcolina y la medición fotométrica del compuesto formado por el tiol correspondiente y disolución reactiva de DTNB [ácido 5,5'-Ditiobis (2-nitrobenzoico)], reactivo de Ellman (Ibarra y Linares, 2012).

## **2.6. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR AGROQUÍMICOS**

La aplicación directa de los plaguicidas sobre el suelo puede producir su contaminación, y la acumulación del producto dependerá en gran medida del tipo de suelo. En general los arcillosos retienen mayor cantidad de residuos que los arenosos. El riesgo de contaminación del suelo también depende de la permanencia del producto aplicado, la mayoría de los insecticidas organofosforados y carbamatos sufren una rápida degradación (ocasionada por los microbios del suelo), y sus residuos desaparecen en un plazo más o menos corto (Ortiz et al, 2003).

La Agencia para la Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) han concluido que la agricultura, con su alta demanda de agua para riego, fertilizantes, plaguicidas y otros agroquímicos son la causa del deterioro del agua (Pérez, 2012).

Torres y Capote (2004) mencionan que la contaminación ambiental constituye un problema grave a nivel mundial por las repercusiones que ésta tiene. Es por ello que se deben hacer esfuerzos para perfeccionar las técnicas que permitan mejorar la detección de agentes contaminantes y monitorear constantemente los ecosistemas sujetos a impactos ambientales severos, con el fin de tomar las medidas preventivas.

### 2.6.1. Ruta de los plaguicidas en el ambiente

Solamente un 0.1% de la cantidad de plaguicidas aplicados llega a la plaga, mientras que el restante circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente el suelo, agua y la biota, por lo tanto se hace necesario caracterizar el destino final y la toxicidad no prevista de estos plaguicidas para evaluar con certeza el riesgo asociado a su uso (Torres y Capote, 2004)

Yanggen, et al. (2003) hace referencia que después de la aplicación del plaguicida, parte del producto se deposita en el follaje del cultivo y el resto cae al suelo. Posteriormente, los plaguicidas pueden ser acarreados o lavados por la lluvia y desde la superficie del suelo pueden infiltrarse al subsuelo (lixiviación) o también pueden ser arrastrados lateralmente por escorrentía superficial. Finalmente, la escorrentía superficial puede infiltrarse en otras partes o contaminar directamente las aguas superficiales.

Una parte del plaguicida depositado en el follaje o en el suelo puede volatilizarse directamente después de su aplicación y ser transportado por el viento, durante el proceso de transporte este puede degradarse en productos de transformación secundarios. Una fracción de los plaguicidas depositados en las hojas y en el suelo estará sujeta a la degradación fotoquímica por acción de la luz solar. La fracción que llega al suelo depende de las características fisicoquímicas del plaguicida, de la persistencia, de la forma de aplicación y de las condiciones meteorológicas reinantes. Ya en el interior del suelo se biodegradarán como resultado de la actividad biótica de los microorganismos (bacterias, hongos) o abiótica (interacción con arcillas y óxidos metálicos presentes en el suelo).

En la figura 3 se observa los diferentes fenómenos como resultado del transporte y distribución de los plaguicidas en el medio ambiente.

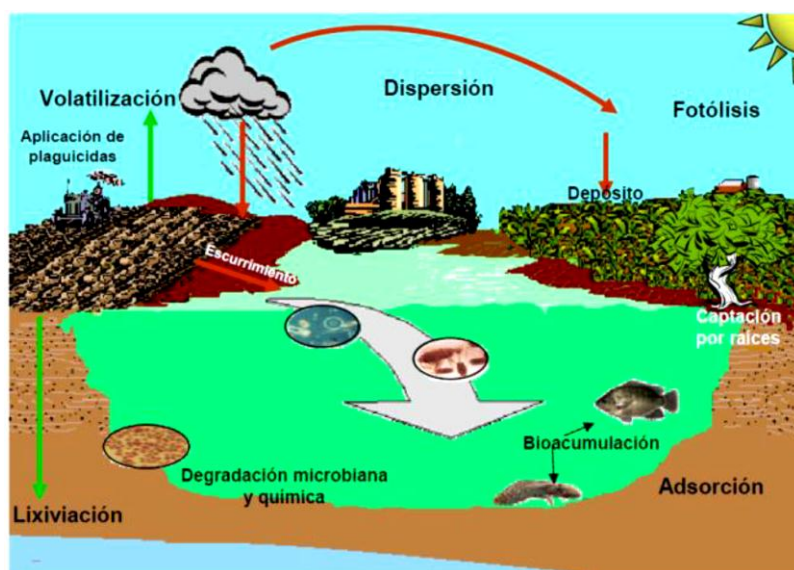


Figura 3: Contaminación del ambiente por el uso de plaguicidas (Jáquez, et al 2013)

En esta figura se observa los posibles mecanismos de transporte y transformación de los plaguicidas en el ambiente, donde la fuente de contaminación es el uso de estos químicos por aspersión y por disolución directa en la tierra de cultivo.

### 2.6.2. Factores que influyen en el destino de los contaminantes y en el transporte ambiental

De acuerdo a Jáquez, et al (2013) existen muchos factores que pueden influenciar en el transporte de los contaminantes:

- Volatilización: Tendencia del plaguicida a pasar a la fase gaseosa, se mide a partir de la constante de Henry que depende de la presión de vapor en estado líquido y de la solubilidad en agua. Un plaguicida con presión de vapor mayor a 10.6 mm Hg puede fácilmente volatilizarse y tiende a alejarse del lugar donde se aplicó. Un valor alto de la constante de la Ley de Henry, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo, un valor bajo predice un mayor potencial de lixiviación del plaguicida.
- Persistencia: Si la vida media y la persistencia de un plaguicida son mayores a la frecuencia con la que se aplican, los plaguicidas tienden a acumularse tanto en los suelos como en la biota y con el tiempo, la

mayoría de los plaguicidas sufren una degradación como resultado de reacciones químicas y microbiológicas en suelo o agua.

- Descomposición de los plaguicidas en el ambiente: Depende de la temperatura, el pH del suelo, los microorganismos presentes en el suelo, clima, exposición del plaguicida a la luz, agua y oxígeno. Existen diferentes tipos de vida media de un plaguicida:
- Solubilidad en Agua: Los plaguicidas muy solubles se adsorben con baja afinidad a los suelos y por lo tanto, son fácilmente transportados del lugar de la aplicación por una fuerte lluvia, riego o escurrimiento, hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea.
- Coeficiente de adsorción de carbono orgánico ( $K_{oc}$ ): Es una medida de la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido (retenido) por los suelos o sedimentos. Un  $K_{oc}$  elevado indica que el plaguicida orgánico se fija con firmeza en la materia orgánica del suelo, por lo que poca cantidad del compuesto se mueve a las aguas superficiales o a los acuíferos.
- Coeficiente de Partición Octanol/Agua ( $K_{ow}$ ): Proporciona un valor de la polaridad de un plaguicida, que es frecuentemente utilizado en modelos para determinar cómo un plaguicida puede distribuirse en tejido de grasa animal. Los plaguicidas con una vida media y un  $K_{ow}$  altos pueden acumularse en tejido graso y bioacumularse a lo largo de la cadena alimenticia.

### 2.6.3. Contaminación del agua por plaguicidas

La contaminación de las aguas por plaguicidas puede darse por diferentes vías, entre ellas están: aplicación directa, arrastre del plaguicida por el agua lluvia, fumigación aérea cerca de los cursos de agua, precipitación de lluvias que llevan partículas suspendidas y por los vertimientos industriales. Por lo general los plaguicidas se aplican de una manera difusa, su paso al agua se realiza con una dilución importante dando concentraciones finales bajas, salvo en el caso de vertidos accidentales, aplicaciones directas del plaguicida sobre el agua, y en algunos casos, por efectos acumulativos de la concentración de los productos. De esta forma se puede señalar que el arrastre de los plaguicidas hacia el agua



depende de factores como: el tiempo entre la aplicación y la primera lluvia o riego que produzca arrastre, la intensidad de la lluvia, distancia entre las áreas tratadas y las aguas superficiales o subterráneas, cantidad de plaguicidas y método de aplicación, solubilidad en el agua, cobertura vegetal y contenido de humedad del suelo (Niño, 2010).

Existe un interés especial para la preservación de la calidad del agua superficial, para ello se han establecido normas que determinan su uso; como agua para consumo humano, uso agrícola y otros. La presencia en el medio acuático de sustancias químicas, en concentraciones que exceden los límites fijados para un uso determinado, pueden hacer que el agua no sea aceptable (CEPIS 2001).

Según Ongley (1997) los efectos de los plaguicidas en la calidad del agua están asociados a los siguientes factores:

- Ingrediente activo en la formulación de los plaguicidas.
- Contaminantes que existen como impurezas en el ingrediente activo.
- Aditivos que se mezclan con el ingrediente activo (humectantes, diluyentes o solventes conservantes, etc.)
- Producto degradado que se forma durante la degradación química, microbiana o fotoquímica del ingrediente activo.

Determinar los niveles de plaguicidas presentes en aguas superficiales y subterráneas se ha convertido en un tema de interés social debido a su posible impacto ambiental. Ello genera la necesidad de metodologías analíticas capaces de determinar plaguicidas a niveles trazas con un nivel de fiabilidad aceptable (Martínez et al, 2004).

#### **2.6.4 Residuos de plaguicidas**

Ortiz, et al (2003) manifiesta que el código alimentario de la FAO/OMS, considera residuo de plaguicida a cualquier sustancia presente en un producto alimentario destinado al consumo humano o animal, como consecuencia de la utilización de un plaguicida, productos resultantes de la degradación, así como las impurezas



que pueden provocar *toxicidad* por sí mismas. La cantidad de residuos de un plaguicida se expresa en partes por millón (ppm) o en miligramos por kilogramo de producto (mg/Kg).

### Límite máximo para residuos de plaguicidas (LMR's)

El límite máximo de residuos (LMR's) es la concentración máxima de residuos de un plaguicida sobre determinado producto agrícola permitida por la ley. Es decir, la cantidad que no puede ser sobrepasada para que el producto pueda ser puesto en circulación o comercializado. Los LMR varían de un producto alimentario a otro, de un plaguicida a otro y de un país a otro (De Romedi, et al. 2011).

### Métodos analíticos para determinar residuos de plaguicidas

De acuerdo a Hernández y Beltrán (1995) para determinar residuos de plaguicidas se puede recurrir a los siguientes métodos analíticos:

Métodos multi-residuales (MMR).- Permiten la identificación y cuantificación de varios plaguicidas, así como de algunos metabolitos simultáneamente, se utilizan principalmente, para la inspección de alimentos y en programas de control de residuos.

Métodos específicos.- Son métodos diseñados especialmente para analizar un plaguicida, y en ocasiones, también sus metabolitos o productos de degradación. Aunque son menos eficaces, resultan necesarios para el análisis de plaguicidas que no pueden ser determinados por MMR.

Métodos semicuantitativos y cualitativos.- Estos métodos indican el rango de concentración del plaguicida en la muestra, mientras que los cualitativos únicamente muestran si existe o no un plaguicida por encima de una concentración determinada, lo cual viene determinado por la sensibilidad del método.

## 2.7. RIESGO AMBIENTAL

El riesgo es la probabilidad de que ocurra un efecto adverso como resultado de la exposición a contaminantes. Para que exista riesgo deben conjugarse el peligro y la exposición a dicho peligro. Los individuos o grupos de individuos expuestos se denominan receptores y pueden ser humanos, animales y plantas, ecosistemas o receptores ambientales (MINAM- Perú, 2011)

El análisis de riesgos es una técnica multidisciplinaria que utiliza conceptos desarrollados en varias ciencias en las que se incluyen a la toxicología, epidemiología, psicología, seguridad ocupacional, seguridad industrial, estadística entre otras. El análisis de riesgo sirve para identificar y evaluar los problemas ambientales y de salud producidos por la realización de actividades peligrosas y el manejo de sustancias tóxicas (Delgadillo, 2008).

El objetivo del “análisis del riesgo ambiental” es proteger tanto la salud humana como el ambiente de los peligros que puede acarrear la exposición a los contaminantes en el medio ambiente con base en la prevención y reducción de riesgos. Se requiere identificar el “peligro” el cual es la capacidad de una sustancia, para producir efectos adversos en los organismos. Además se debe considerar la “exposición” como la situación de contacto efectivo con la sustancia, teniendo en cuenta la concentración y tiempo de exposición.

Por lo tanto  $\text{Riesgo} = f(\text{peligro} \times \text{exposición})$ .

El “riesgo” determina la probabilidad de que, en una situación dada, una sustancia, elemento o compuesto peligroso produzca un daño.

En base a lo indicado, se pueden realizar los siguientes análisis:

- Los plaguicidas químicos de uso agrícola son peligrosos porque poseen características inherentes o intrínsecas que les confieren la capacidad de ejercer efectos tóxicos.
- Los efectos tóxicos son dosis dependientes.
- Todos los plaguicidas químicos de uso agrícola tienen unos niveles de dosis seguras a los cuales los organismos no presentan efectos tóxicos.



- Para que exista un riesgo es necesario que se esté expuesto a un producto químico de uso agrícola de tal manera que ese producto alcance a entrar en la cantidad y concentración suficiente para producir efectos nocivos.
- El riesgo puede ser tratado a efecto de minimizarlo o reducirlo, mientras que el peligro será intrínseco al producto químico de uso agrícola (Guía para la gestión ambiental responsable de los plaguicidas de Colombia, 2003).

### 2.7.1. Evaluación del riesgo ambiental (ERA)

La evaluación es el proceso mediante el cual se determina si existe una amenaza potencial que comprometa la calidad del agua, aire o suelo, poniendo en peligro la salud del ser humano como consecuencia de la exposición a los productos tóxicos presentes en un sitio, incluyendo aquellos compuestos tóxicos que resultan de actividades industriales u otra fuente de contaminación (MINAM- Perú, 2011).

Delgadillo (2008) revela que la evaluación de riesgo ambiental busca contestar preguntas como: ¿Existe un riesgo por exposición a una sustancia química? ¿Quién puede estar más afectado por el riesgo?. Su evaluación consiste en la recolección de datos específicos para relacionar una respuesta a una dosis.

Según Guaitero (2010) se requiere una evaluación de riesgo ambiental, dentro del proceso de evaluación riesgo/beneficio de un plaguicida como sustento en la toma de decisiones. Si consideramos el proceso desarrollado por la EPA (1998), la evaluación de riesgo ambiental por la aplicación de plaguicidas en sistemas agrícolas se divide en 3 fases: formulación del problema, evaluación del riesgo y caracterización del riesgo.

#### 1.- Formulación del problema

En esta fase se determinarán los objetivos de la evaluación, se diseñará el esquema de trabajo y la caracterización del riesgo. Para ello se debe integrar la información disponible sobre los posibles efectos adversos en humanos o



ecosistema; de acuerdo a las características de los plaguicidas usados, factores de aplicación, exposición al plaguicida y cultivo.

## 2.- Evaluación del riesgo

Es la identificación de los efectos adversos que una sustancia química puede causar. Involucra la recopilación y valoración de la información sobre los efectos en la salud o ambiente y las condiciones de exposición bajo las cuales se produciría daño, enfermedades o cualquier otro efecto adverso. Durante esta fase, los datos son evaluados para determinar la exposición a un plaguicida, valoración de la exposición y la valoración de los efectos ecológicos (Guaiteiro, 2010).

Los resultados de la valoración son estimaciones o predicciones, que involucra la determinación de las emisiones, las rutas y tasas de movimiento de una sustancia y de su transformación o degradación, con la finalidad de obtener valores de concentraciones o dosis del compuesto a los cuales pueden estar expuestas poblaciones humanas o los diferentes compartimentos del ambiente. La *valoración de la exposición* puede estimarse para exposiciones pasadas, presentes, o anticipar futuras exposiciones. A su vez la *valoración de los efectos* es la determinación de la dosis de respuesta; esto es, las relaciones entre la dosis y el grado de exposición a una sustancia, incidencia y severidad de los efectos ocasionados (Guaiteiro, 2010).

## 3.- Caracterización del riesgo

Es la integración de las fases anteriores, para estimar la incidencia y severidad de los efectos adversos sobre una población humana o diferentes compartimentos del ambiente, debido a una exposición actual o futura a un compuesto químico (EPA, 1998). Es decir, es el proceso de comparar los resultados de la valoración de la exposición, con los datos de los efectos ecológicos adversos y, establecer la posibilidad de ocurrencia de estos efectos.

### 2.7.2. Evaluación del transporte y destino de los plaguicidas

De acuerdo a Manning (1997) en el proceso de evaluación del transporte, transformación y destino de las sustancias en el ambiente, es importante considerar las características físicas y químicas de dichas sustancias. El uso de estos parámetros favorece el desarrollo de un plan de muestreo ambiental, para determinar las concentraciones del plaguicida en los diferentes medios de destino en los cuales se desplaza. Existe la posibilidad de una transformación química y un plaguicida puede convertirse en un producto tóxico diferente al original o dar lugar a varios componentes tóxicos.

#### Evaluación de parámetros físicos y químicos

1. Presión de vapor.- Es la medida relativa de volatilidad de una sustancia en su estado puro. Se utiliza la constante de la Ley de Henry (coeficiente de reparto aire-agua). Margen: entre  $10^{-5}$  y 300 mm Hg para la mayoría de los líquidos a temperatura ambiente.

Constante de la ley de Henry:

$$H = \frac{\text{Presión de vapor (ATM)} \times \text{Peso molecular (g/mole)}}{\text{Solubilidad en agua (g/m}^3\text{)}}$$

$H > 10^{-3}$  Volatilización rápida

$H = 10^{-3}$  a  $10^{-5}$  Menos volátil

$H < 10^{-5}$  Volatilización lenta

2. Solubilidad en el agua.- Es la máxima cantidad de la sustancia que se disolverá en agua pura a una temperatura específica. Margen: de 0,001 a 100000 ppm para sustancias orgánicas comunes a temperatura ambiente.

Las sustancias químicas que tienen alta solubilidad presentan algunas características:

- Rápida distribución en el ciclo hidrológico

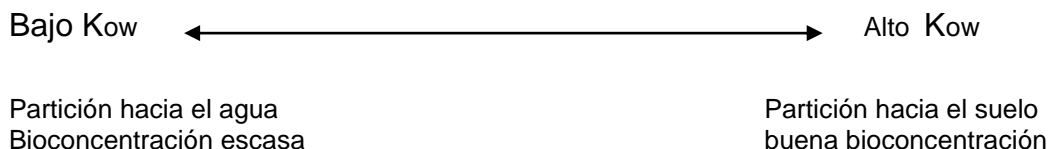


- Coeficientes pequeños de adsorción
- Factor de bioconcentración pequeño
- Más degradable
- Volatilización más lenta

3. El  $K_{ow}$ .- Coeficiente octanol/agua representa la relación entre la concentración de la fase de n-octanol y la fase acuosa en equilibrio. Es una medida de la hidrofobicidad, o afinidad hacia los lípidos, de una sustancia disuelta en agua. Los compuestos químicos con valores altos de  $K_{ow}$  tienden a concentrarse en suelos y sedimentos, por el contrario los que tienen valores bajos de  $K_{ow}$  tienden a distribuirse en el agua o aire.

$$\text{El } K_{ow}: \quad K_{ow} = \frac{\text{Concentración en la fase de octanol}}{\text{Concentración en la fase acuosa}}$$

$$\text{Margen de } K_{ow} = 10^{-3} \text{ a } 10^7$$



4. El  $K_{oc}$ .- Coeficiente de adsorción de carbono orgánico, es una medida de adsorción relativa potencial para sustancias orgánicas, medida independientemente de las propiedades del suelo.

$$K_{oc} = \frac{\text{ug adsorbido/g carbón orgánico}}{\text{Ug/ml de solución}}$$

$$\text{Margen: } 1 \text{ a } 10^8$$

5. El  $K_d$ .- Coeficiente de distribución suelo-agua y es similar al  $K_{oc}$ , excepto que depende tanto de las propiedades de la sustancia como de las del suelo.

$$K_d = \frac{\text{ug de contaminante adsorbido /g volumen de tierra}}{\text{Ug de contaminante/ml de solución}}$$



6. Factor de bioconcentración (FBC).- Es la medida de la tendencia con que un contaminante químico presente en el agua se acumula en el tejido de los peces. Margen: de 1 a  $10^6$

$$\text{FBC} = \frac{\text{concentración de la sustancia en equilibrio en el organismo (peso húmedo)}}{\text{Concentración promedio de la sustancia en el agua}}$$

El conocimiento de las características químicas y físicas del plaguicida, factores meteorológicos, geológico, hidrológico y biológico del lugar, permiten construir esquemas que muestran las probables rutas ambientales del plaguicida bajo estudio y la exposición potencial de la población humana a esta sustancia (Manring, 1997).

## **2.8. MODELOS PARA PREDECIR LA DISTRIBUCIÓN Y EL DESTINO DE LOS PLAGUICIDAS EN EL AMBIENTE**

Bruno, A (2003) explica que la cantidad total de pérdida de plaguicida desde las áreas tratadas hacia las aguas superficiales depende de varios factores que incluyen las características del suelo, topografía, clima y prácticas de manejo agronómico, además de las propiedades químicas y ambientales de los principios activos. Entre las propiedades del plaguicida que afectan directamente el potencial de transporte hacia las aguas superficiales se encuentran la velocidad de degradación del plaguicida en el suelo, la solubilidad en agua y la adsorción a la materia orgánica del suelo.

### **Modelos de Fugacidad**

Con la aplicación del modelo de fugacidad, se puede conocer el comportamiento que tendrá una sustancia que se incorpora al ambiente, en particular los procesos que sufrirá la sustancia y en qué compartimientos ambientales se encontrarán las mayores concentraciones de la misma. Estos modelos son usados para identificar el comportamiento estático y dinámico en el ambiente.



### El modelo SoilFug

Fue desarrollado por Antonio Di Guardo en la Universidad de Milán Italia. Se lo utiliza para predecir la concentración media de plaguicidas en corrientes de agua y en el suelo después de eventos de lluvia en determinados escenarios. Este modelo se caracteriza por presentar dos tipos de cálculos: el primero antes de un evento de lluvia, en el cual sólo se considera la degradación y la volatilización del químico; y el segundo, durante el evento de lluvia y se calcula la degradación, volatilización, el escurrimiento y la redistribución entre las fases.

El modelo también utiliza parámetros del suelo, información meteorológica (temperatura y precipitación agrupada en eventos de lluvia), balance hídrico (real o estimado), propiedades físico-químicas de los compuestos (peso molecular, solubilidad, presión de vapor, coeficiente de partición y de carbono orgánico) y condiciones de aplicación (Bruno, 2003).

## **2.9. PRINCIPALES MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE TOXICOS EN MATRICES AMBIENTALES**

### **2.9.1. Monitorización ambiental**

Es un proceso de evaluación de la contaminación del ambiente, realizado mediante la identificación y medición cuantitativa de los plaguicidas en muestras de alimentos, agua, aire y suelo. La monitorización de plaguicidas en el agua es fundamental para la población ya que representan sus principales fuentes de exposición, mientras que en el ámbito laboral el elemento básico de análisis es el aire de la zona de trabajo. En la recolección de muestras debe seguirse un protocolo que garantice su calidad para un adecuado procesamiento en el laboratorio. Por la multiplicidad de agentes contaminantes y la frecuente carencia de información sobre el uso de plaguicidas en los lugares de estudio, se utilizan métodos de laboratorio llamados «multiresiduos», que determinan de forma selectiva y simultánea concentraciones de compuestos de diversas familias químicas con efectividad. Se han desarrollado y estandarizado una variedad de



métodos y técnicas, que van desde la cromatografía hasta la ionización química (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Además los niveles de detección analítica en el monitoreo de algunos plaguicidas, pueden ser demasiado elevados para determinar la presencia o ausencia de los mismos. Los valores ND (No detectables) no prueba que el producto químico no esté presente en concentraciones que puedan ser nocivas para la vida acuática y salud humana (Ongley, 1997).

### **2.9.2. La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)**

La HPLC es el método cromatográfico instrumental más versátil, pues la amplia gama de fases estacionarias (líquidas o sólidas) y móviles líquidas permiten emplear mecanismos para separar compuestos de cualquier naturaleza (Bravo, 2012).

#### Instrumentación básica para HPLC.

Según Bravo (2012) las partes o módulos más importantes de un cromatógrafo líquido de alta eficiencia son: recipientes contenedores de los disolventes puros a emplear como fases móviles, filtros de línea y tuberías conductoras, degasificador en línea, bombas, Inyector, columna cromatográfica, detector, colector de desecho, registrador, integrador o computadora con software, interfase y la impresora. La separación de las sustancias se produce en la columna cromatográfica. Existen diferentes tipos según el objetivo del trabajo (columnas para carbohidratos, plaguicidas, hormonas, etc.).

Recientes avances han permitido la evolución de la técnica, como el desarrollo de la cromatografía de líquidos de ultra presión (UHPLC, *ultra-high pressure liquid chromatography*). La UHPLC utiliza columnas cortas rellenas de partículas con un diámetro inferior a 2  $\mu\text{m}$ . Esta reducción del diámetro de la partícula permite trabajar a altas velocidades lineales de flujo dando lugar a una mayor resolución cromatográfica, una reducción del tiempo de análisis y un incremento de la señal. Además, después de llevar a cabo un análisis cromatográfico, los tiempos de



equilibrio de las columnas de UHPLC se reducen considerablemente en comparación con las columnas de LC, lo que permite aumentar y mejorar el rendimiento del laboratorio (Gómez, 2011).

### **2.9.3. Espectrometría de masas**

Actualmente el uso de técnicas cromatográficas acopladas a sistemas de espectrometría de masas (MS) en el análisis de contaminantes a niveles traza está ampliamente implantado, permitiendo detectar componentes individuales en mezclas complejas, proporcionando información cualitativa y cuantitativa de gran calidad. La (MS) es una herramienta poderosa en la cuantificación- confirmación de contaminantes dada su alta sensibilidad y selectividad. El uso de detectores clásicos como FLD o UV requiere realizar un segundo análisis utilizando una columna diferente o bien, utilizando un detector diferente como el de MS para la adecuada confirmación de un positivo con el consiguiente aumento de tiempo. Sin embargo, el empleo de la MS permite la confirmación simultánea de los positivos. La MS permite la generación de iones en fase gaseosa, además de su separación y detección, proporcionando información de la masa molecular del compuesto analizado, así como información estructural del mismo (Gómez, 2011).

### **2.10. MARCO LEGAL:**

Es conveniente referir la normativa que está vigente, para ello se requiere revisar las Leyes, Reglamentos y Normas que están relacionadas con la seguridad alimentaria, calidad ambiental y el uso de plaguicidas agrícolas.

#### **La Constitución Política de la República del Ecuador**

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.



Art. 411.- El Estado garantizará la conservación, recuperación y manejo integral de los recursos hídricos, cuencas hidrográficas y caudales ecológicos asociados al ciclo hidrológico. Se regulará toda actividad que pueda afectar la calidad y cantidad de agua, y el equilibrio de los ecosistemas, en especial en las fuentes y zonas de recarga de agua. La sustentabilidad de los ecosistemas y el consumo humano serán prioritarios en el uso y aprovechamiento del agua.

### **La Ley Orgánica de la Salud**

Art. 6.- Este artículo define la responsabilidad del Ministerio de Salud Pública:

Literal 15. Regular, planificar, ejecutar, vigilar e informar a la población sobre actividades de salud concernientes a la calidad del agua, aire y suelo; y, promocionar espacios y ambientes saludables, en coordinación con los organismos seccionales y otros competentes.

Literal 16. Regular y vigilar, en coordinación con otros organismos competentes, las normas de seguridad y condiciones ambientales en las que desarrollan sus actividades los trabajadores, para la prevención y control de las enfermedades ocupacionales y reducir al mínimo los riesgos y accidentes del trabajo.

El artículo 96 “Toda persona natural o jurídica tiene la obligación de proteger los acuíferos, las fuentes y cuencas hidrográficas que sirvan para el abastecimiento de agua para consumo humano. Se prohíbe realizar actividades de cualquier tipo, que pongan en riesgo de contaminación las fuentes de captación de agua. La Autoridad sanitaria nacional, en coordinación con otros organismos competentes, tomarán medidas para prevenir, controlar, mitigar, remediar y sancionar la contaminación de las fuentes de agua para consumo humano”.

**Ministerio de Agricultura y Ganadería.** Decreto 3609. Texto Unificado de Legislación Secundaria:

Art. 28.- Los plaguicidas extremada y altamente tóxicos solo podrán expendirse en establecimientos que dispongan de las medidas de seguridad. Únicamente se



expendarán éstos, para los fines indicados en su registro con las restricciones señaladas, debiendo cumplir además con la Norma INEN.

Art. 38.- Para el empleo de plaguicidas deberán usarse equipos en perfecto estado de funcionamiento, de modo que no presten riesgos para la salud del operario y eviten fugas que puedan causar daño a la comunidad o al ambiente.

### **Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad (AGROCALIDAD)**

Mediante Acuerdos y Resoluciones prohíbe la comercialización de los plaguicidas considerados nocivos para la salud

### **Ministerio del Ambiente**

Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso agua, Libro VI, Anexo 1, dictada bajo el amparo de la Ley de Gestión Ambiental y del Reglamento a la Ley de Gestión Ambiental para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental. El objetivo principal de la presente Norma es proteger la calidad del recurso agua para salvaguardar y preservar la integridad de las personas, de los ecosistemas y sus interrelaciones y del ambiente en general.

En la tabla 5 se indican los límites máximos permisibles (LMp), de algunas sustancias químicas, según la “Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua” establecida por el Ministerio del Ambiente.

Tabla 5: Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico que requieran desinfección

| Parámetros                    | Expresado Como  | Unidad | Límite Máximo Permissible |
|-------------------------------|---|--------|---------------------------|
| Plata (total)                 | Ag  | mg/l*  | 0,05                      |
| Plomo (total)                 | Pb  | mg/l   | 0,05                      |
| Potencial de Hidrógeno        | pH  |        | 6-9                       |
| Sodio                         | Na  | mg/l   | 200                       |
| Sulfatos                      | SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>                            | mg/l   | 250                       |
| Pesticidas y Herbicidas       |   |        |                           |
| Organoclorados totales        | Concentración de organoclorados totales                 | mg/l   | 0,01                      |
| Organofosforados y carbamatos | Concentración de organofosforados y carbamatos totales. | mg/l   | 0,1                       |
| Toxafeno                      |   | µg/l** | 0,01                      |

\* Miligramo por litro.

\*\* Microgramo por litro.

Los límites máximos permisibles para carbamatos y organofosforados totales en agua para consumo humano que requiere desinfección son 0,1 mg/l, mientras que para los organoclorados es de 0,01 mg/l.

Los parámetros para el agua destinada para riego, se especifican en la tabla 6 según la misma Norma

Tabla 6: Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola

| Parámetros                 | Expresado como                             | Unidad | Límite máximo permisible * |
|----------------------------|--|--------|----------------------------|
| Arsénico (total)           | As   | mg/l   | 0,1                        |
| Bario                      | Ba   | mg/l   | 1,0                        |
| Boro (total)               | B  | mg/l   | 1,0                        |
| Carbamatos totales         | Concentración total de carbamatos          | mg/l   | 0,1                        |
| Molibdeno                  | Mo   | mg/l   | 0,01                       |
| Mercurio (total)           | Hg   | mg/l   | 0,001                      |
| Níquel                     | Ni   | mg/l   | 0,2                        |
| Organofosforados (totales) | Concentración de organofosforados totales. | mg/l   | 0,1                        |
| Organoclorados (totales)   | Concentración de organoclorados totales.   | mg/l   | 0,2                        |
| Potencial de hidrógeno     | pH   |        | 6-9                        |
| Coliformes Totales         | nmp/100 ml                                 |        | 1 000                      |

\* Límite máximo permisible

\*\* Miligramo por litro

Los límites máximos permisibles para organofosforados y carbamatos, para el agua que requiere desinfección para consumo humano y para el agua de riego, son iguales.

## Normativa Municipal

La Ilustre Municipal del Cantón Santa Isabel no dispone de ordenanzas o normativas ambientales, la vigilancia de la calidad del agua de consumo humano



se lo realiza cumpliendo lo establecido en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA) y con la Norma de Calidad Ambiental y Descarga de Efluentes.

### **Legislación Internacional sobre plaguicidas**

Existen varias convenciones internacionales orientadas básicamente a prevenir los riesgos del comercio, uso, manejo y disposición final de los desechos tóxicos y productos químicos. Convenios como los de Basilea (1992) Róterdam (2004) y Estocolmo (2004), emitidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

La Comunidad Andina emitió la Norma Andina para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola (Decisión 436 de 1998) y mediante la Resolución 630 del 2002 adopta el Manual Técnico Andino para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola.

La FAO estableció en el año 2002 el Código Internacional de Conducta para la distribución y utilización de plaguicidas, el cual contiene las normas de conducta de carácter voluntario para todas las entidades públicas y privadas que intervienen en la distribución y utilización de plaguicidas o tienen relación con las mismas.

### **Normas internacionales para los residuos**

La Comisión del Codex Alimentarius (código sobre los alimentos) fija criterios normativos para todas las naciones. Fue creada por dos organizaciones de las Naciones Unidas: la FAO y la OMS, y está formada por comités encargados de diferentes aspectos alimentarios. El Límite Máximo de Residuos "LMR" es la concentración máxima de residuos de un plaguicida (expresada en mg/kg), que la Comisión del Codex Alimentarius recomienda se permita legalmente en la superficie o la parte interna de productos de alimentación para consumo humano, esto significa que los límites máximos del Codex para residuos son toxicológicamente aceptables. En la tabla 7 se exponen los "LMR" de algunos plaguicidas en alimentos de origen vegetal, según las normas internacionales.

Tabla 7: Límites máximos de residuos para plaguicidas expresados en mg/Kg

| Plaguicidas     | Alimentos de origen vegetal |        |      |
|-----------------|-----------------------------|--------|------|
|                 | Cebolla                     | Tomate | Maíz |
| Ditiocarbamatos | 0,5                         | 2,0    | 0,1  |
| Clorotalonil    | 0,5                         | 5,0    | --   |
| Malathión       | 1,0                         | 0,5    | 0,02 |
| Clorpirifos     | 0,2                         | 1,0    | 0,01 |
| Imidacloprid    | 0,1                         | 0,5    | 0,02 |
| Penconazol      | 0,02                        | 0,2    | --   |
| Tebuconazol     | 0,1                         | 0,7    | 0,6  |
| Piretrinas      | 0,01                        | 0,05   | 0,1  |
| Propamocarb     | --                          | 2,0    | --   |
| Profenofos      | --                          | 10     | --   |

Fuente: Códex Alimentarius (FAO-OMS)

Los límites máximos de residuos para un mismo plaguicida varían en diferentes alimentos de origen vegetal

## CAPITULO III:

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ÁREA DE ESTUDIO

El cantón Santa Isabel limita al norte con el cantón Cuenca de la provincia del Azuay y Balao de la provincia del Guayas; al sur con el cantón Zaruma de la provincia de El Oro, Saraguro de la provincia de Loja y Nabón de la provincia del Azuay; al este con los cantones San Fernando, Girón y Nabón de la provincia del Azuay y al oeste con el cantón Pucará de la provincia de Azuay y Balao de la provincia del Guayas.

Se localiza en los puntos más extremos 79°34'53"W 2°54'19"S al Norte, 79°16'57"W 3°22'14"S al Sur, 79°13'15"W 3°17'13"S al Este y 79°37'30"W 2°59'30"S al Oeste. En la figura 4 se observa la ubicación geográfica del cantón Santa Isabel.

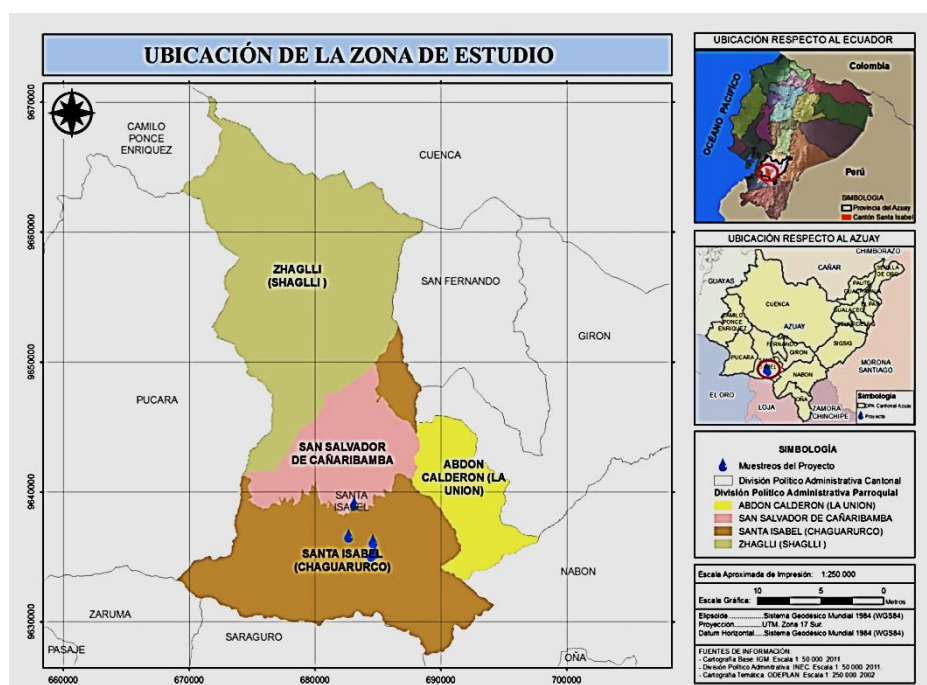


Figura 4: Ubicación geográfica de Santa Isabel. Fuente: Elaboración

La zona tiene un potencial agrícola, la producción es destinada para el consumo interno y para el expendio en otras ciudades de la provincia (Anexo 1). En esta actividad se utilizan una diversidad de agroquímicos y plaguicidas, constituyendo un riesgo para el ambiente y salud de los pobladores.

La investigación se realizó en los sectores de Dandán, Lunduma y Tugula, que pertenecen al cantón Santa Isabel y están localizados en la cuenca media del río Jubones a una altitud entre 1595 y 1964 m.s.n.m., con una temperatura media de 19,6 grados Celsius. Estos factores climáticos son favorables para realizar actividades agrícolas a campo abierto y también bajo invernaderos, con una variedad de cultivos tales como; maíz, fréjol, tomate, cebolla, entre otros. En la figura 5 se observa la zona de estudio y los sectores.

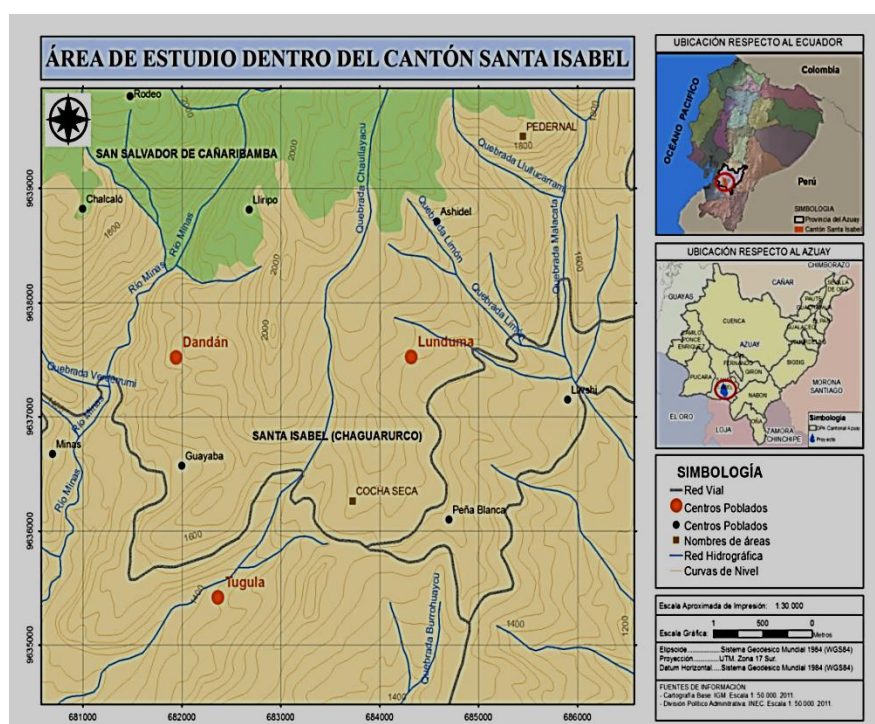


Figura 5: Áreas de estudio dentro del cantón Santa Isabel. (Fuente IGM)

En esta área productiva existe un canal principal de riego denominado “San Francisco” con un caudal aproximado de 1200 litros/segundo. Este irriga una gran parte del cantón Santa Isabel, a través de sistemas de riego por gravedad y



aspersión. También abastece a dos sistemas de tratamiento de agua ubicados en Dandanpamba y Lunduma.

Según datos del último censo (INEC, 2010) la población en el área de estudio es de 254 personas; el 86,22% se dedican a la agricultura y ganadería; en actividades de manufactura, transporte y minería se ocupan el 9,05%; mientras que el 4,72% en la administración pública y enseñanza.

### 3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo está considerado como un estudio de caso, cuasi-experimental analítico, de tipo transversal, porque determina las relaciones causa-efecto respecto al uso de plaguicidas y el nivel de la colinesterasa de los agricultores. Así como también una investigación de tipo descriptiva transversal para establecer la contaminación del agua de riego y de consumo humano considerando la legislación vigente del Ministerio del Ambiente.

Variables:

Variable dependiente.- Los valores normales de los niveles de colinesterasa sérica de los agricultores, podrían sufrir alteraciones por efecto de las variables independientes.

Variables independientes.- Se pretende demostrar que la exposición a plaguicidas organofosforados y/o carbamatos, edad, género y actividad económica de las personas, afectan los niveles de colinesterasa.

Variable cuantitativa continua.- Es preciso determinar la presencia de residuos de plaguicidas (ppb), en las muestras de agua utilizada para riego y consumo humano y compararlos con los límites máximos residuales (LMr).

Para el caso de los agricultores, la variable dependiente es la concentración de colinesterasa sérica detectada en las muestras de sangre. Se espera que este valor cambie en función de las variables independientes como la edad, género, actividad económica y tiempo de exposición. Para determinar la presencia de

residuos de plaguicidas en el agua se considera como variable cuantitativa, los valores obtenidos del análisis de las muestras en laboratorio.

### Indicadores:

Los indicadores son elementos que proporcionan la base para monitorear, evaluar y especificar de manera precisa cada variable.

Para la investigación se definieron como indicadores los valores de colinesterasa que resultan de los análisis de las muestras de sangre. Además los resultados de los análisis para detectar residuos de plaguicidas en muestras de agua para consumo humano y riego. En la tabla 8 se describen las variables e indicadores.

Tabla 8: Operacionalización de las variables

| Problema   | Variable                | Indicadores                              | Dimensiones | Fuentes de información  | Análisis de información                                    |
|--|-------------------------|--|-------------|-------------------------|--|
| Determinar los niveles de colinesterasa sérica en los agricultores expuestos a plaguicidas                                 | Colinesterasa sérica    | Concentración de colinesterasa sérica    | U/L         | Análisis de laboratorio | Pruebas estadísticas, Chi cuadrado de Pearson, correlación |
| Establecer la presencia de residuos de plaguicidas organofosforados y carbamatos en agua para consumo humano y para riego. | Residuos de plaguicidas | Concentración de residuos de plaguicidas | ppm         | Análisis de laboratorio | Análisis de variancia ANOVA                                |



### Análisis Estadísticos.

Se realizaron los análisis de las variables, calculando inicialmente los valores estadísticos descriptivos como la media aritmética, valores mínimos y máximos. Las tablas y gráficos correspondientes a los resultados se elaboraron utilizando el programa Microsoft Excel 2010.

Para el análisis inferencial se utilizó el programa SPSS, las asociaciones entre las diferentes variables se determinaron mediante la prueba de Correlación de Pearson, y la no paramétrica de Kruskal Wallis para determinar la heterogeneidad de varianzas entre poblaciones. Para la comparación de las variables se aplicó el Análisis de Variancia, y la prueba “t de Student”.

### **3.3. METODOLOGÍA**

La metodología aplicada para cumplir con los objetivos planteados en el presente trabajo investigativo se fundamentó en cumplir con el siguiente procedimiento; realización de encuestas en las áreas de estudio para identificar los plaguicidas utilizados, obtención de muestras de sangre y determinación de niveles de colinesterasa; y el muestreo de agua y análisis en laboratorio para detectar residuos de plaguicidas.

#### **3.3.1. Identificación de los plaguicidas utilizados en la zona de estudio**

##### Encuesta de campo:

Para obtener información de los tipos de plaguicidas que se utilizan en los distintos cultivos de la zona, se aprovecharon las reuniones mantenidas en cada uno de los sectores con los agricultores que participaron en el presente estudio, a quienes se les solicitó información respecto al uso y las condiciones de aplicación de los plaguicidas a través de una encuesta de campo. El formato de la encuesta aplicada a los agricultores se adjunta en el anexo 2.

Con este propósito, también fue necesario extender esta encuesta a las diferentes comercializadoras de pesticidas situadas en el cantón Santa Isabel, incluyendo a



los establecimientos de Girón. Esto debido a que los agricultores en ocasiones se trasladan hasta ese cantón para realizar diferentes gestiones, entre ellas, la adquisición de insumos agropecuarios como los plaguicidas.

La información se registró en formularios (anexo 3), donde constan los siguientes datos: Razón social, nombre del propietario, dirección, insumos que comercializa, tipo de plaguicidas y categoría toxicológica.

### **3.3.2. Determinación de niveles de colinesterasa**

Para la obtención de muestras de sangre y el análisis para determinar los niveles de colinesterasa sérica, fue necesario programar reuniones con los dirigentes de los diferentes sectores, con el propósito de socializar la investigación y definir la logística. Para cumplir con este objetivo, se realizaron las siguientes actividades a continuación detalladas.

#### Determinación del número de muestras

Universo.- Según datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2010), en el área de estudio existe una población de 254 personas quienes residen en los sectores de Dandán, Lunduma y Tugula que se hallan dentro de la zona de estudio (anexo 4). De este total, 219 habitantes (86,22%) se dedican a la agricultura y 35 (13,78%) a otras actividades.

Muestra.- En esta investigación se utilizó un muestreo probabilístico estratificado, de manera aleatoria simple.

Muestreo.- Para la obtención de las muestras sanguíneas, se procedió seleccionando “n” elementos de un total de “N” que corresponde a la población (Universo) de esta forma todos los agricultores estuvieron en la posibilidad de ser seleccionados y constituir dicha muestra.

Fórmula 1.- Cálculo de la muestra en agricultores:

$$n = \frac{N \times Z^2 \times P \times Q}{(N - 1) * e^2 + Z^2 * P * Q}$$

Dónde:

Z = Nivel de confianza según desviaciones estándar (95%)

P = Probabilidad de que el evento ocurra (50%)

Q = Probabilidad de que el evento no ocurra (50%)

N = Población bajo estudio (219)

e = Error de estimación (4%)

Cálculo de número de muestras:

$$n = \frac{219 \times 0.9025 \times 0.5 \times 0.5}{218 \times 0.0016 + 0.9025 \times 0.5 \times 0.5}$$

Aplicando la fórmula resultan 86 muestras, sin embargo se obtuvieron 91 en los tres sectores, sobrepasando de esta manera el número mínimo representativo de la población en estudio.

Para el grupo control se consideró como población las 35 personas que no son agricultores, utilizando la misma fórmula pero con el 9% de error de estimación:

$$n = \frac{35 \times 0.9025 \times 0.5 \times 0.5}{34 \times 0.081 + 0.9025 \times 0.5 \times 0.5}$$

Como resultado del cálculo se obtuvieron 15 muestras, las mismas que se consiguieron para el estudio.

### Socialización con los agricultores

Previo a la obtención de muestras sanguíneas, se procedió a concienciar a los agricultores participantes sobre la contaminación ambiental causada por el uso de los plaguicidas y el riesgo que representa para la salud de la población. Se expusieron temas como la exposición ocupacional a estas sustancias



consideradas muy tóxicas, especialmente los plaguicidas organofosforados y carbamatos.

La participación de los agricultores fue voluntaria, siendo necesario un consentimiento informado (anexo 5) en el cual se estipulada de forma clara y concreta las condiciones y el propósito del estudio, así como el manejo de los datos y resultados obtenidos. Este documento fue socializado a los participantes, quienes luego de conocerlo procedieron a legalizarlo con su firma, dando la autorización individual para la obtención de la muestra sanguínea requerida.

### Obtención de muestras

En el período julio-septiembre del 2013, se obtuvieron un total de 91 muestras de sangre de agricultores del género masculino y femenino, con edades comprendidas entre los 12 hasta los 80 años. Complementariamente se obtuvieron 15 muestras sanguíneas de personas dedicadas a otras actividades, consideradas como grupo testigo. A este último grupo por habitar en la zona se encuentran indirectamente expuestos a los plaguicidas.

### Materiales de campo

- Mandiles
- Antiséptico y algodón
- Correa para torniquete
- Agujas hipodérmicas descartables # 21 x 1 ½.
- Tubos vacutainer
- Tubos de ensayo tapón rojo
- Caja térmica
- Gel refrigerante
- Formularios de encuestas
- Consentimiento informado

### Materiales de oficina

- Computador

- Impresora
- Fichas de datos

#### Procedimiento para la obtención de muestras

Para la obtención de la muestra sanguínea se procede a la desinfección de la piel y punción de una de las venas del antebrazo con vacutainer o agujas hipodérmicas, recolección de sangre en cantidad aproximada de 5 mililitros en tubos de ensayo sin anticoagulante, previamente identificado como se puede apreciar en la figura 6.

Luego en un formulario se registró los datos de la persona (nombre, edad, género, lugar de residencia, ocupación, años de labores agrícolas). Finalmente se colocaron las muestras en una caja térmica (hielera) con gel refrigerante para mantenerlas a una temperatura adecuada, transportándolas hasta el laboratorio clínico para su análisis.



Figura 6: Obtención de muestras de sangre

### Procesamiento de las muestras en laboratorio.

Previo al análisis de las muestras, se dejó coagular la sangre entre quince y treinta minutos (figura 7) luego se procedió a centrifugar durante tres minutos a 3000 r.p.m. De esta manera se obtiene una buena cantidad de suero sanguíneo requerido para el respectivo análisis.



Figura 7: Muestras sanguíneas previas al análisis

El suero obtenido se coloca en tubos de ensayo previamente identificados. De inmediato se sitúan en el espectrofotómetro, equipo que permite determinar los niveles de colinesterasa de manera semiautomática. Finalmente se realiza la lectura de los resultados y el registro en la base de datos. El método de laboratorio utilizado se detalla en el anexo 6.

### **3.3.3 Determinación de residuos de plaguicidas en agua**

La metodología empleada para determinar los residuos de plaguicidas en el agua de riego y de consumo humano fue la siguiente: definir el número de muestras, establecer los lugares de muestreo, recolección de muestras y transporte hacia el laboratorio para su análisis y la comparación de los resultados con los valores

referenciales de la normativa legal vigente del Ministerio del Ambiente (TULSMA) Libro VI.

### Cálculo del número de muestras

En este caso no se utilizaron fórmulas, para determinar el número de muestras fue necesario considerar las características geográficas y topográficas del área de estudio, con altitudes que varían desde los 1964 metros sobre el nivel del mar en el sector Dandán, hasta 1528 en Tugula. Otro factor importante considerado para el muestreo fue la presencia de cultivos aledaños donde se aplican los plaguicidas, ya que esto constituye un factor de riesgo para la contaminación del agua.

Luego de analizar estas condiciones se definieron tres zonas (alta, media y baja), determinándose seis puntos estratégicos de muestreo, en cada uno de ellos se obtuvo una muestra de agua para el análisis de residuos de plaguicidas. Los lugares de muestreo se presentan en la tabla 9 y se registraron con un equipo de GPS (Posición Geográfica Satelital).

Tabla 9: Lugares de muestreo georeferenciados

| Muestra | Uso del agua | Ubicación | Coordenada "X" | Coordenada "Y" | Altitud (m.s.n.m.) | Observación |
|---------|--------------|-----------|----------------|----------------|--------------------|-------------|
| 1       | Riego        | Dandán    | 0683102        | 9639129        | 1.964              | Zona alta   |
| 2       | Consumo      | Dandán    | 0682650        | 9636665        | 1.695              | Zona alta   |
| 3       | Consumo      | Lunduma   | 0684587        | 9636232        | 1.703              | Zona media  |
| 4       | Riego        | Lunduma   | 0684583        | 9636203        | 1.699              | Zona media  |
| 5       | Consumo      | Tugula    | 0684454        | 9635156        | 1.528              | Zona baja   |
| 6       | Riego        | Tugula    | 0684744        | 9635388        | 1.595              | Zona baja   |

En cada uno de los sectores se obtuvieron dos muestras de agua (consumo humano y riego), en distintos puntos geográficos y a diferentes altitudes.

### Obtención de muestras de agua

Con respecto a las muestras de agua de riego, una de ellas pertenece al canal principal “San Francisco” situado al norte de Dandán. Otra se obtuvo de un canal secundario que atraviesa el sector Lunduma; y la tercera muestra corresponde a un canal que irriga campos agrícolas de Tugula. De esta forma se pudo abarcar las tres áreas en estudio.

Para muestrear el agua para consumo humano se procedió de manera aleatoria, con la selección de un domicilio en cada uno de los sectores (Dandán, Lunduma y Tugula) de la zona de investigación.

En la figura 8 se ubican los lugares donde se recolectaron las muestras de agua para el respectivo análisis.

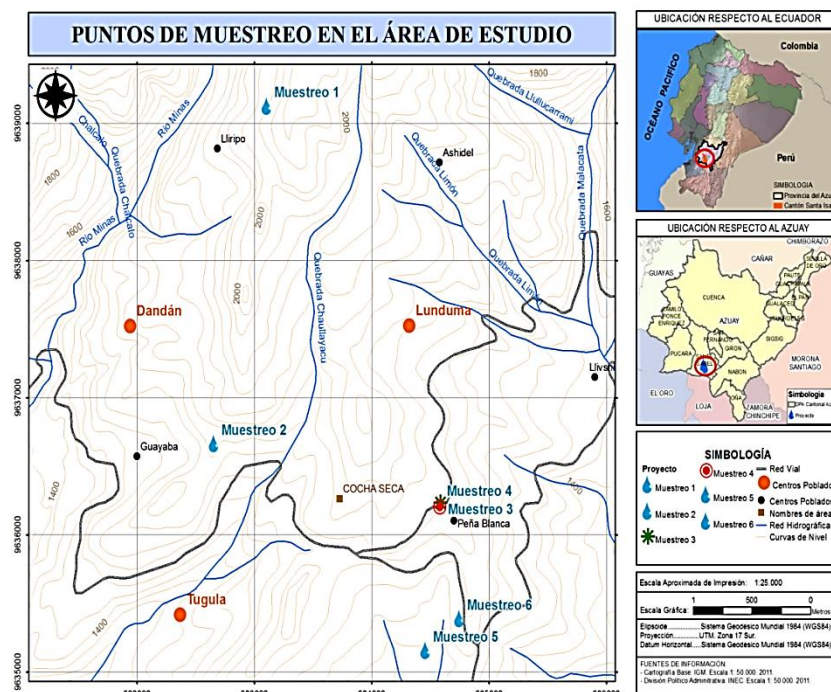


Figura 8: Localización de los puntos de muestreo en el área en estudio.



Los puntos dos, tres y cinco corresponden al sitio de muestreo de agua para consumo humano; mientras que el uno, cuatro y seis indican el lugar de muestreo del agua de riego.

Los materiales utilizados, la recolección y la remisión de muestras para el análisis toxicológico son de importancia fundamental para obtener resultados precisos.

#### Materiales de campo

- Frascos de plástico de boca ancha
- Papel aluminio.
- Fundas plásticas
- Hielera y gel refrigerante.
- Prendas de protección.
- Fichas de muestreo.

#### Procedimiento

La recolección y remisión de muestras se realizó siguiendo los lineamientos para; la preparación, transporte de materiales, recolección, estabilización, y traslado hasta los laboratorios de AGROCALIDAD, que recomienda: *“La muestra debe ser de un litro, recolectada en envases de plástico lo más estériles posibles, cerrados herméticamente y cubiertos con funda plástica negra, y transportarlas en caja refrigerante para mantener la cadena de frío hasta el laboratorio”*.

Para la obtención de las muestras de agua de riego, previamente se procedió a enjuagar el recipiente varias veces, luego se recolectó una cantidad aproximada de un litro, evitando tocar el fondo y las paredes del canal de riego para no contaminarla. En la figura 9 se puede observar lo indicado.



Figura 9: Muestreo de agua en canal de riego

Para el muestreo del agua de consumo humano se realizó una limpieza del grifo, luego se deja fluir el agua por el lapso de 2 minutos, y en un frasco estéril se recolecta la cantidad de agua requerida. En ambos casos se coloca papel aluminio en la abertura del recipiente, con la finalidad que el cierre con la tapa sea hermético y así evitar posibles derrames. Posteriormente se identificaron los recipientes, mediante una ficha de control donde consta la fecha de muestreo, nombre del sitio, y el tipo de muestra (agua de riego o consumo humano).

Finalmente se colocaron los recipientes en una caja térmica (cooler) con gel refrigerante en su interior y el traslado hasta las oficinas de AGROCALIDAD de la ciudad de Cuenca, se empacaron según las normas establecidas adjuntando la información requerida (anexo 7), finalmente se procedió a enviar hacia los laboratorios en Tumbaco-Quito.

#### Procesamiento de las muestras en laboratorio

En el laboratorio de AGROCALIDAD se validó el método de espectrofotometría UV-VIS para la determinación de residuos de tiocarbamatos. Para los organofosforados y carbamatos el método empleado fue un análisis instrumental por cromatografía líquida de ultra alta eficiencia con detector de masas doble (UHPL/MS/MS). El procedimiento y la metodología empleada para el análisis de las muestras de agua se encuentran detallados en el anexo 8.



## CAPITULO IV:

### 4. RESULTADOS

#### 4.1. PLAGUICIDAS UTILIZADOS EN LA ZONA

Realizadas las encuestas a los agricultores y propietarios de establecimientos comerciales donde se expenden plaguicidas, se pudo conocer que en la agricultura se utilizan diversos pesticidas y entre ellos están los organofosforados (profenofos, clorpirifos), carbamatos (Propamocarb), tiocarbamatos, piretroides, benzimidazoles y otros grupos químicos.

Los plaguicidas mencionados se utilizan para el control preventivo y curativo de plagas y enfermedades que atacan a los cultivos. La frecuencia de aplicación depende de la incidencia de estas, del tipo y ciclo de cultivo; siendo habitual emplear mezclas de dos o más productos químicos.

Es importante mencionar que en la aplicación de los plaguicidas se utilizan equipos manuales (bombas de fumigar) y las personas que lo realizan no emplean los equipos de protección personal o se protegen parcialmente, esto constituye un mayor riesgo de exposición.

A continuación en la tabla 10 se presenta la información de los plaguicidas que utilizan los agricultores de la zona.



Tabla 10: Identificación y categoría toxicológica de los agroquímicos usados en el área en estudio.

| <b>Producto<br/>(Nombre<br/>comercial)</b> | <b>Principio<br/>Activo</b> | <b>Tipo</b> | <b>Grupo químico</b>      | <b>Categoría<br/>toxicológica</b> |
|--|-----------------------------|-------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Propamocarb                                | Propamocarb<br>hidrocloride | Fungicida   | Carbamatos                | II- Toxicidad alta                |
| Propineb                                   | Propineb                    | Fungicida   | Ditiocarbamatos           | III- Toxicidad<br>moderada        |
| Mancoceb                                   | Mancoceb                    | Fungicida   | Ditiocarbamatos           | III- Toxicidad<br>moderada        |
| Benomyl                                    | Benomilo                    | Fungicida   | Benzimidazol<br>carbamato | III-Toxicidad<br>moderada         |
| Curacrón                                   | Profenofos                  | Insecticida | Organofosforado           | II- Toxicidad alta                |
| Daconil                                    | Clorotalonil                | Fungicida   | Cloronitrilo              | IV- Toxicidad leve                |
| Vitavax                                    | Carboxin +<br>Captan        | Fungicida   | Carboximida               | IV- Toxicidad leve                |
| Malathión                                  | Malathión                   | Insecticida | Organofosforado           | III- Toxicidad<br>moderada        |
| Clorpirifos                                | Clorpirifos                 | Insecticida | Organofosforado           | II-Toxicidad alta                 |
| Agresor -<br>Confidor                      | Imidacloprid                | Insecticida | Neonicotinoideo           | II- Toxicidad alta                |
| Phyton                                     | Sulfato de<br>cobre         | Fungicida   | Cúprico                   | III- Toxicidad<br>moderada        |
| Topas                                      | Penconazol                  | Fungicida   | Triazoles                 | IV- Toxicidad leve                |
| Bravo 720                                  | Clortalonil                 | Fungicida   | Clortalonil               | II- Toxicidad alta                |
| Score                                      | Difenoconazol               | Fungicida   | Triazoles                 | IV- Toxicidad leve                |
| Karate                                     | Piretroide                  | Insecticida | Piretroide                | II- Toxicidad alta                |
| Carbendazim                                | Carbendazim                 | Fungicida   | Benzimidazol              | IV- Toxicidad leve                |
| Vertimec                                   | Abamectina                  | Insecticida | Abamectina                | II- Toxicidad alta                |



Entre los plaguicidas objeto del estudio podemos destacar los organofosforados clorpirifos (Lorsban) y profenofos (Curacrón) que se encuentran en la categoría de altamente tóxicos. Así mismo en el grupo de carbamatos se encuentran el Propamocarb de toxicidad alta y los tiocarbamatos (Mancoceb, Benomyl) que son productos de moderada toxicidad.

Las encuestas efectuadas a 72 agricultores de la zona, determinaron que los cultivos predominantes son: el tomate, la cebolla, maíz y fréjol. El 55,5% (N: 40) de los agricultores encuestados manifestaron utilizar insecticidas del grupo piretroide; el 48,61% (N:35) emplean los del grupo de los Imidacloprid; 41,66% (N:30) organofosforados; 34,7% (N:25) abamectinas; 27,77% (N:20) también utilizan insecticidas pertenecientes a otros grupos químicos.

En lo que se refiere a fungicidas el 50% de agricultores (N:36) indicaron que utilizan los del grupo clorotalonil; el 40,27% (N:29) utilizan con frecuencia los del grupo Benomilo; el 29,16% (N:21) ditiocarbamatos y Propamocarb; el 25%, (N:18) utilizan cúpricos y otros fungicidas según las enfermedades a controlar.

#### **4.2. RESULTADOS DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA SÉRICA**

Un antecedente de importancia es el hecho que algunas personas manifestaron haber sufrido ciertas molestias como dolor de cabeza, falta de apetito, amortiguamiento de brazos, mareos, cefalea, náuseas. Es posible que estos síntomas puedan estar relacionados con la exposición a plaguicidas.

Se procedió a obtener y analizar 91 muestras de sangre; 38 correspondieron a los agricultores del sector Dandán, 28 de Lunduma y 25 de Tugula. Adicionalmente se analizaron 15 muestras pertenecientes a los habitantes del lugar, que por su actividad no se encontraban expuestos directamente a plaguicidas (anexo 9).

Es importante destacar que tres hombres y una mujer del sector Dandán resultaron con niveles de actividad de colinesterasa sérica entre 3 760 y 4 615 UI/L, niveles que son considerados inferiores al rango normal (4 659 – 14 443

UI/L). En la figura 10 se presentan los niveles de colinesterasa de los agricultores del sector Dandán.

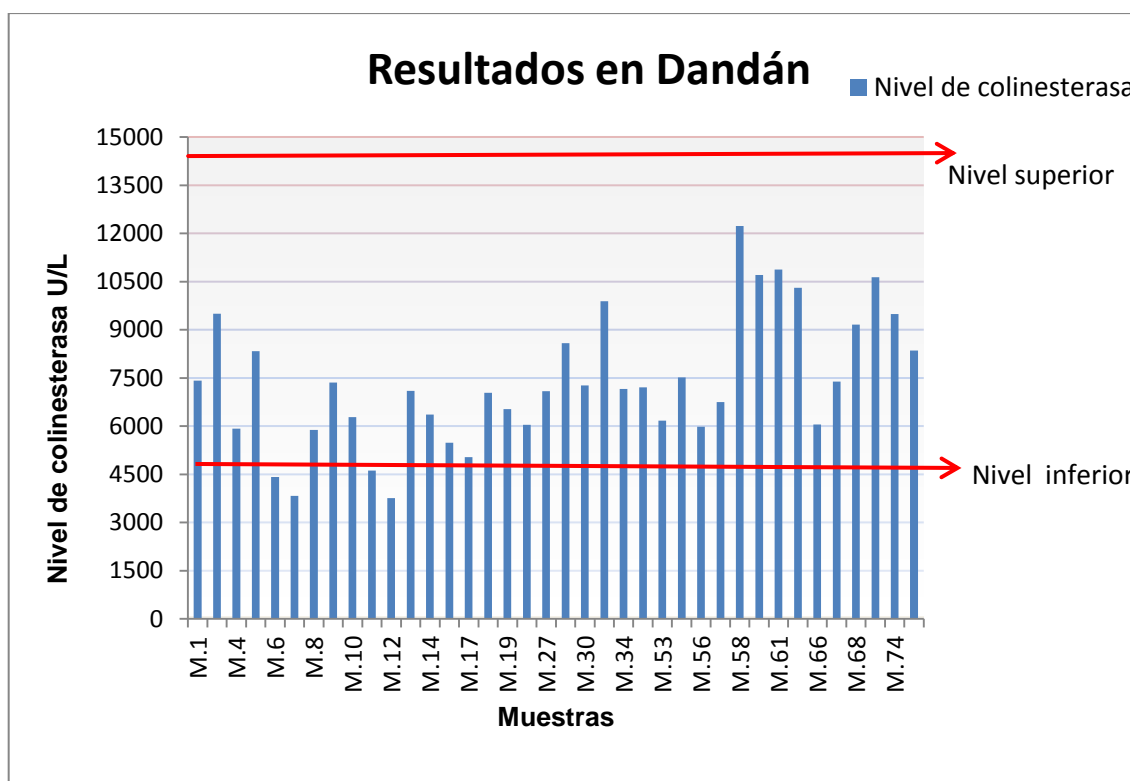


Figura 10: Niveles de colinesterasa de agricultores del sector Dandán

Los valores encontrados en los 38 agricultores son disímiles, con la media aritmética más baja (7 362 U/L) comparada con las medias de los otros sectores. Cuatro personas presentaron niveles bajos en relación al límite inferior (4 659 U/L), por la posible exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa.

Así mismo en la figura 11 se detallan los resultados de los análisis de sangre de los agricultores de Lunduma.

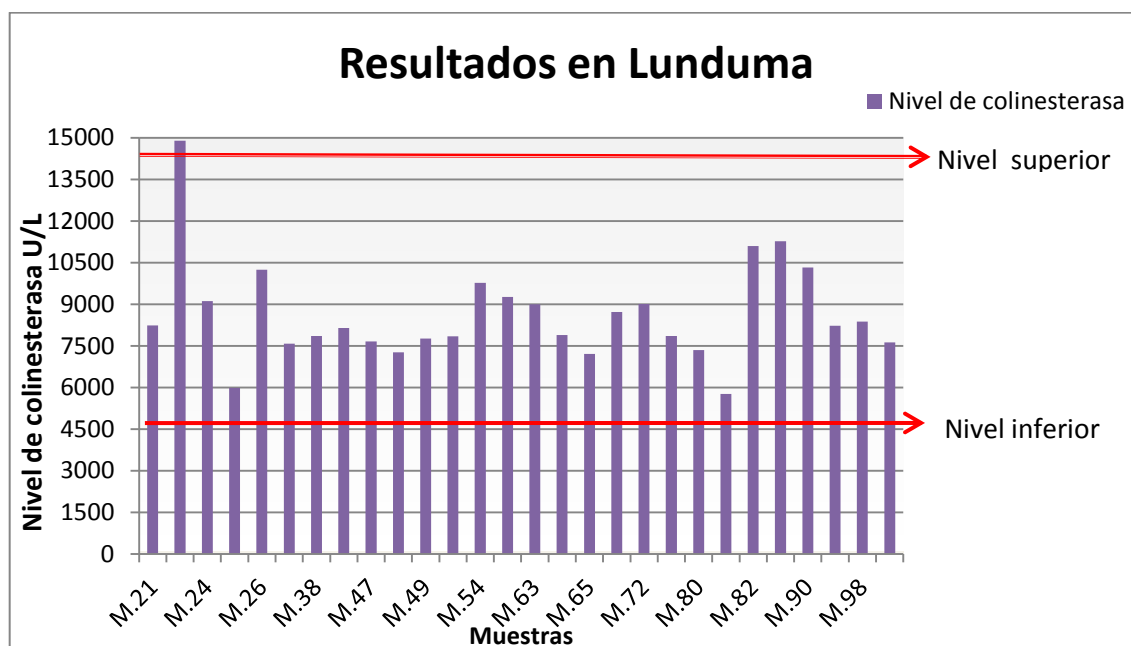


Figura 11: Niveles de colinesterasa de agricultores del sector Lunduma

Los niveles de colinesterasa resultaron estar menos dispersos en los agricultores de Lunduma, excepto por uno de ellos que superó el nivel máximo (14 443 U/L).

Los resultados obtenidos en el sector Tugula se presentan en la figura 12

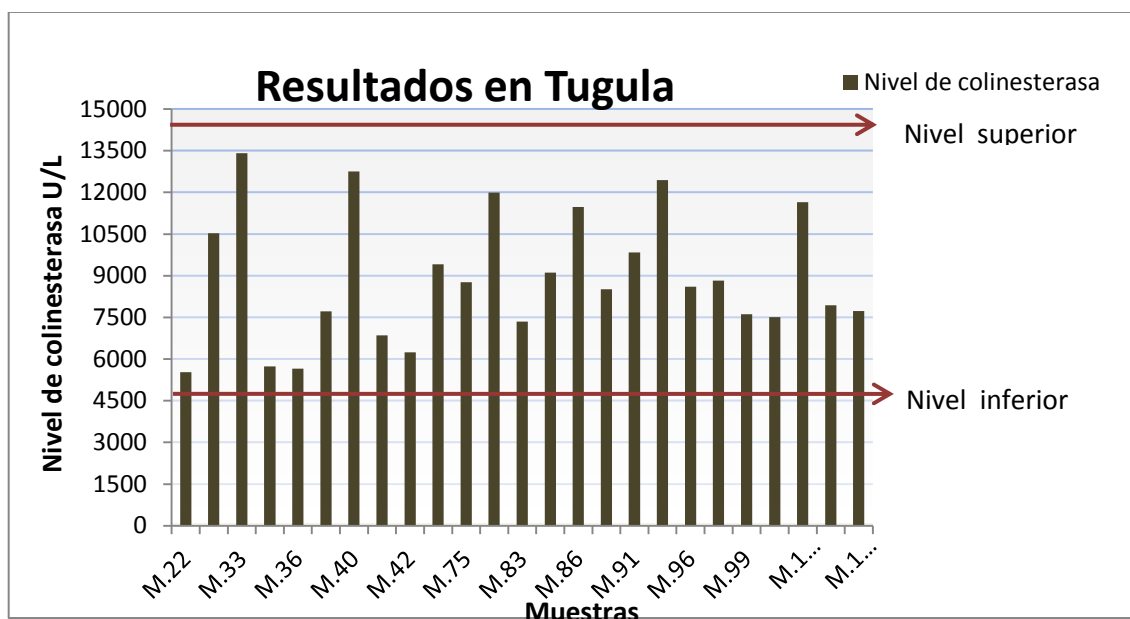


Figura 12: Niveles de colinesterasa de agricultores del sector Tugula

Los 25 agricultores de Tugula resultaron con la colinesterasa sérica normal, la media aritmética (8927 U/L) supera a las medias obtenidas en los agricultores de Dandán y Lunduma.

Utilizando la misma metodología se analizaron un total de 15 muestras de sangre pertenecientes al grupo testigo; nueve de estas corresponden a personas del género femenino y las restantes al masculino. Estas personas tienen diferentes actividades económicas excepto la agricultura. Los resultados presentados en la figura 13 señalan que ninguno de ellos presenta niveles de la enzima colinesterasa fuera del rango normal.

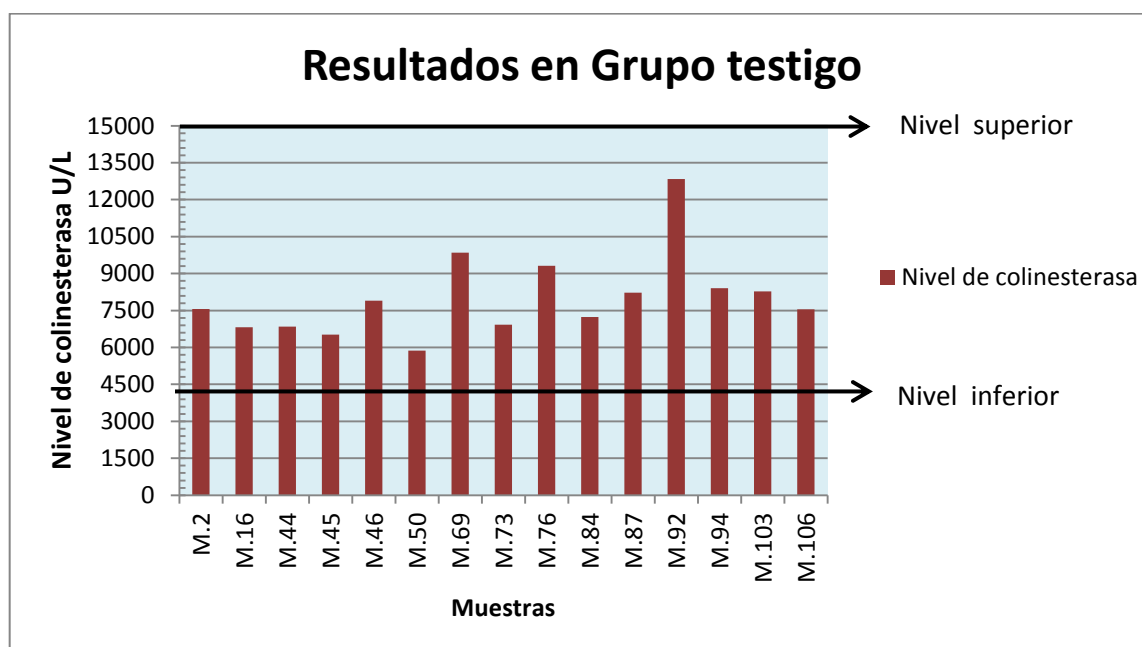


Figura 13: Niveles de colinesterasa del grupo testigo

La desviación estándar (1 698,76) determina que existe menor variabilidad de valores comparada con los otros grupos en estudio (Dandán, Lunduma y Tugula).

#### Análisis estadístico de valores de colinesterasa

La metodología se fundamentó en registrar la información obtenida, luego se elaboraron tablas y gráficos que permitieron realizar un análisis de los datos

conseguidos y de esta manera determinar la variabilidad del nivel de la colinesterasa de los agricultores de Dandán, Lunduma, Tugula y Grupo testigo.

Para el análisis estadístico descriptivo se calcularon los índices de tendencia central (media aritmética), y también los índices de variabilidad; máximo, mínimo y desviación estándar.

#### 4.2.1 Estadística descriptiva

Los resultados sobre los índices de variabilidad se registran en la tabla 11, en este caso se calculó la desviación estándar de la variable colinesterasa para determinar la dispersión de los datos alrededor de la media.

Tabla 11: Estadística descriptiva de la variable colinesterasa en las zonas de estudio

| Lugar         | Frecuencia | %     | NIVEL DE COLINESTERASA |               |       | Desviación estándar |
|---------------|------------|-------|------------------------|---------------|-------|---------------------|
|               |            |       | Máximo                 | U/L<br>Mínimo | Media |                     |
| Dandán        | 38         | 35,85 | 12 234                 | 3 760         | 7 362 | 2 040,25            |
| Lunduma       | 28         | 26,41 | 14 899                 | 5 773         | 8 622 | 1 800,51            |
| Tugula        | 25         | 23,58 | 13 409                 | 5 530         | 8 927 | 2 312,07            |
| Grupo testigo | 15         | 14,15 | 12 836                 | 5 867         | 8 012 | 1 698,76            |
| Total         | 106        | 100   |                        |               |       |                     |

El valor máximo, el mínimo y la media aritmética de la colinesterasa sérica de los agricultores del sector Dandán son los más bajos de todos los grupos, esto sugiere que existe mayor alteración de colinesterasa en pobladores de Dandán. La desviación estándar nos indica que existe mayor variabilidad de los valores de colinesterasa en los agricultores de Tugula, esto nos explica que hay diferencias entre los sectores en estudio, por lo que fue necesario aplicar la estadística inferencial (Coeficiente de correlación de Pearson) para determinar si las diferencias son significativas.

En la tabla 12 se resume los resultados de la variable colinesterasa en el grupo de agricultores y en el grupo testigo con los análisis estadísticos descriptivos.

Tabla 12: Estadística descriptiva de la variable colinesterasa

| Muestras         | Nivel de colinesterasa U/L |        |          | Desviación estándar | Coeficiente de variación |
|------------------|----------------------------|--------|----------|---------------------|--------------------------|
|                  | Mínimo                     | Máximo | Media    |                     |                          |
| Agricultores 91  | 3 760                      | 14 899 | 8 179,43 | 2 146,515           | 0,2624                   |
| Grupo testigo 15 | 5 867                      | 12 836 | 8 011,80 | 1 698,76            | 0,2120                   |

Todos los integrantes del grupo testigo presentaron niveles normales como se preveía, su desviación estándar y el coeficiente de variación (0,212) nos revela una menor dispersión de los valores de colinesterasa.

#### Niveles de colinesterasa según el género

Mediante el análisis estadístico descriptivo, se determinó la frecuencia y los porcentajes según el género de las personas, en la tabla 13 se presentan los datos obtenidos.

Tabla 13: Frecuencias y porcentajes de la variable género

| CATEGORIAS    | Género    | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje acumulado |
|---------------|-----------|------------|------------|----------------------|
| Agricultores  | Masculino | 46         | 50,50%     | 50,50%               |
|               | Femenino  | 45         | 49,50%     | 100%                 |
|               | Total     | 91         | 100%       |                      |
| Grupo Testigo | Masculino | 6          | 40,00%     | 40%                  |
|               | Femenino  | 9          | 60,00%     | 100%                 |
|               | Total     | 15         | 100%       |                      |

Luego de una exploración y análisis de los datos se determinó que entre los agricultores, la frecuencia de hombres fue del 50,50%, mientras que en el grupo testigo la mayor frecuencia corresponde al género femenino con el 60%.

Se establecieron los índices de tendencia central y los de variabilidad, estos se pueden observar en la tabla 14.

Tabla 14: Niveles de colinesterasa según el género

| CATEGORIAS    | Género    | Número de muestras | Nivel de Colinesterasa U/L |        |       |                     |
|---------------|-----------|--------------------|----------------------------|--------|-------|---------------------|
|               |           |                    | Máximo                     | Mínimo | Media | Desviación estándar |
| Agricultores  | Masculino | 46                 | 14 899                     | 3 760  | 8 568 | 2 587,68            |
|               | Femenino  | 45                 | 10 876                     | 4 615  | 7 783 | 1 502,53            |
| Grupo testigo | Masculino | 6                  | 12 836                     | 6 817  | 8 346 | 2 313,13            |
|               | Femenino  | 9                  | 9 847                      | 5 867  | 7 789 | 1 251,62            |

Con el cálculo de la desviación estándar, se estableció que existe menor variabilidad de los valores de colinesterasa en las mujeres del grupo de los agricultores, y también del grupo testigo.

Los resultados descriptivos obtenidos se presentan en la tabla 15 y estos corresponden a las variables edad y años de exposición.

Tabla 15: Estadística descriptiva de las variables edad y años de exposición

|                      | MUESTRAS | Mínimo | Máximo | Media | Desviación estándar |
|----------------------|----------|--------|--------|-------|---------------------|
| Edad de las personas | 91       | 12     | 80     | 48    | 17                  |
| Años de Exposición   | 84       | 2      | 68     | 33    | 16                  |

La edad promedio de los agricultores es de 48 años con una desviación estándar de  $\pm 17$ . La exposición presenta un promedio de 33 años, con una desviación de  $\pm 16$  esto nos demuestra la heterogeneidad de las personas que participaron en el estudio.

#### Niveles de colinesterasa según la edad

Se determinaron los niveles de colinesterasa, asociándola con la edad de los agricultores, en la tabla 16 se indican los resultados obtenidos luego de analizar los datos respectivos.

Tabla 16: Niveles de colinesterasa según la edad

| NIVEL DE COLINESTERASA UI/L |          |        |        |       |
|-----------------------------|----------|--------|--------|-------|
| Edad/Años                   | Muestras | Máximo | Mínimo | Media |
| 10 a 20                     | 7        | 14 899 | 7 353  | 9 914 |
| 21 a 30                     | 8        | 11 105 | 5 983  | 7 883 |
| 31 a 40                     | 14       | 12 750 | 5 530  | 8 508 |
| 41 a 50                     | 25       | 11 645 | 5 038  | 8 014 |
| 51 a 60                     | 13       | 12 234 | 3 826  | 8 119 |
| 61 a 70                     | 12       | 13 409 | 3 760  | 8 217 |
| > 70                        | 12       | 9 497  | 4 615  | 7 356 |
| TOTAL                       | 91       |        |        |       |

Las medias aritméticas de la categoría de 10 a 20 años son superiores al resto de categorías. Los agricultores mayores a 70 años promediaron los niveles más bajos de colinesterasa (7 356 U/L), esto sugiere que existe una tendencia de disminución de la enzima, mientras se incrementa la edad.

Niveles de colinesterasa en agricultores y grupo testigo.

Los habitantes de la zona están dedicados a diversas actividades económicas, donde el 86 % de la población son agricultores, quienes durante las labores de aplicación se exponen a la toxicidad de los plaguicidas. El grupo testigo con

exposición indirecta presentaron valores normales, con una media aritmética de 8 011,80 UI/L.

En la tabla 17 se detallan los resultados obtenidos sobre los niveles de colinesterasa en el grupo integrado por personas dedicadas a diferentes actividades económicas excepto la agricultura.

Tabla 17: Colinesterasa según actividad económica

| Actividad                       | Edad | Género | Colinesterasa UI/L |
|---------------------------------|------|--------|--------------------|
| QQ.DD                           | 40   | F      | 7 560              |
| QQ.DD                           | 28   | F      | 7 905              |
| QQ.DD                           | 27   | F      | 9 847              |
| QQ.DD                           | 39   | F      | 9 321              |
| QQ.DD                           | 74   | F      | 5 867              |
| QQ.DD                           | 41   | F      | 7 242              |
| QQ.DD                           | 22   | M      | 6 817              |
| Estudiante                      | 27   | F      | 6 527              |
| Estudiante                      | 15   | M      | 6 852              |
| profesor                        | 38   | M      | 6 930              |
| Profesional                     | 50   | M      | 8 229              |
| Mecánico                        | 52   | M      | 12 836             |
| Administrador                   | 29   | M      | 8 411              |
| Comerciante                     | 40   | F      | 8 281              |
| Secretaria                      | 24   | F      | 7 552              |
| <b>Promedio</b>                 |      |        | <b>8 011,80</b>    |
| <b>Promedio de agricultores</b> |      |        | <b>8 179,43</b>    |

QQ.DD = Quehaceres domésticos; M = Masculino; F = Femenino.

El grupo constituido por personas del género masculino y femenino con edades que oscilan entre 15 y 74 años, resultaron con valores normales de colinesterasa.

#### 4.2.2. Estadística Inferencial

##### Asociación entre colinesterasa y la edad

Para la determinación de una posible asociación entre estas variables, con los datos obtenidos se procedió a realizar un diagrama de dispersión y la interpretación correspondiente, como se puede observar en la figura 14.

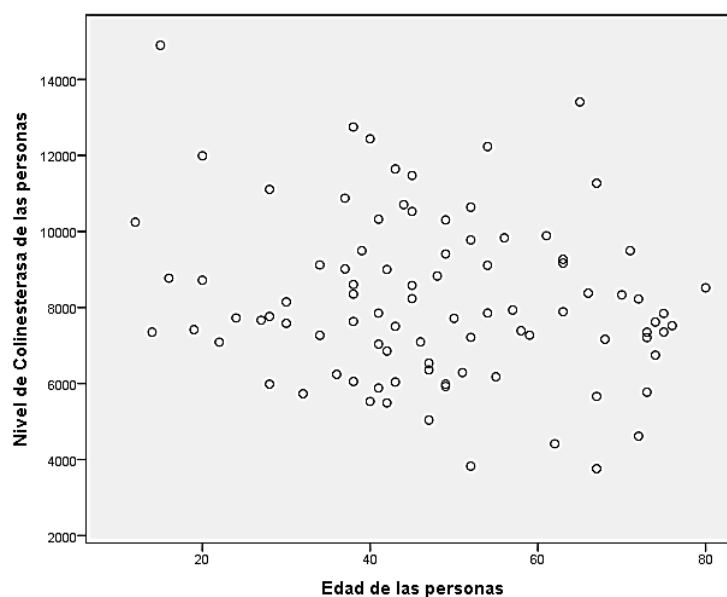


Figura 14: Diagrama de dispersión entre colinesterasa y edad

Según el diagrama de dispersión no existe correlación lineal entre las dos variables analizadas, por cuanto los datos en las coordenadas no se aproximan a una recta, por ello se procedió a determinar la correlación de Pearson y evaluar estadísticamente. En la tabla N° 18 se observa los resultados de la prueba.

Tabla 18: Correlación entre colinesterasa y edad

| ANÁLISIS DE CORRELACIÓN |                        | VARIABLE EDAD |
|-------------------------|------------------------|---------------|
| COLINESTERASA           | CORRELACIÓN DE PEARSON | -0,188        |
|                         | P VALUE                | 0,074         |
|                         | MUESTRA                | 91            |

El valor -0,188 sugiere que la correlación entre la colinesterasa y la edad es negativa muy baja, evidenciando una tendencia de disminución de la colinesterasa, conforme la edad se incrementa y viceversa.

La hipótesis nula planteada es que las variables son independientes. El P value > 0,05 nos indica que estadísticamente la tendencia no es significativa, entonces se acepta la hipótesis nula por cuánto no hay elementos suficientes para rechazarla.

#### Asociación entre la colinesterasa y la exposición

Para establecer la posible relación entre la colinesterasa y los años de exposición por las actividades ocupacionales de los agricultores, igualmente se procedió a realizar un diagrama de dispersión para evaluar su correlación como se observa en la figura 15.

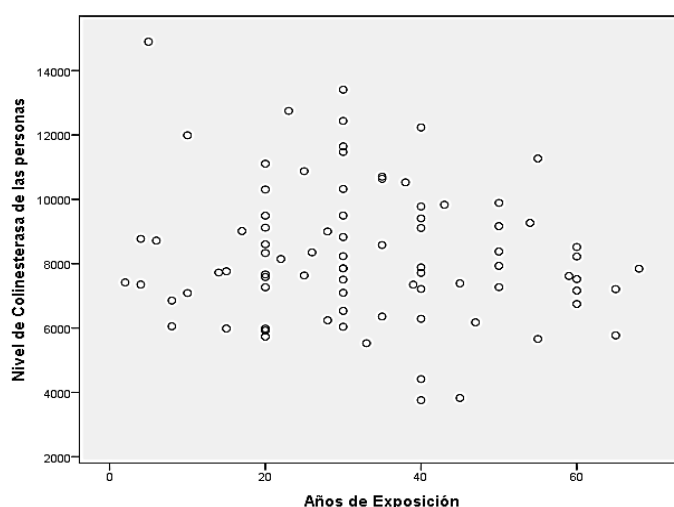


Figura 15: Diagrama de dispersión entre colinesterasa y la exposición

Según la figura 15 no existe correlación entre la colinesterasa y la exposición a los plaguicidas, no se observa una asociación lineal ya que los datos se encuentran dispersos, por ello en la tabla 19 se procede a determinar la correlación de Pearson.

Tabla 19: Correlación entre colinesterasa y la exposición

| ANÁLISIS DE CORRELACIÓN |                        | VARIABLE EXPOSICIÓN |
|-------------------------|------------------------|---------------------|
| COLINESTERASA           | CORRELACIÓN DE PEARSON | -,148               |
|                         | P VALUE                | ,180                |
|                         | MUESTRA                | 84                  |

El valor de -0,148 nos indica una correlación negativa baja entre la colinesterasa y el tiempo de exposición, esto señala una tendencia que conforme la exposición se incrementa, la colinesterasa disminuye y viceversa.

La hipótesis nula planteada es que estas dos variables son independientes. El P value  $> 0,05$ , nos indica que la tendencia no es significativa, por tanto se acepta la hipótesis nula.

#### Niveles de colinesterasa según la actividad económica

En la tabla 20 se comparan los niveles de la enzima entre el grupo de agricultores y el de personas con otras actividades, para ello se aplicó la prueba “t de Student” basándose en que si el valor de  $P < 0,05$  habrá evidencia para señalar una diferencia del nivel de colinesterasa en algún grupo.

Tabla 20: Promedios de colinesterasa según actividad económica

| Grupo  | N                       | Promedio<br>(Colinesterasa) | Error<br>Estándar     |
|--|-------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Otras actividades                              | 15                      | 8 011,80                    | 438,62                |
| Agricultor                                     | 91                      | 8 179,43                    | 225,02                |
| Prueba “t de Student”                          |                         |                             |                       |
| 95% de intervalo de confianza de la diferencia |                         |                             |                       |
| Estadístico de Prueba                          | Valor p del estadístico | Diferencia de los Promedios | Inferior Superior     |
| -,288 <sup>NS</sup>                            | ,774                    | -167,62857                  | -1323,59194 988,33480 |

El valor de 0,774 que resulta de la prueba “t de student” al 5% de significancia, establece que los promedios de colinesterasa entre los dos grupos no es estadísticamente significativo ( $P>0,05$ ). Por lo tanto existe similitud de promedios entre los grupos para la variable analizada.

#### Nivel de colinesterasa según el género

Considerando la posibilidad que el nivel de colinesterasa sea diferente entre géneros, en la tabla 21 se realizó un análisis de varianza que permita confirmar esta hipótesis.

Tabla 21: Análisis de varianza de la variable colinesterasa con respecto al género

| FUENTES DE VARIACIÓN | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F     | VALOR P |
|----------------------|-------------------|----|------------------|-------|---------|
| Entre grupos         | 14018512,768      | 1  | 14018512,768     | 3,114 | 0,081   |
| Dentro de grupos     | 400658895,517     | 89 | 4501785,343      |       |         |
| Total                | 414677408,286     | 90 |                  |       |         |

Del análisis de varianza se puede concluir que al 5% de significancia, el nivel de colinesterasa entre los dos géneros (masculino y femenino) es similar ( $p>0,05$ ). Aceptamos la hipótesis nula ya que estas variables son independientes.

En la tabla 22 se expone los resultados confirmados con la prueba Kruskal Wallis, un análisis de Varianza no paramétrico.

Tabla 22: Resultados de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis.

| PRUEBA KRUSKAL WALLIS |       |
|-----------------------|-------|
| Chi-cuadrado          | 1,289 |
| gl                    | 1     |
| VALOR P               | 0,256 |

En la prueba Kruskal Wallis al 5%, se encuentra evidencia de que los valores de la colinesterasa es similar entre las diferentes poblaciones ( $p>0,05$ ).

#### 4.3. RESULTADOS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN AGUA

Es importante mencionar que los sistemas de producción agrícola en la zona de estudio no son extensivos. Los plaguicidas se aplican en los principales cultivos utilizando equipos manuales. Algunos agricultores disponen de tanques de agua que se destina para la preparación de las mezclas y lavado de estos implementos, reduciendo de esta manera las posibilidades de contaminar las aguas superficiales.

Luego de los respectivos análisis toxicológicos (anexo 10) de las muestras de agua, empleando la metodología recomendada y equipo de cromatografía líquida de alta resolución HPLC/MS/MS para la determinación de residuos de plaguicidas, incluyendo a los inhibidores de colinesterasa (organofosforados y carbamatos), en la tabla 23 se presentan los resultados obtenidos en las muestras de agua utilizada para riego.

Tabla 23.

Tabla 23: Resultados de los análisis de agua de riego.

| Código de Muestra | Nombre de la Muestra | Pesticidas detectados | Residuos encontrados (ppb) | LD (ppb) | LC (ppb) | LMR's (ppb) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------|----------|-------------|
| 13476             | Muestra 1            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13477             | (Dandán)             | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |
| 13482             | Muestra 4            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13483             | (Lunduma)            | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |
| 13486             | Muestra 6            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13487             | (Tugula)             | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |

OF = Organofosforados; D = Ditiocarbamatos; ND = No determinados; LD = Límites detectable  
LC= Límite cuantificable; LMR's = Límite Máximo de Residuos; ppb= Partes por billón.

Los métodos analíticos utilizados en el laboratorio acreditado de AGROCALIDAD no detectaron residuos de ningún plaguicida en las muestras de agua para riego, por lo tanto es apta para esta finalidad, ya que cumple con los criterios y parámetros de calidad establecidos en la "Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua" del Ecuador (LMR's 0,1mg/L).

A continuación en la tabla 24 se detallan los resultados de las muestras de agua de consumo humano en el área de investigación.

Tabla 24: Resultados de análisis de agua de consumo humano

| Código de Muestra | Nombre de la Muestra | Pesticidas detectados | Residuos encontrados (ppb) | LD (ppb) | LC (ppb) | LMR's (ppb) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------|----------|-------------|
| 13478             | Muestra 2            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13479             | (Dandán)             | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |
| 13480             | Muestra 3            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13481             | (Lunduma)            | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |
| 13484             | Muestra 5            | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,01     | 100         |
| 13485             | (Tugula)             | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --          |

OF = Organofosforados; D = Ditiocarbamatos; ND = No determinados; LD = Límites detectable  
LC = Límite cuantificable; LMR's = Límite Máximo de Residuos; ppb = Partes por billón.

Los análisis de laboratorio aplicados a las muestras de agua que se utiliza para consumo humano no detectaron residuos de ningún plaguicida, Por lo tanto el agua cumple con los criterios de calidad según la “Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua” establecida por el Ministerio del Ambiente del Ecuador.



## CAPITULO V:

### 5. DISCUSION

#### *Determinación de niveles de colinesterasa en agricultores*

La presente investigación estableció que los agricultores se encuentran en una exposición continua a diferentes plaguicidas, entre ellos los organofosforados (profenofos, clorpirifos) y los carbamatos (Propamocarb) que se caracterizan por ser inhibidores de la colinesterasa.

El 4,39% de los agricultores presentaron disminución de la colinesterasa, este porcentaje se aproxima al 3,57% obtenido en un estudio realizado por Jadán, et al (2011) en la provincia de El Oro. Luzuriaga y Vega (2011) en las plantaciones “El Trébol” donde se aplican parcialmente medidas de bioseguridad, encontraron que el 90% de trabajadores presentaron una tendencia a la disminución de la enzima colinesterasa sérica sin llegar al límite inferior. Estos resultados nos demuestran que la exposición a organofosforados y carbamatos está afectando los niveles de colinesterasa y por ende la salud de los agricultores.

#### Nivel de colinesterasa y edad de agricultores

Los agricultores entre 10 a 20 años de edad presentaron el promedio más elevado de colinesterasa (9 914U/L), mientras que valores más bajos se presentaron para personas mayores de 70 años (7 356 U/L). Esto determina una baja correlación inversamente proporcional entre la colinesterasa y edad de los agricultores, es decir mientras la edad se incrementa la colinesterasa tiende a disminuir y viceversa, no obstante esta no es significativa (p value 0,074).

Estos resultados y conclusiones concuerdan con los obtenidos y publicados por Milla y Palomino (2002) en Carapongo Perú, así como también por Luzuriaga y Vega (2011) en las plantaciones “El Trébol”.

Estas correlaciones podrían atribuirse a factores fisiológicos de las personas, así como al efecto acumulativo de estas sustancias que se incrementa con el tiempo



(Martínez y Gómez, 2007), lo que significa que a menor tiempo de exposición a plaguicidas, disminuye el riesgo de alteración de los niveles de la colinesterasa sérica (Rodríguez et al, 2008).

#### Nivel de colinesterasa y exposición a plaguicidas

Entre las variables colinesterasa y años de exposición ocupacional de los agricultores existe una correlación inversamente proporcional, la enzima tiene una tendencia a la disminución cuando se incrementa el tiempo de exposición y viceversa, pero no llega a ser significativa (p value 0,180). Resultados similares se obtuvieron en la investigación realizada por Samaniego (2011) en trabajadores de la florícola “Flor de Azama”, y los publicados por Luzuriaga y Vega (2011) en un estudio realizado en Biblián en el personal de las plantaciones “El Trébol”.

#### Nivel de colinesterasa y actividad económica

Los resultados obtenidos nos demuestran que las personas que trabajan en la agricultura, por la exposición ocupacional a plaguicidas están propensas a la disminución del nivel de colinesterasa. Mientras que los integrantes del grupo testigo conformado por estudiantes, mecánicos, quehaceres domésticos, y otros presentaron niveles normales. Esto demuestra que la exposición a plaguicidas constituye un factor de riesgo en los niveles de esta enzima, sin embargo estadísticamente no es significativo ya que los promedios de colinesterasa de los grupos presentan similitud (p 0,774).

#### Nivel de colinesterasa y género

Los agricultores del género masculino promediaron niveles de colinesterasa más elevados que los del femenino, sin embargo estadísticamente se concluye que los niveles de colinesterasa en los dos géneros son similares (p 0,081).

Rodríguez et al (2008) en un estudio realizado en Villa de Leyva-Boyacá, Colombia, observó que el grupo femenino tiene 2.2 veces mayor riesgo de poseer niveles de colinesterasa anormales debido a la exposición a plaguicidas. Existe la posibilidad que esta esta tendencia esté relacionada con factores fisiológicos



(embarazo) u hormonales (estrógenos) del género femenino y los anticonceptivos que puede disminuir dichos niveles.

*Determinación de residuos de plaguicidas en agua para consumo humano y riego*

Los análisis toxicológicos efectuados en las respectivas muestras de agua, no permitieron detectar la presencia de residuos de plaguicidas.

En esta área investigativa se han realizado algunos trabajos similares, obteniéndose resultados diferentes. El Centro de Estudios y Asesoría en Salud (CEAS) publica un informe sobre impactos ambientales de la floricultura en la cuenca del río Granobles de nuestro país, y revela que en distintas muestras de agua se encontraron organoclorados como endosulfan; organofosforados como dimetoato, clorpirifos, y diazinon; carbamatos como carbofuran y otros (CEAS, 2009). En muestreos de agua de diferentes canales de riego en las comunidades de Quilloac y San Rafael–Tucayta–Cañar se encontraron evidencias de contaminación, determinándose la presencia de residuos de carbofuran que excedieron los límites de tolerancia (Alulema, 2008).

La presencia o ausencia de residuos de plaguicidas en muestras de agua destinada para consumo humano o riego, pueden estar ligados a varios factores que estarían dificultando o favoreciendo la detección de estas sustancias tóxicas. Estas causas podrían estar relacionadas con las condiciones ambientales y meteorológicas, tipos de sistemas de producción agrícola, cantidad de plaguicidas usados en los cultivos, los niveles de detección de los aparatos utilizados para el análisis en laboratorio, y/o las características físico-químicas de las sustancias (Yanggen, 2003)



## CAPITULO VI:

### 6. 1. CONCLUSIONES

- En la zona de estudio existen factores favorables para la agricultura, los productores para el control de plagas y enfermedades que afectan los cultivos utilizan diversos plaguicidas, con ello se ha logrado incrementar la producción agrícola. Sin embargo las diferentes mezclas de estas sustancias y su aplicación sin los equipos de protección personal (EPP) y bioseguridad, incrementa el riesgo de afección para la salud de los agricultores. Adicionalmente se hace evidente la falta de un asesoramiento técnico continuo, que considere los problemas fitosanitarios y los impactos en el ambiente y salud pública que ocasionan estas sustancias tóxicas.
- Los métodos analíticos utilizados en laboratorio determinaron valores de colinesterasa sérica inferiores a los rangos normales en muestras sanguíneas de agricultores. Esto nos permite concluir que estas personas se encuentran expuestos a plaguicidas organofosforados y/o carbamatos, evidenciándose la tendencia a una disminución de los niveles de colinesterasa, confirmándose la hipótesis planteada.
- Existe una correlación inversamente proporcional entre el nivel de colinesterasa y el tiempo de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos, sin embargo tal relación estadísticamente no es significativa. Por tal razón se concluye que las variables son independientes y se acepta que bajo las condiciones actuales de aplicación de plaguicidas, la exposición no se encuentra alterando significativamente el nivel de la colinesterasa.
- Existe una correlación inversamente proporcional entre el nivel de colinesterasa y la edad de los agricultores, pero esta relación no es significativa. Por lo tanto se acepta la independencia de estas variables.

- El análisis estadístico descriptivo establece que la desviación estándar y coeficiente de variación de los valores de colinesterasa en el grupo testigo son inferiores, y los agricultores presentan mayor variabilidad de los niveles de colinesterasa con respecto al promedio. La prueba de “t de Student” determina que las diferencias no son significativas, por lo tanto se concluye que existe similitud de los promedios de colinesterasa entre el grupo de agricultores y el grupo testigo.
- La desviación estándar de los datos indica que los valores del nivel de colinesterasa en personas del género masculino tienen mayor variabilidad con relación al promedio, comparados con el género femenino. Sin embargo el análisis de variancia (ANOVA) establece que el nivel de colinesterasa entre los dos géneros es similar.
- 
- La no detección en laboratorio de residuos de plaguicidas organofosforados y/o carbamatos se considera no concluyente, pudiendo atribuirse a factores tales como: muestreo realizado en época de verano (esto pudo disminuir las posibilidades de contaminación por escorrentía de las aguas subterráneas y superficiales). Los plaguicidas organofosforados se hidrolizan fácilmente principalmente por foto degradación, su volatilidad es muy variada según las condiciones climáticas. También hay que considerar la adsorción y la transformación de los plaguicidas en compuestos diferentes a la composición inicial y finalmente se considera que la cantidad global de plaguicidas que se utilizan en la producción agrícola en la zona es limitada comparada con los utilizados en cultivos extensivos (banano, arroz).
- Se determinó que en la producción agrícola de las áreas de estudio se utilizan una gran variedad de grupos de plaguicidas como: los organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos, piretroides, benzimidazoles, cloronitrilos, carboximidas, neonicotinoideos, cúpricos, triazoles, clortalonil y abamectinas. Algunos de estos grupos se



encuentran clasificados como altamente tóxicos. Un período prolongado de exposición a bajas dosis podrían ocasionar daños a la población y al ecosistema.

## 6.2 RECOMENDACIONES.

- Los agricultores trabajan en sus predios y lo hacen sin aplicar todas las medidas de bioseguridad (uso de equipos de protección personal), siendo necesario que desarrollen una cultura de protección para reducir los riesgos. Por su constante exposición, se sugiere el control médico periódico especialmente en la determinación de colinesterasa.
- En el período de investigación no se detectó la presencia de residuos de plaguicidas en muestras de agua de riego y de consumo humano, sin embargo estos resultados no son concluyentes. Por ello se recomienda realizar investigaciones complementarias para confirmar o refutar dicha contaminación.
- El Ministerio del Ambiente debería impulsar proyectos sobre análisis del riesgo ambiental y evaluación de impactos generados por el uso y dispersión de agroquímicos, así como la implementación de políticas de bioseguridad para el manejo y disposición final de los desechos peligrosos producidos por la actividad agrícola.
- Debe existir una coordinación Interinstitucional entre el Ministerio del Ambiente (MAE), Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), Ministerio de Salud (MSP), Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD) y otras que están vinculadas al sector productivo agropecuario para implementar eventos de capacitación integral, regular la comercialización, y velar por el cumplimiento de la Legislación Ecuatoriana sobre la importación y distribución de plaguicidas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alulema, R. (2008). *Contaminación por plaguicidas en los sistemas de producción andina de las comunidades de Quilloac y San Rafael –Tucayta-Cañar*. Tesis previa a la obtención del título de Magíster en Salud con Enfoque de Ecosistemas. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca-Ecuador.

Aquino, S., Castro, C. (2008). *Análisis de residuos de plaguicida organofosforados (Methamidophos) en muestras de papa de mercados de Lima Metropolitana*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica Lima – Perú. Pág.21, 22  
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1/aquino\\_am.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1/aquino_am.pdf).

Badii, M., Varela, S. (2008). *Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la salud y el Ambiente*. Culcyt/Toxicología de Insecticidas. Universidad Autónoma de Nuevo León Pág. 7.  
[dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2881125.pdf](http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2881125.pdf).

Bravo, L. (2012). *Toxicología Ambiental* (Memoria Monográfica) Maestría en Toxicología Industrial y Ambiental. Universidad de Cuenca. Pág. 46, 47

Bruno, A. (2003). *Estimación de los efectos ambientales y socioeconómicos del uso de plaguicidas en sistemas de producción fruti-vitícolas del departamento Canelones*. Tesis de graduación (UNCIEP, Facultad de Ciencias). Chile

Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, (2001) *Manual de evaluación y manejo de sustancias tóxicas en aguas superficiales*. Organización Panamericana de la Salud (OPS) - División de Salud y Ambiente. Pág. 4  
<http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/cd53/040922.pdf>

Coll, M., Cortés, J., Sauma, D., (2004) *Características físico-químicas y*



*determinación de plaguicidas en el agua de la laguna de Gandoca, Limón, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 52*

[www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442004000600004...sci...](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442004000600004...sci...)

Constitución política del Ecuador (2008). [biblioteca.espe.edu.ec/upload/.pdf](http://biblioteca.espe.edu.ec/upload/.pdf)

Da Ros *la contaminación de aguas en ecuador: una aproximación económica*  
[books.google.com.ec/books?isbn=9978041095](http://books.google.com.ec/books?isbn=9978041095).

Delgadillo, E. (2008). *Metodología para el análisis de riesgos ambientales*  
Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias en Metodología de la Ciencia, México, DF.

De Romedi, A., Nassetta, M., Córpora, R., (2011). Laboratorio de Pesticidas, Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba. CEPROCOR, Revista de Salud Pública, (XV) 2:27-35. Pág 29

Fishel, F. (2012) *Pesticidas y Colinesterasa*. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville. Traducido del inglés por Rodrigo Díaz. <http://edis.ifas.ufl.edu/>. Pág. 1

Gentile, N., Mañas, F., Peralta, L., Bosch, B., Gorla, N., (2010) *Encuestas y Talleres educativos sobre plaguicidas en pobladores rurales de la comuna de Río de los Sauces, Córdoba*. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC). Pág.40  
[http://www.sertox.com.ar/img/item\\_full/30004.pdf](http://www.sertox.com.ar/img/item_full/30004.pdf).

Gómez, M. (2011) *Determinación de micotoxinas en huevo utilizando un método de extracción basado en el procedimiento quechers y análisis mediante cromatografía de líquidos de ultra presión acoplada a espectrometría de masas en tándem*. Universidad de Almería departamento de hidrogeología y química analítica Pág. 22 y 23.  
[repositorio.ual.es:8080/jspui/bitstream/10835/489/1/](http://repositorio.ual.es:8080/jspui/bitstream/10835/489/1/)

González, G. (2011) *Intoxicación por plaguicidas: Casuística del Hospital*



*Universitario del Caribe y de la Clínica Universitaria San Juan de Dios de Cartagena.* Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina Departamento de Toxicología. pág. 15, 36  
[www.bdigital.unal.edu.co/4258/1/598928.2011.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/4258/1/598928.2011.pdf)

Guaiteiro, L., (2010) *Propuesta metodológica para la evaluación de riesgo ambiental causado por el uso de plaguicidas en sistemas hortofrutícolas de la sabana de Bogotá.* Trabajo de grado presentado para optar el título de Magister en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Escuela de posgrados

Guía para la gestión ambiental responsable de los plaguicidas químicos de uso agrícola en Colombia. Pág 21  
[cep.unep.org/repcar/...y...andi/Guia%20ambiental%20plaguicidas.pdf](http://cep.unep.org/repcar/...y...andi/Guia%20ambiental%20plaguicidas.pdf)

Henao, S., Nieto, O *Plaguicidas de tipo organofosforados y carbamatos.* Publicación de INCAP MDE-025. Pág.9, 10, 11.

Hernández y Beltrán, (1995). *Análisis de residuos de plaguicidas en aguas* Departamento de Ciencias Experimentales. Universidad Jaime I, Castellón

Huamani-Pacsi, C., Sánchez, R., Cataño, H., Huguet, R. (2005). *Actividad de colinesterasa plasmática y sintomatología presente en fumigadores del valle de Mala, expuestos a plaguicidas anticolinesterásicos.* Laboratorio de Biología Molecular. Instituto de Química Biológica, Microbiología y Tecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica Pág. 82  
[sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v08\\_n2/PDF/a03v8n2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v08_n2/PDF/a03v8n2.pdf)

Hurtado, C., Gutiérrez, M., (2005) *Enfoque del Paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados.* Revista Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Vol. 53 No. 4 Pág. 247, 248, 252  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120&script=sci_arttext).

Ibarra, E., Linares, T. (2012) *La inhibición de la actividad colinesterásica*



*sanguínea como biomarcador de exposición a compuestos organofosforados y carbamatos.* Revista Cubana de Salud y Trabajo La Habana Cuba. Pág. 59, 60, 62  
[http://bvs.sld.cu/revistas/rst/vol13\\_3\\_12/rst09312.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/rst/vol13_3_12/rst09312.pdf).

Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) datos de censo 2010

[www.ecuadorencifras.gob.ec](http://www.ecuadorencifras.gob.ec)

Jáquez, S., González, L., Irigoyen, R., Ortega, V. (2013) *Comportamiento de plaguicidas persistentes en el medio ambiente.* Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional, Sigma 119, Pág.1, 8. 12,13  
<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/.pdf>.

Ley Orgánica de la Salud

[www.cicad.oas.org/fortalecimiento.../PDF/EC/ley\\_organica\\_de\\_salud.pdf](http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento.../PDF/EC/ley_organica_de_salud.pdf).

Legislación Internacional sobre Plaguicidas

[www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v20n2/art9v20n2.pdf](http://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v20n2/art9v20n2.pdf)

Luzuriaga, M., Vega, P., (2011) *Tesis: Determinación de colinesterasa sérica en trabajadores y personal administrativo de las plantaciones “el trébol” ubicadas en el cantón Biblián.* Facultad de Ciencia Químicas- Universidad de Cuenca. Cuenca- Ecuador. Pág. 14.

Manring, J. (1997). *Evaluación del riesgo por exposición a plaguicidas.* Centro Panamericano de Ecología Humana y División de Salud y Ambiente. OPS-OMS. México.

Martínez V, C., Gómez A, S. (2007) *Riesgo Genotóxico por Exposición a Plaguicidas en Trabajadores Agrícolas.* Revista Internacional Contaminación Ambiental. D.F. México. [slga@atmosfera.unam.mx](mailto:slga@atmosfera.unam.mx). Pág. 187. 188, 189,190.



Martínez Vidal, J., Rodríguez, M., Belmonte Vega, A., Garrido, A (2004).

*Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería.* Dpto. Química Analítica, Universidad de Almería, España. Pág. 1, 2

[www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/.../197/194](http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/.../197/194)

Milla, O., Palomino, W., (2002). *Niveles de colinesterasa sérica en Agricultores de la Localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas.* Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. Pág. 4  
[cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1100/1/palomino\\_hw.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1100/1/palomino_hw.pdf)

Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales España (1999) *Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética.* Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. Pág. 2.

[www.asquifyde.es/uploads/documentos/NTP 512.](http://www.asquifyde.es/uploads/documentos/NTP_512)

Ministerio del Ambiente – MINAM, 2011. *Guía de Evaluación de Riesgos Ambientales* Lima 27, Perú. Pág 12

[redpeia.minam.gob.pe/.../4d80cbb8f232b\\_Guia\\_riesgos\\_ambientales.pdf](http://redpeia.minam.gob.pe/.../4d80cbb8f232b_Guia_riesgos_ambientales.pdf)

Ministerio de Protección Social, Bogota (2007). *Guía de atención integral de salud ocupacional para Trabajadores Expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa (organofosforados y carbamatos).* Pág. 33, 35, 36, 37.

[www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf.](http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf)

Niño, Y. (2010). *Determinación del nivel de exposición a plaguicidas por consumo de agua de pozo y la relación con los posibles efectos en la salud de la población residente en la vereda chorrillos del sector rural de Suba.* Facultad de medicina, maestría de Salud Pública Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. Pág. 3, 4, 5.

[www.bdigital.unal.edu.co/3968/1/598233.2011.pdf.](http://www.bdigital.unal.edu.co/3968/1/598233.2011.pdf)

Norma de calidad Ambiental y descarga de efluentes: recurso agua Anexo 1 Libro



- VI. del Texto Unificado de Legislación Secundaria Ambiental.  
[industrias.ec/.../Reforma%20Anexo%2028%20feb%202014%20FINAL](http://industrias.ec/.../Reforma%20Anexo%2028%20feb%202014%20FINAL)
- Ongley, E. (1997). *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos Hídricos*. Estudio FAO Riego y Drenaje Organización de las Naciones unidas para la agricultura y la alimentación, Canadá Pág. 81, 90  
[books.google.com/books/.../Lucha\\_contra\\_la\\_contaminación\\_agrícola.html](http://books.google.com/books/.../Lucha_contra_la_contaminación_agrícola.html).
- Ortíz, F., López, M., Fernández, M., Yruela, M., Navas, J., y Ejido, J. (2003) *Aplicación de plaguicidas* (2da edición) Junta de Andalucía Consejería de Agricultura y Pesca
- Pérez, R. (2012). *Agricultura y contaminación del agua*. Instituto de Investigaciones Económicas, Universidad Nacional Autónoma de México Pág.15, 29.  
[ru.iiec.unam.mx/1885/1/AGRIContAgua-IMPRESIÓN-12-10-2012.pdf](http://ru.iiec.unam.mx/1885/1/AGRIContAgua-IMPRESIÓN-12-10-2012.pdf).
- Pérez, Ma. A., Segura, A., García, R. Colinas, T. Pérez, M., Vásquez, A. Navarro, H. (2008). *Residuos de plaguicidas organofosforados en cabezuela de brócoli (brassica oleracea) determinados por cromatografía de gases* México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. Pág. 104  
[www.journals.unam.mx](http://www.journals.unam.mx) › Inicio › Vol. 25, No 2.
- Pineda, J. (2007) *Plaguicidas: Monitoreo Efectivo de la Exposición a carbamatos Órganofosforados*. Aceptado: 28 de diciembre de 2007. Pág. 177.  
[www.ladep.es/ficheros/documentos/21\(2\).pdf](http://www.ladep.es/ficheros/documentos/21(2).pdf).
- Pitarch, E (2001) *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de plaguicidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas*. Tesis doctoral, Departament de Ciencies Experimentals Química Analítica. pág.22  
<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10403/pitarch.pdfsequence=1>
- Plazas, C., Olarte M., (2011) *Intoxicación por inhibidores de la colinesterasa*



*(organofosforados y carbamatos) en niños y adolescentes: revisión de la literatura y guía de manejo.* Reporte de caso, Acta Colombiana de Cuidado Intensivo Pág. 27,28

<http://www.amci.org.co/userfiles/file/revistapdf/2011/intoxicacion.pdf>.

Ramírez, J., Lacasaña, M. (2001) *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición*. Instituto Nacional de Salud Pública. Dirección de Ciencias Ambientales. Cuernavaca. Morelos. México. Pág. 68, 69, 71, 73  
[www.scsmt.cat/Upload/TextCompleto/2/1/216.pdf](http://www.scsmt.cat/Upload/TextCompleto/2/1/216.pdf).

Rodríguez, C., Garzón, M., Parra, R., Mojica, G. (2010) *Concentración de colinesterasa eritrocitaria en cultivadores de tomate en invernadero expuestos a plaguicidas organofosforados en Villa de Leyva*. Universidad de Boyacá. Pág. 3  
[virtual.uptc.edu.co/revistas2013f/index.php/shs/article/download/.../1875](http://virtual.uptc.edu.co/revistas2013f/index.php/shs/article/download/.../1875)

Roldán, L., Sánchez, S. (2004), F. *Secuelas neuropsicológicas de las intoxicaciones agudas por plaguicidas inhibidores de las colinesterasas*. Dpto. de Neurociencia y Ciencias de la Salud. Universidad de Almería. España. Revista de Neurología (Volumen 38 Número 6)

Samaniego, C., (2011) *Tesis: Determinación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria en trabajadores de la finca florícola Flor de Azama expuestos a pesticidas organofosforados*. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba –Ecuador. Pág. 12, 13, 14.

Sánchez, O. (2008). *Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en el Parque Natural de La Albufera de Valencia*. Memoria de Tesis Doctoral.  
[stream/handle/10251/2342/tesisUPV2815.pdf?sequence=1](http://stream/handle/10251/2342/tesisUPV2815.pdf?sequence=1)

Torres, D., Capote, T. (2004). *Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental*. Estado de Falcón. Venezuela Universidad "Lisandro Alvarado" Pág. 2, 4.



<http://revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/>

Varona, M., Henao, G., Lancheros, A., Murcia, A., Díaz, S. (2007) *Factores de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en el departamento del Putumayo, 2006*. Grupo de Salud Ambiental, Instituto Nacional de Salud, Bogotá Colombia.

<http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572007000300009&script>

Yanggen, D., Crissman, Ch., Espinoza, P. (2003). Los Plaguicidas "Impactos en producción, salud y medio ambiente en Carchi, Ecuador". Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Ediciones Abya-Yala Pág. 50, 51, 52.

Yucra, S., Gasco, M., Rubio, J. González, G. (2008). *Exposición ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados: efecto sobre la salud reproductiva masculina*. Rev. Med. Exp. Salud Pública, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú. Pág. 398.

<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n4/a09v25n4.pdf>.



# ANEXOS

## Anexo 1: Zona de estudio



Planta de tratamiento de agua Dandán



Cultivos a campo abierto



Canal de riego secundario (Lunduma)



Cultivos bajo cubierta Dandán

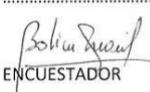
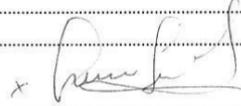


## Anexo 2. Formularios utilizados para encuestas a los agricultores

| ENCUESTA SOBRE USO DE PLAGUCIDAS AGRICOLAS  |  |                                   |                          |
|---|--|-----------------------------------|--------------------------|
| SECTOR... <u>DANDAN</u> .....   |  | FECHA <u>Julio 2013</u>           |                          |
| CULTIVO A CAMPO ABIERTO <input checked="" type="checkbox"/>                               | CULTIVOS PRINCIPALES                           |                                   |                          |
| INVERNADERO <input checked="" type="checkbox"/>   | CEBOLLA <input checked="" type="checkbox"/>    | BROCOLI                           | <input type="checkbox"/> |
|   | MAIZ <input type="checkbox"/>                  | FRUTALES                          | <input type="checkbox"/> |
|   | TOMATE <input checked="" type="checkbox"/>     | AJO                               | <input type="checkbox"/> |
|   | HORTALIZAS <input checked="" type="checkbox"/> | OTROS                             | <input type="checkbox"/> |
| PLAGUCIDAS QUE UTILIZA  |  |                                   |                          |
| INSECTICIDAS  | FUNGICIDAS                                     | HERBICIDAS                        | OTROS                    |
| <u>Carbaryl</u>   | <u>Dacthil</u>                                 | <u>Glifosato</u>                  | <u>Abamectina</u>        |
| <u>Fenix</u>  | <u>Da-D-Mil</u>                                |                                   |                          |
| <u>Clorpirifos</u>  | <u>Score - Mahcoeb</u>                         |                                   |                          |
| OBSERVACIONES... <u>2 veces por semana en tomate, 3 veces en maiz en todo el ciclo</u>    |  |                                   |                          |
| AGRICULTOR <u>[Signature]</u><br>N° de Cédula <u>010292905-6</u><br><u>Segundo Guaman</u> |  | <u>[Signature]</u><br>ENCUESTADOR |                          |

| ENCUESTA SOBRE USO DE PLAGUCIDAS AGRICOLAS   |   |                                   |                                     |
|--|---|-----------------------------------|-------------------------------------|
| SECTOR... <u>DANDAN</u> .....  |   | FECHA <u>Julio 2013</u>           |                                     |
| CULTIVO A CAMPO ABIERTO <input checked="" type="checkbox"/>                              | CULTIVOS PRINCIPALES                        |                                   |                                     |
| INVERNADERO <input checked="" type="checkbox"/>  | CEBOLLA <input checked="" type="checkbox"/> | BROCOLI                           | <input type="checkbox"/>            |
|  | MAIZ <input type="checkbox"/>               | FRUTALES                          | <input checked="" type="checkbox"/> |
|  | TOMATE <input checked="" type="checkbox"/>  | AJO                               | <input type="checkbox"/>            |
|  | HORTALIZAS <input type="checkbox"/>         | OTROS                             | <input type="checkbox"/>            |
| PLAGUCIDAS QUE UTILIZA   |   |                                   |                                     |
| INSECTICIDAS   | FUNGICIDAS                                  | HERBICIDAS                        | OTROS                               |
| <u>Imidan</u>  | <u>Dacthil</u>                              |                                   | <u>Vitavax</u>                      |
| <u>Radian</u>  | <u>Da-D-Mil</u>                             |                                   | <u>Furadan</u>                      |
| <u>Hermetia</u>  | <u>Escaia</u>                               |                                   |                                     |
| OBSERVACIONES... <u>1 vez / semana</u>   |   |                                   |                                     |
| AGRICULTOR <u>[Signature]</u><br>N° de Cédula <u>010057750-1</u><br><u>Manuel Guaman</u> |   | <u>[Signature]</u><br>ENCUESTADOR |                                     |

| ENCUESTA SOBRE PLAGUICIDAS EN ALMACENES AGROPECUARIOS   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| <b>NOMBRE DEL ESTABLECIMIENTO</b> <u>AGRIPEC S.A.</u>   |  |  |  |
| <b>Dirección:</b> <u>JOSE PERALTA S/N</u>   |  |  |  |
| <b>Propietario:</b> <u>ING. FERNANDO CABRILLO DURAN</u>   |  | <b>Teléfono:</b> .....   |  |
| <b>C.I./RUC:</b> <u>0105640296</u>  |  | <b>Fecha:</b> .....  |  |
| <b>1.- CONSTRUCCIONES E INSTALACIONES:</b>  |  |  |  |
| <b>Local comercial</b> <input checked="" type="checkbox"/>  | <b>Vivienda</b> <input type="checkbox"/>                 | <b>Viviendas aledañas:</b> SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>                                  |  |
| <b>ILUMINACION</b>  |  | <b>VENTILACION</b>   |  |
| <b>M. Buena</b> <input type="checkbox"/>  | <b>M. Buena</b> <input type="checkbox"/>                 | <b>SERVICIOS BASICOS</b>   |  |
| <b>Buena</b> <input checked="" type="checkbox"/>  | <b>Buena</b> <input checked="" type="checkbox"/>         | <b>Agua potable</b> <input checked="" type="checkbox"/>  |  |
| <b>Deficiente</b> <input type="checkbox"/>  | <b>Deficiente</b> <input type="checkbox"/>               | <b>Luz eléctrica</b> <input checked="" type="checkbox"/>   |  |
|   |  | <b>Alcantarillado</b> <input checked="" type="checkbox"/>  |  |
| <b>2.- PRODUCTOS QUE COMERCIALIZA:</b>  |  |  |  |
| <b>MEDICAMENTOS VETERINARIOS</b> <input checked="" type="checkbox"/>  |  | <b>CATEGORIA TOXICOLOGICA</b>  |  |
| <b>AGROQUIMICOS</b> <input checked="" type="checkbox"/>   |  |  |  |
| <b>Fungicidas</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>MARCOB, RIDOMIL</u>  | <b>Etq. Roja</b> <input checked="" type="checkbox"/>     |  |  |
| <b>Herbicidas</b> <input checked="" type="checkbox"/>   | <b>Etq. Azul</b> <input checked="" type="checkbox"/>     |  |  |
| <b>Insecticidas</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>CLORPIRIFOS, CONFIDOR</u>  | <b>Etq. Amarilla</b> <input checked="" type="checkbox"/> |  |  |
| <b>Carbamatos</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>PROPAMOCARB</u>  | <b>Etq. Verde</b> <input checked="" type="checkbox"/>    |  |  |
| <b>Organofosforados</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>CURACEN</u>  |  |  |  |
| <b>Piretroides</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>KARATE - CYPERMETERIN</u>   |  |  |  |
| <b>Tiocarbamatos</b> <input checked="" type="checkbox"/> <u>PROPINEB</u>  |  |  |  |
| <b>Otros</b> <input checked="" type="checkbox"/>  |  |  |  |
| <b>3.- ASPECTOS SANITARIOS Y TECNICOS</b>   |  |  |  |
| <b>Limpieza e Higiene</b>   |  | <b>Prendas de Protección</b> <input checked="" type="checkbox"/>   |  |
| <b>Buena</b> <input checked="" type="checkbox"/>  | <b>Desechos químicos</b> <input type="checkbox"/>        |  |  |
| <b>Deficiente</b> <input type="checkbox"/>  | <b>desechos orgánicos</b> <input type="checkbox"/>       |  |  |
| <b>OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES:</b> <u>Se encuentran productos de categoría tóxica alta con etiqueta roja, que se comercializan en recinto del Ing. Agrónomo.</u> |  |  |  |
| <br><b>ENCUESTADOR</b>   |  | <br><b>PROPIETARIO/REPRESENTANTE LEGAL</b> |  |



## Anexo 4. Población según actividades de la zona de estudio

|  |           |
|--|-----------|
| Rama de actividad (Primer nivel)             |           |
| Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca | 55        |
| Explotación de minas y canteras              | 1         |
| Industrias manufactureras                    | 1         |
| Otras actividades de servicios               | 2         |
| no declarado                                 | 4         |
| <b>Total</b>                                 | <b>63</b> |

|   |            |
|---|------------|
| Rama de actividad (Primer nivel)                    |            |
| Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca        | 92         |
| Explotación de minas y canteras                     | 3          |
| Construcción  | 1          |
| Transporte y almacenamiento                         | 1          |
| Otras actividades de servicios                      | 3          |
| Actividades de los hogares como empleadores         | 1          |
| no declarado  | 1          |
| <b>Total</b>  | <b>102</b> |
| Rama de actividad (Primer nivel)                    |            |
| Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca        | 72         |
| Explotación de minas y canteras                     | 1          |
| Construcción  | 1          |
| Comercio al por mayor y menor                       | 2          |
| Transporte y almacenamiento                         | 1          |
| Actividades de servicios administrativos y de apoyo | 1          |
| Administración pública y defensa                    | 4          |
| Enseñanza   | 3          |
| no declarado  | 4          |
| <b>Total</b>  | <b>89</b>  |

Fuente: Censo del INEC (2010)

## Anexo 5. Documento de consentimiento informado



D.M.V.Z BOLÍVAR AUQUILLA GONZALEZ

UNIVERSIDAD DE CUENCA

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DETERMINACION DE COLINESTERASA

Se invita a los agricultores a participar en la investigación **"Efectos contaminantes y tóxicos causados por uso de plaguicidas en zonas productivas del Cantón Santa Isabel"** con la finalidad de determinar posibles intoxicaciones debido al manejo de estos pesticidas.


La participación es voluntaria y para ello se requiere de una sola muestra de sangre en una cantidad aproximada de 5 c.c. la misma que será extraída del brazo, esta será utilizada solo para esta investigación y luego se destruirá. Los riesgos son mínimos debido a molestias por el dolor del pinchazo.

Esta investigación beneficiará a las personas participantes y también a la comunidad, debido a que los análisis no tendrán costo alguno, la información será confidencial y los resultados serán informados oportunamente.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. Alpreguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado.

Doy mi consentimiento **VOLUNTARIAMENTE** para la realización del procedimiento en esta investigación como participante y firmo a continuación:

Nombre del Participante Miguel Yungasaca Arriaga

Firma del Participante  C.I. 0102394640

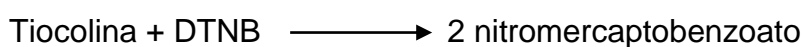
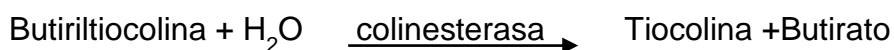
Fecha 20-VII-2013

## Anexo 6. Método analítico para colinesterasa

**Principio del método para determinación de colinesterasa.**

La colinesterasa hidroliza la butiriltiocolina a tiocolina y butirato.

La tiocolina reacciona con el ácido 5.5'-ditiobis-2-nitrato (DTNB) y formando 2-nitromercaptobenzoato, según el siguiente esquema de reacción:



La velocidad de formación de 2-nitromercaptobenzoato, determinado fotométricamente, es proporcional a la actividad enzimática de colinesterasa en la muestra ensayada.

Los reactivos necesarios se indican en el siguiente cuadro N°1 que se presenta a continuación.

**Reactivos para prueba de colinesterasa.**

|                         |                            |                          |
|-------------------------|----------------------------|--------------------------|
| <b>R 1</b><br>Tampón    | Fosfato pH 7,7<br>5,5 DTNB | 50 mmol/L<br>0,25 mmol/L |
| <b>R 2</b><br>Substrato | Butiriltio<br>colina       | 7 mmol/L                 |

**Preparación:**

- Reactivo de trabajo (RT<sub>1</sub>): Disolver el contenido del vial R1 en 50 ml de agua destilada.
- Reactivo de trabajo (RT<sub>2</sub>): Disolver el contenido del vial R2 en 3 ml de agua destilada.

Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

**Conservación y estabilidad**

Todos los componentes son estables, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2 - 8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

**Muestras:** Suero o plasma. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

**Procedimiento:**

## 1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: . . . . . 405 nm

Cubeta: . . . . . 1 cm paso de luz

Temperatura constante. . . . . 37°C

## 2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

## 3. Pipetear en una cubeta

- 1,5 ml de RT1.
- 50 µL de RT2.
- 10 µL muestra diluida 1/2 con CNa 9 g/L.

## 4. Mezclar y esperar 30 segundos.

## 5. Leer la absorbancia (A) el espectrofotómetro semiautomático realiza la lectura cada 30 segundos, durante 1,5 minutos y luego determina el promedio.

**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica, para ello se cuenta con valores de referencia indicadas en la tabla N°9.

**Valores de Referencia de colinesterasa:**

| 25°C            | 30°C             | 37°C                    |
|-----------------|------------------|-------------------------|
| 3000 – 9300 U/L | 3714 – 11513 U/L | <b>4659 – 14443 U/L</b> |

Estos valores son orientativos, por lo que se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00006 ΔA / 30 s.


Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales



Anexo 7. Formularios y fichas utilizadas para muestreo de agua

| FICHA TECNICA DE LAS MUESTRAS                  |         |                       |                                |                     |
|--|---------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|
| REMITENTE: Dr. Bolívar Auquilla G.             |         |                       |                                |                     |
| TELF: 2818192                                  |         | Cel. 0997181502       |                                |                     |
| DIRECCION: Av. Don Bosco y Felipe II           |         |                       | E.MAIL: bolivarag1@hotmail.com |                     |
| CANTON: Cuenca                                 |         | PROVINCIA: Azuay      |                                |                     |
| FECHA:   |         |                       |                                |                     |
| PROPIETARIO: Junta General de Usuarios de Agua |         |                       |                                |                     |
| Sectores: Dandan, Lunduma y Tugula             |         | Cantón: Santa Isabel. |                                | Provincia: Azuay    |
|  |         |                       |                                |                     |
| TIPOS DE MUESTRAS                              | Volumen | Nº Muestras           | Ref. de muestra                | Código/Análisis     |
| Agua   | 1 litro | 1                     | Para riego                     | 23.04.004/23.04.009 |
| Agua   | 1 litro | 2                     | Para consumo                   | 23.04.004/23.04.009 |
| Agua   | 1 litro | 3                     | Para consumo                   | 23.04.004/23.04.009 |
| Agua   | 1 litro | 4                     | Para riego                     | 23.04.004/23.04.009 |
| Agua   | 1 litro | 5                     | Para consumo                   | 23.04.004/23.04.009 |
| Agua   | 1 litro | 6                     | Para riego                     | 23.04.004/23.04.009 |
| ANALISIS SOLICITADOS                           |         |                       |                                |                     |
|  |         |                       |                                |                     |
| Residuos de plaguicidas                        |         |                       |                                |                     |

# Formulario para envío de muestras de agua

|  <b>AGROCALIDAD</b><br>AGENCIA ECUATORIANA<br>DE ASESORAMIENTO<br>DE LA CALIDAD DEL AGRO   | <b>LABORATORIO DE SUELOS, FOLIARES Y AGUAS</b><br><br><b>ORDEN DE TRABAJO</b><br><br>Número: <u>01-2213-002</u> | Hoja 1 de 1.<br><br><br>Rev. 1 |                               |                  |   |
|---|---|--------------------------------|-------------------------------|------------------|---|
|   |   |                                |                               |                  |   |
| Fecha de recepción: <u>30/09/2013</u> No. de factura: <u>...90.13790...</u> Por US. \$ : <u>...478,80...</u><br>Área: <u>San'dad Vegetal.</u> Autorización No. _____  |   |                                |                               |                  |   |
| <b>DATOS DEL CLIENTE</b>  |   |                                |                               |                  |   |
| EMPRESA/INSTITUCIÓN: _____ ÁREA: <u>San'dad Vegetal</u><br>PERSONA DE CONTACTO: <u>BOLIVAR AUQUILLA GONZALES</u><br>DIRECCIÓN: <u>Felipe Segundo y Don Bosco</u><br>PARROQUIA: <u>Yumbura</u> CANTÓN: <u>Cuevas</u> PROVINCIA: <u>Azuay</u><br>TEL.: <u>2218142</u> FAX: _____      EMAIL: <u>bolivar.ag1@hotmail.com</u>   |   |                                |                               |                  |   |
| <b>DATOS DE LA MUESTRA</b>  |   |                                |                               |                  |   |
| PROVINCIA: <u>Azuay</u> CANTÓN: <u>Santa Isabel</u> PARROQUIA: _____<br>ALTITUD: _____      ULTIMO CULTIVO: _____      PROXIMO CULTIVO: _____      FETILIZO: _____<br>TIPO DE MUESTRA:      Suelo <input type="checkbox"/> Foliar <input type="checkbox"/> Agua <input checked="" type="checkbox"/><br>ESTADO DE LA MUESTRA:      Envase apropiado <input type="checkbox"/> Etiquetado <input checked="" type="checkbox"/><br>Cantidad de muestra: <u>5</u> Información completa <input type="checkbox"/> Estándar <input type="checkbox"/> Georeferencia <input type="checkbox"/>                  |   |                                |                               |                  |   |
| <b>TIPOS DE ANÁLISIS</b>  |   |                                |                               |                  |   |
| Código Muestra  | Nombre Muestra  | Análisis Solicitado            | Método                        | Plazo de Entrega | Observaciones                                 |
|   | Muestra N° 1  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Procedente Canal R.C.M.R.                     |
|   | Muestra N° 2  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Procedente canal San Francisco Chuquisaca     |
|   | Muestra N° 3  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Muestra: Monte de Trébol Sector: DAP para DAP |
|   | Muestra N° 4  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Muestra: Sistema de Trío Agui Sector: madero  |
|   | Muestra N° 5  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Procedente: canal secundario                  |
|   | Muestra N° 6  | 23.04.004 / 23.04.009          |                               |                  | Impuesto de Canal de riego                    |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
|   |   |                                |                               |                  |   |
| Nota: P1: Paquete 1 (pH, Materia orgánica, nitrógeno total, fósforo, potasio)<br>P2: Paquete 2 (pH, Materia orgánica, nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, cobre y cinc)<br>CE: Conductividad eléctrica      B: Boro      S: Azufre      Tx: Textura      HG: Humedad Gravimétrica      DA: Densidad aparente<br>Otros: Base de cambio, Capacidad de intercambio catiónico, Saturación de base, Acidez, Carbonatos, Cloruros, Humedad Equivalente,<br>Capacidad de campo, Punto de marchitez, Agua aprovechable, Densidad real, Porosidad, Dominancia de Amorfo. |   |                                |                               |                  |   |
| Observaciones: <u>Se solicita por parte del cliente el procedimiento de la metodología replicada a las muestras puesto que dichos análisis corresponden a una toxicología.</u>  |   |                                |                               |                  |   |
| Aceptado      SI      NO  |   |                                |                               |                  |   |
| Recibido por:   |   |                                | Entregado por:                |                  |   |
| Firma: _____  |   |                                | Firma cliente: <u>[Firma]</u> |                  |   |

## Anexo 8. Determinación de residuos de plaguicidas en agua.

**Procedimiento para Ditiocarbamatos**

El método utilizado, es la evolución de disulfuro de carbono en medio ácido y determinación espectrofotométrica UV-VIS empleado para determinar la presencia y concentración de residuos de plaguicidas Ditiocarbamatos (Maneb, Zineb, Propineb, Mancozeb, Thiram, Nabam, Ferbam y Ziram) en suelo y agua.

Este no es selectivo por lo cual no puede ser utilizado para determinar los pesticidas en forma individual, sin embargo, en caso de conocer con certeza el tipo de ditiocarbamato aplicado, se procederá a utilizar el factor correspondiente. El límite de cuantificación es de 0,08 ppm como ditiocarbamatos totales.

Los residuos de ditiocarbamatos en ácido clorhídrico diluido hirviendo con solución de cloruro de estaño II, se van descomponiendo y forman el CS<sub>2</sub> (disulfuro de carbono), desarrollado mediante una corriente de gas (el H<sub>2</sub>S (ácido sulfhídrico) formado y otras impurezas volátiles son recogidas por las primeras dos trampas de adsorción). Luego el CS<sub>2</sub> reacciona con el reactivo de color (solución de acetato de cobre y dietanol amina), para desarrollar el complejo amarillo, la sal cúprica del ácido ditiocarbamato de hidróxido de etilo de N, N-bis (2), el cual se mide colorimétricamente en un espectrofotómetro UV-VIS.

Se debe mantener control de las conexiones para mantener el equipo de vidrio sellado sin la presencia de fugas; además se debe, controlar la presión de vacío para impedir una pérdida de CS<sub>2</sub> así como para evitar reflujo de la muestra hacia el exterior u otras trampas.

Límites Máximo de Residuos (LMR's).

**Equipos para determinación de tiocarbamatos:**

| Equipo                   | Marca               | Modelo          |
|--------------------------|---------------------|-----------------|
| Espectrofotómetro UV-VIS | SPECTRONIC          | GENESYS 5       |
| Manta de Calentamiento   | ELECTROTHERMAL      | Cat. No MV 2403 |
| Bomba de vacío           | GE Comercial Motors | 5KH33DN16JX     |
| Material de vidrio       | PYREX               |                 |

## Determinación de residuos de organofosforados en agua.

### Procedimiento:

El método empleado es un análisis instrumental realizado por cromatografía líquida de ultra alta eficiencia con detector de masas doble (UHPL/MS/MS) para la determinación de la presencia y concentración de residuos de plaguicidas organofosforados y carbamatos y otros (Acetamiprid, Ametrin, Benalaxil, Boscalid, Carbofuran, Ciazofamid, Cimoxanil, Ciromazin, Clorpirifos, Diazinon, Difenoconazol, Diflubenzuron, Dimetoato, Dimetomorf, Diuron, Fenamidona, Imidacloprid, Malation, Metalaxil, Metamidofos, Metiocarb, Metomil, Metoxifenocida, Oxamil, Profenofos, Propamocarb, Propiconazol, Propoxur, Tebuconazol) en agua de consumo, de riego, superficial, subterránea y de desecho.

Este procedimiento específico puede utilizarse para detectar residuos de plaguicidas organofosforados y varios carbamatos; en forma individual.

Los residuos de plaguicidas organofosforados son extraídos mediante una partición líquido-líquido, utilizando como solvente diclorometano, posteriormente se realiza la concentración del extracto y cambio de solvente para ser leído en el equipo Cromatografo Líquido de ultra alta Eficiencia con detector de espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS).

El límite de cuantificación: 0,001ppm.

Rango de trabajo: 0.001-0.013 ppm.

Límites Máximo de Residuos (LMR's):

### Equipos para determinación de residuos de organofosforados

| EQUIPO                                     | MARCA                | MODELO   |
|--|----------------------|----------|
| Cromatógrafo líquido ( <u>UPLC-MS/MS</u> ) | Waters               | UPH      |
| Rotavapor                                  | Buchi                | R215     |
| Manifold para limpieza                     | Agilent Technologies |          |
| Evaporador de Nitrógeno                    | Thermo Scientific    | TS-18825 |

## Anexos 9. Resultados de análisis de colinesterasa

**Laboratorio Clínico**  
**Dr. Juan Merchán Peñafiel.**

Dirección: Rafael Galarza y Sucre  
Teléfonos: 2270650 -Claro 0999947251.

Solicita: Dr. Bolívar Auquilla  
Fecha: 19 de julio del 2013  
Material enviado: Sangre  
Prueba solicitada: Colinesterasa  
Resultados

|                           |          |
|---------------------------|----------|
| 1 Wilson Quito Machicela  | 7418 U/l |
| 2 Lilia Rodríguez Sánchez | 7560 U/l |
| 3 Rosa Mena Sánchez       | 9497 U/l |
| 4 Jaime Sanmartín Mena    | 5924 U/l |
| 5 Manuel Mendieta Villa   | 8331 U/l |
| 6 Luis Pucha              | 4415 U/l |
| 7 Manuel Sanmartín Mena   | 3826 U/l |
| 8 Aida Ochoa Iñiguez      | 5883 U/l |
| 9 José Ochoa Mendieta     | 7355 U/l |
| 10 Nila Delgado Heras     | 6287 U/l |
| 11 Elvia Mendieta         | 4615 U/l |
| 12 Elías Hermógenes O.    | 3760 U/l |
| 13 Efreín Ordoñez Pucha   | 7097 U/l |
| 14 Miguel Yungasaca A.    | 6360 U/l |
| 15 Bertha Iñiguez León    | 5490 U/l |
| 16 Jorge Machicela        | 6817 U/l |
| 17 Juan Vera Gualán       | 5038 U/l |
| 18 Elsa Pucha Lalvay      | 7037 U/l |
| 19 Segundo Palta Orellana | 6533 U/l |
| 20 Bernardo Durán M.      | 6040 U/l |

 Laboratorio de Bioanálisis


Atentamente  
Dr. Juan Merchán Peñafiel

**Laboratorio Clínico**  
**Dr. Juan Merchán Peñafiel.**

Dirección: Rafael Galarza y Sucre  
Teléfonos: 2270650 -Claro 0999947251.  
Movist 0986485085  
Sta. Isabel - Azuay

Solicita: Dr. Bolívar Auquilla  
Fecha: 2 de septiembre del 2013-09-04  
Material enviado: Sangre  
Prueba solicitada: Colinesterasa  
Resultado:

|                      |           |
|----------------------|-----------|
| 1. Rosa Nieves       | 8234 U/l  |
| 2. Freddy Chávez     | 5530 U/l  |
| 3. Dennis Durán      | 14899 U/l |
| 4. Sonia Lalvay      | 9120 U/l  |
| 5. Patricia Lalvay   | 5983 U/l  |
| 6. Erika Durán       | 10247 U/l |
| 7. Carmen Benalcázar | 7089 U/l  |
| 8. Rosa Guayllasaca  | 8581 U/l  |
| 9. Blanca Llivisupa  | 7586 U/l  |
| 10. Manuel Saquicela | 7272 U/l  |
| 11. Octavio Aucay    | 9890 U/l  |
| 12. Alfonso Cevallos | 10530 U/l |
| 13. Julio Quezada    | 13409 U/l |
| 14. José Vintimilla  | 7163 U/l  |

Recibido  
04-309/2013  




Laboratorio  
de Bioanálisis

Dr. Juan Merchán Peñafiel  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Atentamente  
Dr. Juan Merchán Peñafiel

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| 15. Rosa Delgado      | 5733 U/I  |
| 16. Virginia Durán    | 5660 U/I  |
| 17. Rafael Cabrera    | 7209 U/I  |
| 18. Maria Curillo     | 7855 U/I  |
| 19. Margarita Morocho | 7713 U/I  |
| 20. Adolfo Cabrera    | 12750 U/I |
| 21. Luis Medina       | 6854 U/I  |
| 22. Nelly Durán       | 6240 U/I  |
| 23. Carlos Llivisupa  | 8145 U/I  |
| 24. Wilmer Morocho    | 6852 U/I  |
| 25. Doris Zhunio      | 6527 U/I  |
| 26. Janeth Durán      | 7905 U/I  |
| 27. Marcia Nieves     | 7666 U/I  |
| 28. Ninfa Saquicela   | 7269 U/I  |
| 29. Rosario Moreno    | 7763 U/I  |
| 30. Maria Delgado     | 5867 U/I  |
| 31. Mariana Segovia   | 9408 U/I  |
| 32. Maria Aucay       | 7843 U/I  |
| 33. Gloria Guamán     | 6177 U/I  |
| 34. Fausto Quezada    | 9776 U/I  |
| 35. Segundo Chávez    | 7523 U/I  |
| 36. Angel Macas       | 5985 U/I  |
| 37. Segundo Segovia   | 6747 U/I  |
| 38. Víctor Armijos    | 12234 U/I |
| 39. Armando Aucay     | 10705 U/I |



Laboratorio  
de Bioanálisis

Dr. Juan Merchán Peñafiel  
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Alentamente  
Dr. Juan Merchán Peñafiel

|                      |           |
|----------------------|-----------|
| 40. Juana García     | 9268 U/I  |
| 41. Maruja Llivisupa | 10876 U/I |
| 42. Blanca Heras     | 10305 U/I |
| 43. Blanca Curillo   | 9001 U/I  |
| 44. Carmen Aucay     | 7889 U/I  |
| 45. Rosa Llivisupa   | 7216 U/I  |
| 46. Dalinda Aucay    | 6053 U/I  |
| 47. Carmen Curillo   | 7388 U/I  |
| 48. Blanca Beltrán   | 9167 U/I  |
| 49. Ibelia Cornejo   | 9847 U/I  |
| 50. Maria Segovia    | 10638 U/I |
| 51. Silviana Heras   | 8718 U/I  |
| 52. Bélgica Pazmiño  | 9015 U/I  |
| 53. Luis Encalada    | 6930 U/I  |
| 54. Héctor Guamán    | 9494 U/I  |
| 55. Elaine Nieves    | 8771 U/I  |
| 56. Gloria Inigüez   | 9321 U/I  |
| 57. Lourdes Ordóñez  | 8352 U/I  |
| 58. Julia Lalvay     | 7853 U/I  |
| 59. Angel Nieves     | 11991 U/I |
| 60. Andrés Durán     | 7353 U/I  |
| 61. José Segovia     | 5773 U/I  |
| 62. Jaime Llivisupa  | 11105 U/I |



Laboratorio  
de Bioanálisis

Dr. Juan Merchán Peñafiel  
BIOQUÍMICO-FARMACÉUTICO


Atentamente  
Dr. Juan Merchán Peñafiel

**Laboratorio Clínico**  
**Dr. Juan Merchán Peñafiel.**

Dirección: Rafael Galarza, Sucre  
Teléfonos: 2270650 - Claro 0999947251  
Movist 0986486085  
Sta. Isabel - Azuay  
Solicita: Dr. Bolívar Auquilla  
Fecha: 6 de noviembre del 2013



Prueba de: **Colinesterasa**

|                      |       |
|----------------------|-------|
| Néstor Maldonado     | 7350  |
| Graciela Guzmán      | 7242  |
| Telmo Erraez         | 9110  |
| Ernesto Guerrero     | 11471 |
| Nicolás Cevallos     | 8229  |
| Humberto Merchán     | 11269 |
| Nergio Jaramillo     | 8518  |
| Tito Méndez          | 10322 |
| Jaimé Chuchuca       | 9834  |
| Vicente Faredes      | 12836 |
| Edwin Armijos        | 12439 |
| Eduardo Durán        | 8411  |
| Germán Comejo        | 8225  |
| Rosa Sánchez         | 8904  |
| Rodrigo Ordoñez      | 8828  |
| Rosa Vintimilla      | 8379  |
| Segundo Serrano      | 7619  |
| Alejandro Barreto    | 7506  |
| Lauro Sánchez        | 11645 |
| Nelly Jiménez        | 7632  |
| Cecilia Chávez       | 8261  |
| Eleuterio Quezada    | 7933  |
| Verónica Quartancela | 7725  |
| Mayra Guambaña       | 7552  |
| Bolívar Auquilla     | 9571  |

 **Laboratorio de Bioanálisis**

Atentamente  
Dr. Juan Merchán Peñafiel


## Anexo 10. Resultados del análisis de muestras de agua

|   |   |   |
|---|---|---|
|  | <b>LABORATORIO DE RESIDUOS Y CALIDAD DE<br/>PLAGUICIDAS E INSUMOS PECUARIOS</b><br><small>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito<br/>Telef: 02-2372-845 Ext: 212/213)</small> |  |
| <b>INFORME DE ANÁLISIS DE RESIDUOS</b>  |   |   |

Página 1 de 2  
 Informe N°: 13092  
 Fecha del informe: 10/10/2013

**DATOS DEL CLIENTE:**

Empresa o Persona solicitante: Dr. Bolívar Auquilla González  
 Dirección: Felipe II y Av. Don Bosco  
 Teléfono: 072718192  
 Provincia: Azuay      Cantón: Cuenca      Parroquia:  
 Fecha de Ingreso de la muestra: 01/10/2013  
 No. de Factura: 13790/13873

  
 LABORATORIO DE PLAGUICIDAS  
 NORMA ISO/IEC-17025  
 TUMBACO - ECUADOR

**DATOS DE LA MUESTRA:**

Descripción: Se entregó al Laboratorio de Plaguicidas, seis muestras de agua, para el análisis de residuos de plaguicidas organofosforados y ditiocarbamatos.  
 Conservación: En el laboratorio las muestras se mantuvieron en refrigeración.  
 Procedencia: Provincia: Azuay      Cantón: Santa Isabel      Parroquia:  
 Fecha inicio análisis: 02/10/2013      Fecha finalización análisis: 10/10/2013

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**

Métodos aplicados:  
 PEE/L-P/16 basado en: Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators and Food Additives, G. Zweig  
 Plaguicidas Organofosforados: Análisis instrumental realizado por Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficiencia con Detector de Masas doble (UHPLC/MS/MS).  
 PEE/L-P/06, Ditiocarbamatos: Evolución de disulfuro de carbono en medio ácido y determinación espectrofotométrica UV-VIS.

| Código de Muestra | Nombre de la Muestra | Pesticidas Detectados | Residuos Encontrados (ppb) | LD (ppb) | LC (ppb) | * LMR's (ppb) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------|----------|---------------|
| 13476             | Muestra N°1          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100           |
| 13477             |                      | D                     | ND                         | 30,4     | 91,3     | --            |
| 13478             | Muestra N°2          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100           |
| 13479             |                      | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --            |
| 13480             | Muestra N°3          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100           |
| 13481             |                      | D                     | ND                         | 30,4     | 91,3     | --            |
| 13482             | Muestra N°4          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100           |
| 13483             |                      | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --            |
| 13484             | Muestra N°5          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100           |
| 13485             |                      | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | --            |

NOTA: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.  
 Está prohibida la reproducción parcial de este informe  
 MC2201-04

03-01-2012

|  |   |  |
|--|---|--|
|  | <b>LABORATORIO DE RESIDUOS Y CALIDAD DE<br/>PLAGUICIDAS E INSUMOS PECUARIOS</b><br>(Vía Interoceánica Km. 14, Granja del MAGAP, Tumbaco – Quito<br>Telef: 02-2372-045 Ext: 212/213) |  |
|  | <b>INFORME DE ANÁLISIS DE RESIDUOS</b>  |  |

Página 2 de 2  
Informe N°: 13092

| Código de Muestra | Nombre de la Muestra | Pesticidas Detectados | Residuos Encontrados (ppb) | LD (ppb) | LC (ppb) | LMR's (ppb) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------|----------|----------|-------------|
| 13486             | Muestra N°6          | OF                    | ND                         | 0,003    | 0,010    | 100         |
| 13487             |                      | D                     | ND                         | 30,5     | 91,4     | —           |

OC: Plaguicidas Organoclorados P: Plaguicidas Piretroides OF: Plaguicidas Organofosforados D: Plaguicidas Ditiocarbamatos  
 LD: Límite de Detección LC: Límite de Cuantificación ND: No detectado ppb: Partes por billón (ug/L)

\*Límites Máximos de Residuos (LMR's) establecidos en el Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULAS) 2003, para aguas de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren desinfección. LMR's para plaguicidas Organoclorados totales: 10 ppb. LMR's para plaguicidas Organofosforados totales: 100 ppb.

Observaciones: De los plaguicidas analizados no se detectaron residuos.

Analizado por: Q.A. Miryan Flores, Ing. Néstor Valarezo y Dra. Olga Pazmiño.

Aprobado por:

*Olga Pazmiño M.*

Responsable Técnico: Dra. Olga Pazmiño

Anexo: Lista de plaguicidas analizados

| PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y OTROS |                   |
|--------------------------------------|-------------------|
| 1. Acetamiprid                       | 15. Diuron        |
| 2. Atratin                           | 16. Fenamidon     |
| 3. Benalaxil                         | 17. Imidacloprid  |
| 4. Boscalid                          | 18. Malation      |
| 5. Carbofuran                        | 19. Metalaxil     |
| 6. Cyazofamid                        | 20. Metamidofos   |
| 7. Cymoxanil                         | 21. Metiocarb     |
| 8. Cyromazin                         | 22. Metomil       |
| 9. Chlorthalifos                     | 23. Metoxyfenocid |
| 10. Diazinon                         | 24. Oxamil        |
| 11. Difenolazale                     | 25. Profenofos    |
| 12. Diflubenzuron                    | 26. Propanocarb   |
| 13. Dimetoato                        | 27. Propiconazol  |
| 14. Dimetomorf                       | 28. Propoxur      |
|                                      | 29. Tebuconazole  |

| PLAGUICIDAS DITIOCARBAMATOS |             |
|-----------------------------|-------------|
| 1. Ferbam                   | 5. Propineb |
| 2. Mancozeb                 | 6. Tiram    |
| 3. Maneb                    | 7. Zineb    |
| 4. Nabam                    | 8. Ziram    |

NOTA: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha.

Está prohibida la reproducción parcial de este informe

MC2201-04

03-01-2012