

Te
366
1980

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

DETERMINACION DE ABATE EN LAS AGUAS DEL RIO PIE CUMBRE,
FCA. LOS ANDES , PATULUL, SUCHITEPEQUEZ.
PROYECTO DE CONTROL DEL VECTOR DE LA ONCOCERCOSIS
CDC / UDV

DIETER BOEHM PETER

Trabajo de investigación presentado para optar
al grado académico de :

LICENCIADO EN QUIMICA

Guatemala, 1980.

Vo. Bo. :

(f) Sergio Aragón
Dr. SERGIO ARAGON

(f) Richard C. Collins
Dr. RICHARD COLLINS

ASESORES.

Tribunal :

(f) Elvira G. de Mejía
Inga. ELVIRA DE MEJIA

(f) Richard C. Collins
Dr. RICHARD COLLINS

(f) Sergio Aragón
Dr. SERGIO ARAGON

Fecha de aprobación : 21 de mayo de 1980.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a DIOS, a mis padres DIETER BOEHM F. y BETHLI PETER de BOEHM, a mis hermanas GISELA y MELANIE, a mis maestros y amigos.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible que se llevara a cabo este trabajo. En especial, al Dr. S. Aragón quien supo, con su certera asesoría, convertir este estudio en realidad. Al Dr. R. Collins y colaboradores, por la gran ayuda prestada en la realización del trabajo experimental y obtención de materiales. Al personal técnico del Laboratorio Unificado de Control de Alimentos, INCAP, por su asistencia y ayuda en el análisis cromatográfico. A mi hermana Melanie, por la ayuda en el trabajo mecanográfico. Y en forma muy especial, a mi compañera María Luisa Durando G., por el apoyo moral brindado durante los años de estudio, al igual que durante la realización de este trabajo.

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES	4
III.	DISEÑO EXPERIMENTAL	11
IV.	METODOLOGIA	14
	.1 METODOS DE ANALISIS	14
	.2 METODO DE EXTRACCION DE ABATE DEL MEDIO DE APLICACION	14
	.3 DETERMINACION DE ABATE POR CROMATOGRAFIA DE GASES, UTILIZANDO UN DETECTOR FOTOMETRICO DE LLAMA (FPD) Y/O UN DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES (ECD).	17
	.3.a Materiales y Reactivos	17
	.3.b Preparación de Estandares	18
V.	PROCEDIMIENTO	19
	.1 EXTRACCION DE MUESTRAS	21
	.1.a Primer Tratamiento	21
	.1.b Segundo Tratamiento	21
	.1.c Preparación de las Pruebas de Laboratorio	22
VI.	RESULTADOS GENERALES	24
	.1 MAPAS DEL AREA DE ESTUDIO	29
	.2 PERFILES DE CONCENTRACION	33
VII.A.	DISCUSION	44
	.1 Aumento en la concentración en los sitios M-5 y M-6	44
	.2 Medición del caudal de agua	45
	.3 Desventaja de muestrear cada 5 minutos	49
	.4 Extracción de muestras de tierra	50
	.5 Comparación de Columnas	54
	.6 Linearidad o no de Abate con F.P.D.	58
	.7 Absorción de Solvente-Insecticida por Tapaderas de Frascos (Segunda Aplicación)	67
VII.B.	EFFECTIVIDAD	69
	.1 Efectividad de las Aplicaciones : Erradicación de Larvas	69
	.2 Mecanismos de Repoblación	75
	.3 Niveles Residuales de Abate	80
VIII.	RECOMENDACIONES	86

IX.	APENDICES	89
.A	Compuestos Organofosforados	89
.B	Abate. Información general	92
.C.1	Resultados obtenidos en el análisis cromatográfico de todas las muestras	94
.1a	Primera Aplicación	95
.1b	Segunda Aplicación	101
.1c	Pruebas de Laboratorio	105
.C.2	Resultados de la primera aplicación Datos de E.E.U.U.	107
.D	Ejemplo del Cálculo de Concentraciones	108
.E	Propagación de Errores	109
.F	Tiempos de Retención de las diferentes Columnas empleadas	110
.G	Señal del Registrador del Cromatógrafo	111
X.	BIBLIOGRAFIA	114

INDICE DE CUADROS.

# 1	Máximas concentraciones encontradas por sitio (primera y segunda aplicación)	41
# 2	Promedio de valores máximos de las muestras M y K	41
# 3	Condiciones de trabajo según Pasarela y Orloski	55
# 4	Columnas y condiciones de trabajo utilizadas	57
# 5	Análisis estadístico para la comparación de columnas	58
# 6	Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block (primer tratamiento)	60
# 7	Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block (segundo tratamiento)	61
# 8	Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block (pruebas de laboratorio)	61
# 9	Datos para la obtención de las gráficas 12, 13 y 14	62
# 10	Resultados al aplicar el programa de regresión lineal a los datos del cuadro # 9	63
# 11	Comparación de las Pruebas de Laboratorio	68
# 12	Cantidad de Larvas vrs. Sitio (1a. aplicación)	72
# 13	Cantidad de Larvas vrs. Sitio (2a. aplicación)	73
# 14	Datos necesarios para calcular M_R	83
# 15	Balance de Pesticida	85
# 16	Toxicidad de Abate	93

INDICE DE GRAFICAS.

# 1	Porcentaje de recuperación de Abate con respecto al tiempo de agitación	16
# 2	Perfiles de Concentración de muestras M-0 y M-1	34
# 3	Perfiles de Concentración de muestras M-2 y M-3	35
# 4	Perfiles de Concentración de muestras M-4 y M-5	36
# 5	Perfil de Concentración de muestra M-6	37
# 6	Perfiles de Concentración de muestras K-0 y K-1	38
# 7	Perfiles de Concentración de muestras K-2 y K-3	39
# 8	Perfiles de Concentración de muestras K-4 y K-5	40

# 9	Máximas Concentraciones encontradas por sitio (primera aplicación)	42
# 10	Máximas Concentraciones encontradas por sitio (segunda aplicación)	43
# 11	Concentración de Abate en las muestras de tierra (primera aplicación)	53
# 12	Curvas de Calibración (primera aplicación)	64
# 13	Curvas de Calibración (segunda aplicación)	65
# 14	Curvas de Calibración (pruebas de laboratorio)	66
# 15	Concentración de larvas vrs. sitio de muestreo	74

INDICE DE FIGURAS.

# 1	Lados # 1 y # 2 de la presa	48
# 2	Vista superior del tanque de la presa	48
# 3	Señal obtenida en el graficador del cromatógrafo (columna de 2 pulgadas)	111
# 4	Señal obtenida en el graficador del cromatógrafo (columna de 22.5 pulgadas)	112
# 5	Señal obtenida en el graficador del cromatógrafo (columna de 21 pulgadas)	113

INDICE DE ESQUEMAS.

# 1	Definición del parámetro R .	77
# 2	Corrección del parámetro R .	77
# 3	Distribución de moscas con respecto al lugar de alimentación y oviposición	79
# 4	Eflujo de insecticida	80
# 5	Perfil de Concentración de la muestra M-5	81

INDICE DE MAPAS.

# 1	República de Guatemala	30
# 2	Finca Los Andes	31
# 3	Ríos Pie Cumbre y Corralitos	32

I. INTRODUCCION

En la finca Los Andes, localizada en las faldas del volcán Atitlán, se ha venido acrecentando una vieja enfermedad desde hace algunos años, enfermedad parecida a la malaria, y la cual es propagada por la larva de la mosca negra (Simulium ochraceum). Esta mosca busca sus criaderos en aguas no estancadas, no violentas, y en lugares un tanto fangosos, principalmente en pequeños riachuelos. Como puede apreciarse, esta mosca tiene su habitat bien definido, complementado con un determinado clima y una determinada altitud, necesarios para la reproducción de la mosca. En esta finca en especial, todas las condiciones son favorables para su desarrollo.

La enfermedad, llamada Oncocercosis, o enfermedad de Robles, nombre debido a su descubridor en Guatemala, data desde tiempos de la colonización española, y se cree que fue introducida a América por los esclavos que fueron traídos desde Africa para trabajar las fincas de los colonizadores (1). Existe otra teoría que afirma que la enfermedad es nativa de esta región (2).

Sin embargo, la enfermedad no fue reconocida sino hasta que en 1915 el Dr. R. Robles realizó varios trabajos, y demostró que la enfermedad estudiada por él era Oncocercosis (1). Más aun, no fue sino hasta en diciembre del año siguiente, 1916, que aparece por primera vez en un órgano informativo la noticia, en primera plana, bajo el título 'Una enfermedad nueva en el continente ha sido diagnosticada en Guatemala', lo cual aparece en el diario 'La República', el viernes 29 de diciembre de 1916 (1).

Al hacerse público el descubrimiento de la Oncocercosis, muchos investigadores empezaron a hacer estudios más específicos, como por ejemplo, el relacionar la constante ceguera en los casos con lesiones cutáneas, y fue el Dr. Pacheco Luna uno de los primeros en el mundo en hacer un estudio de este tipo (1).

Las manifestaciones clínicas, desde el punto de vista epidemiológico, presentan cuadros clínicos que pueden ser, según el Dr. Carlos E. Sandoval et al. (1) :

- 1) Personas con manifestaciones sintomáticas, y
- 2) formas inaparentes o asintomáticas.

Dentro de las primeras se pueden considerar :

- a) personas que manifiestan sólo nódulos,
- b) " con lesiones oculares,

- c) personas con lesiones de la piel,
- d) " que presentan dos o más manifestaciones, y
- e) " " " microfilarias en la piel.

Entre estas manifestaciones, los nódulos y la microfilaria constituyen la más temprana y más frecuente. Los nódulos, al principio, son pequeños, de localización variable, encontrándose en un porcentaje en la parte craneana de 60 - 75 % (1).

Se han realizado varias encuestas (1) cuyos datos han servido para darle la importancia socioeconómica necesaria a esta enfermedad. Existen lugares donde la infección alcanza un 99 % de la población adulta, y en ciertos lugares las complicaciones llegan a un 50 % de las personas atacadas. Claro está que estas personas afectadas no pueden rendir de igual forma que una persona sana. Y esto repercute en la economía del país, ya que las áreas afectadas son las zonas agrícolas más ricas de Guatemala (1). También impide la migración de trabajadores del altiplano hacia las tierras bajas, un hecho muy común en Guatemala, por miedo de resultar infectados.

Del total de los departamentos de la república, solamente en ocho de ellos se ha encontrado hasta ahora la enfermedad (1), y son : Guatemala, Suchitepéquez, Sololá, Escuintla, Chimaltenango, Santa Rosa, Huehuetenango, y Jutiapa. Sin embargo, esto no implica que todo el departamento esté afectado por igual, ya que en algunos casos son muy pocos los individuos encontrados con la enfermedad.

Actualmente se encuentra en Guatemala un grupo de técnicos y científicos del Centro para el Control de Enfermedades, Salud Pública de E.E.U.U. (Center for Disease Control (CDC)), de Atlanta, Georgia, quienes conjuntamente con la Universidad del Valle de Guatemala (UDV), y el Servicio Nacional para la Erradicación de la Malaria (SNEM), están llevando a cabo varios estudios sobre la factibilidad de erradicación o control de esta enfermedad.

Para ello se tiene en mente realizar varios proyectos diferentes. El proyecto que aquí nos concierne consiste en agregar un pesticida selectivo en los riachuelos con criaderos, y por medio del insecticida combatir las larvas, para evitar la propagación de la enfermedad. Para este efecto se ha pensado en un pesticida en especial, un organofosforado, de nombre comercial Abate, 0,0,0,0' - tetrametil 0,0' - tiodip-fenileno-fosfotioato, (American Cyanamid Co.), que en concentraciones de 1 ppm en el agua resulta relativamente no tóxico para el humano, así como para muchas otras especies (2). y sumamente letal para las larvas.

Debido a que no solamente se trata de erradicar la mosca, sino que también preservar la fauna en los riachuelos, es necesario hacer pruebas con diferentes formulaciones y concentraciones del mismo. Esto implica un control analítico del trabajo, con el fin de matar las larvas, conservando a la vez la demás fauna.

II. ANTECEDENTES

El método de combatir las larvas de la mosca negra agregando pesticida al agua no es el único que existe, e incluso no se ha comprobado que sea el mejor (3).

Se han llevado a cabo varios experimentos en los cuales se 'seca' el río por espacio de unos minutos, lo cual se logra colocando aparatos relativamente sencillos para interrumpir periódicamente el flujo. Esto ha resultado ser bastante efectivo para la erradicación de larvas, y se estuvo usando en Pochuta, Guatemala, por miembros del CDC (4). No se pudo establecer la efectividad del sistema, ya que al poco tiempo de estarse empleando fue destruido por fuertes lluvias que azotaron la región.

Existen principalmente dos diferentes tipos de mecanismos : el secado por mecanismo manual, y el secado por mecanismo automático. El mecanismo manual consiste en abrir y cerrar periódicamente la compuerta de una pequeña represa construida para este propósito. Por el contrario, el mecanismo automático no necesita más que un chequeo cada cierto tiempo para la comprobación de su funcionamiento. Consiste el mecanismo en la llenada de un recipiente grande, generalmente un tonel de 200 litros o más, el cual se vacía automáticamente cuando está completamente lleno, lo cual sucede repetidas veces, hasta que es desconectado el sistema.

El problema que se ha suscitado con este método de erradicación es que posiblemente la flora sufre en los períodos 'secos.' Se está trabajando mucho en este método. Claro está que aun no existe un método ideal, ya que en un sistema ecológico complicado es muy difícil cambiar una parte, sin cambiar lo demás también. De la bibliografía disponible, en gran parte mencionada al final de este trabajo, se puede notar una marcada tendencia a emplear insecticidas como erradicadores, probablemente debido a su fácil obtención en el mercado, a su efectividad, a su selectividad con respecto a los organismos por erradicar, y a la relativa facilidad de empleo en el campo de aplicación.

Los resultados que se obtienen al utilizar diferentes métodos pueden ser variados, como lo mencionan Miles & Dale (5), incluso al emplear el mismo pesticida sólo que en diferente formulación. En los resultados también pueden influir las condiciones ambientales, que tienen que ver directamente con las larvas, así como el comportamiento de las mismas ante un determinado insecticida.

En el presente trabajo se decidió emplear insecticida por varias razones, de las cuales la más importante es la comparación de datos con trabajos ya realizados en E.E.U.U. y Canadá, por miembros del CDC, al igual que un grupo de japoneses que está trabajando en San Vicente Pacaya y alrededores, utilizando Abate como concentrado emulsificable, y en pastillas, lo cual ha dado muy buen resultado (5),(6).

El empleo de Abate se ha incrementado en los últimos años, debido a los resultados tan satisfactorios obtenidos al usarlo para controlar a las moscas negras y otros vectores. Por ejemplo, en Puerto Rico, el departamento de salud permitió su uso en grandes y pequeños recipientes de agua potable, los cuales son tratados con Abate a razón de 1 ppm (partes por millón), para combatir el Aedes aegypti. Y para asegurarse de que no exista una sobredosis, o sea que el insecticida alcance una concentración mayor a la permitida, se toman muestras por lo menos mensualmente (7).

También en los E.E.U.U. se ha empleado el insecticida, como lo mencionan Dale, Miles & Guerrant (8), en un experimento realizado en un pequeño riachuelo de Carolina del Sur, y en el cual agregaron el Abate como emulsión concentrada. Esto se llevó a cabo con un aspersor de compresión, calculando mantener una concentración de 0.5 ppm durante un período de tres minutos. Además, hicieron una aplicación instantánea, o sea, agregar la cantidad total de insecticida rápidamente en un solo punto de aplicación. Esto lo hicieron en un riachuelo diferente al primero, en el estado de Georgia. El principal objetivo era determinar la distribución del insecticida en el agua al agregarlo de esta manera, y descubrieron que debido a la corriente del río se logra rápidamente una dispersión del insecticida (8).

Siempre en E.E.U.U, en Nueva York, Jamnback & Frempong-Boadu (9) realizaron varios experimentos con diferentes insecticidas, incluyendo Abate. Este fue agregado al río en una solución etanólica, a razón de 0.1 ppm durante 20 minutos, lo cual resultó bastante inefectivo. Por consiguiente, probaron con una mezcla de Abate 20 % y una solución de aceites, la cual resultó ser mucho más efectiva que la primera formulación utilizada. Simultáneamente se llevaron a cabo diferentes experimentos en el laboratorio. Aquí, las emulsiones resultaron ser mucho menos efectivas que las soluciones en aceites o suspensiones de polvos mojables. La efectividad de las emulsiones bajo condiciones del campo, notadas en el transcurso de su amplio empleo en Africa puede ser debido a la facilidad de distribución uni-

forme de partículas en el agua por la turbulencia de la corriente. Cuando se hacen aplicaciones aéreas para insecticidas también resulta una gran y buena distribución de partículas finas, dando como resultado un buen control a concentraciones sumamente bajas (9).

En Canadá se han llevado a cabo diferentes estudios con diferentes insecticidas para estudiar los posibles métodos (efectivos) para el control de larvas de la mosca negra. Wallace et al. (10) realizaron varios experimentos con tres diferentes insecticidas, incluyendo Abate. Los experimentos fueron llevados a cabo en el río San Lorenzo, Quebec, que es un área muy afectada por la mosca negra durante el verano (10). Los diluyentes de los insecticidas, H.A.N. (Heavy Aromatic Naphta) y búnker, causaron un desprendimiento de larvas de mosca negra de los sustratos, pero en mucho menor grado que cuando se hicieron las aplicaciones de insecticidas. Notaron además que hay un arrastre de invertebrados que no eran larvas de Simulium, el cual es muy grande después de las aplicaciones y es indicativo de la considerable perturbación de la comunidad de invertebrados acuáticos. La mayoría de los invertebrados que fueron arrastrados y encontrados en las redes de recolección estaban muertos (10). Las concentraciones de insecticidas fueron calculadas para un período de 15 minutos, siendo de 0.1 ppm para Abate y Dursbán (0,0-dietil 0-3,5,6-tricloro-2-piridilfosforotioato), y de 0.075 ppm para Metoxycloro (1,1,1-tricloro 2,2-bis(p-metoxifenil)etano), que fueron los insecticidas utilizados. En estos experimentos no se agregó la cantidad instantáneamente, sino que continuamente durante 15 minutos, según el método descrito por Freedon (11). Curiosamente no se hizo ningún tipo de análisis de agua para comprobar las concentraciones obtenidas.

El empleo de insecticidas para combatir las larvas de la mosca negra no está limitado al uso exclusivo de Abate como tal. Un insecticida muy utilizado también para el mismo propósito es Metoxycloro, el cual ha dado muy buenos resultados. Wallace et al. (12) realizaron experimentos en el laboratorio y en el campo, en Ontario, Canadá, con este insecticida.

El río Chalk River, en Ontario, fue tratado durante 15 minutos con una solución de aceites de Metoxycloro conteniendo 0.79 µg/l, y se midió la dispersión del insecticida y de un colorante, Rodamina B, por medio de cromatografía y fluorometría. Estos investigadores analizaron el agua, el musgo y algunas larvas antes de la aplicación, y no lograron detectar Metoxycloro, pero en larvas que fueron

recogidas después de la aplicación lograron detectar residuos que variaban entre 0.24 y 2.57 mg/kg (12). Además, descubrieron que las larvas que eran arrastradas más tarde generalmente contenían más insecticida que las que eran arrastradas poco después de la aplicación. También hicieron un análisis residual del insecticida y descubrieron que después de 8 semanas de haber realizado la aplicación, un análisis de musgos y gramas en el río dio resultados positivos, y las cantidades detectadas variaron entre 7.4 y 34.6 µg/kg (12).

Wallace y colaboradores (13) llevaron a cabo experimentos con tres diferentes insecticidas, siendo éstos Abate, Dursbán y Metoxycloro. Llevaron a cabo dos tratamientos seguidos, durante los cuales encontraron larvas de Simulium venustum en gran cantidad en la primera aplicación, y S. venustum y S. vittatum la segunda vez. Los experimentos se llevaron a cabo en nueve diferentes riachuelos, afluentes todos del río San Lorenzo, en Canadá, aplicándose el mismo insecticida en tres diferentes riachuelos. Los resultados obtenidos son similares con los tres compuestos diferentes, siendo la principal diferencia encontrada la de un poder de arrastre mayor al emplear Metoxyclo-ro, lo cual se notó en las dos diferentes aplicaciones realizadas, y en todos los riachuelos en los cuales se agregó el mismo (13).

Jamback & Frempong-Boadu (14), mencionados ya anteriormente, realizaron experimentos tanto en el laboratorio como en el campo, con una gran cantidad de insecticidas diferentes, entre los cuales se encuentran Abate, Dursbán, Metoxycloro y p,p-DDT. Hicieron dos diferentes aplicaciones en el laboratorio, es decir, emplearon dos diferentes concentraciones, siendo éstas de 4.0 y 0.4 ppm. Para la aplicación de 4.0 ppm no hay datos de DDT y Metoxycloro, y entre Abate y Dursbán, el segundo fue mucho más efectivo (100 % de arrastre de larvas contra 56 %). En la aplicación de 0.4 ppm, los datos obtenidos fueron los siguientes ; (arrastre de larvas) DDT 98 %, Metoxycloro 97 %, Dursbán 32 %, y Abate 25 %. Estos experimentos llevados a cabo en el campo fueron de dos diferentes tipos, una aplicación hecha a mano desde el suelo, y otra aplicación hecha por avión. En la aplicación hecha a mano desde el suelo, el tipo de formulación utilizado en Abate resultó ser completamente negativo, mientras que las formulaciones de Metoxycloro resultaron ser magníficas. Al hacer la aplicación desde el aire, se cambió de formulación de Abate, utilizándose una solución en aceite de Abate 20 %, la cual resultó ser mucho más efectiva que la anterior. En este experimento también Metoxycloro resultó ser el

más efectivo para el control de larvas (14).

A pesar de los datos que mencionan Jamnback & Frempong-Boadu (14) que Abate es menos efectivo que Metoxycloro y otros compuestos, se ha decidido que puede llegar a ser muy efectivo en el campo de larvicidas para combatir las larvas de la mosca negra, empleándolo en formulaciones adecuadas. Los datos de Jamnback & Frempong-Boadu están basados probablemente en una formulación de Abate poco efectiva para los tratamientos y condiciones empleadas. Según Dale et al. (15), Abate es muy efectivo para combatir estas larvas, y mencionan que Abate ha sido propuesto por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) como una muy buena alternativa para evitar el uso de hidrocarburos clorados, principalmente de DDT y Metoxycloro.

Como lo menciona el informe técnico de la O.M.S. (16), después de muchos años de investigación, el insecticida finalmente escogido por el Programa de Control de la Oncocercosis a nivel Africano (OCP), fue un insecticida biodegradable, Abate, que en formulaciones adecuadas combina una gran efectividad contra las larvas de la mosca negra con su baja toxicidad para el hombre, así como a plantas y demás fauna de los ríos.

El programa de la O.M.S. en Africa (OCP) cubre 7 naciones, con aproximadamente 700,000 km², 10 millones de habitantes, y de los cuales se ha estimado que por lo menos 70,000 están ciegos debido a esta enfermedad. La O.M.S. calcula que para cuando tengan en funcionamiento total su programa se estarán cubriendo 14,000 km de ríos (16), los cuales estarán siendo tratados por aereonaves, a razón de 0.05 ppm durante 10 minutos en la estación lluviosa, y 0.1 ppm durante 10 min en la estación seca. Para esto han desarrollado un procedimiento especial basado en una descarga instantánea. Las aplicaciones que ya se están llevando a cabo se realizan semanalmente, con las concentraciones anteriormente mencionadas.

Como lo mencionan Davies et al. (17), es muy problemático tratar de eliminar de un área tan grande esta enfermedad. Estos investigadores trabajan para el programa OCP. Uno de los mayores problemas que encontraron al principio fue el uso doméstico que se le da al agua de todos los ríos involucrados. Después de varios estudios realizados, decidieron emplear Abate al 20 % EC (emulsión concentrada), ya que da una emulsión muy estable en el agua de estos ríos, es muy efectivo para el control de las larvas, y biodegradable, descomponiéndose a los 3 - 4 días.

Datos interesantes acerca de la magnitud de este proyecto (OCP) los proporcionan Davies et al. (17) al comentar que en el programa utilizan para las aplicaciones 8 helicópteros y 2 aviones especiales. Además, están empleados 9 entomólogos, 29 técnicos, 190 colaboradores, 170 choferes, 120 automóviles rurales, y 40 microbuses; en 1977 estos vehículos recorrieron un total de 6.8 millones de kilómetros.

Como lo mencionan Garms et al. (18), el programa OCP en Africa empezó en febrero de 1975, y se piensa prolongar por lo menos durante 20 años, para comprobar los resultados obtenidos, teniendo en cuenta repoblaciones larvales, cambios climatológicos, etc. El control ha sido muy efectivo en la reducción del número de larvas de S. damnosum, principal portador del vector de la Oncocercosis en Africa, aunque se ha notado una repoblación de los ríos al empezar la época lluviosa. Después de investigar este fenómeno, se descubrió que es debido a la migración de moscas negras no afectadas por las aplicaciones, o sea, de países y áreas vecinas a los incluidos en este programa.

Existe un estudio detallado del programa OCP acerca de los primeros 5 años de trabajo, escrito por Walsh et al. (19). En este estudio se describen los pasos seguidos por el OCP para la realización del proyecto, de las técnicas y organización de las evaluaciones entomológicas, y del progreso obtenido.

En Guatemala están trabajando varios científicos japoneses en el Proyecto de Investigación y Control de la Oncocercosis, Guatemala - Japón, autorizado por un acuerdo mutuo entre ambos países el 20 de julio de 1975 (20). El propósito fundamental de este programa es desarrollar medidas de control efectivo para combatir la enfermedad. En octubre de 1976 se inauguró un laboratorio en la ciudad capital de Guatemala, y en diciembre de 1978 se inauguró el laboratorio de campo, situado en San Vicente Pacaya, Guatemala, el área de estudio de este grupo.

Según el informe del grupo de septiembre de 1979 (20), en las áreas endémicas más del 80 % de los habitantes estaban infectados con Oncocercosis, mientras que en algunas aldeas aledañas ningún paciente resultó positivo frente a la enfermedad. Durante los estudios preliminares estudiaron los nódulos encontrados en 530 casos, resultando con una localización craneana del 56.53 %, y de localización en el tronco del 40.32 %.

Después de muchas disecciones de S. ochraceum y S. metallicum, se encontró que las larvas infectivas de Onchocerca volvulus prefieren a S. ochraceum, ya que no se encontró ninguna larva infectiva en las 2440 S. metallicum disectadas. En el área de estudio, San Vicente Pacaya, hay 100 riachuelos con una longitud total positiva de 30 km en época seca (20). La larva de S. ochraceum se cría en los ríos pequeños y montañosos, en los cuales un estudio sobre flujos de agua reveló que corren de 0.1 a 10.0 l/seg.

En la actualidad están tratando varios ríos con Abate sólido, preparado en su laboratorio de la ciudad capital, a razón de 1 ppm durante 10 min (comunicación personal), una vez por quincena. Los resultados obtenidos hasta ahora son muy satisfactorios, y actualmente, 1980, se está pensando llevar a cabo el control a nivel de un área piloto más grande, siempre en la región de San Vicente Pacaya.

Desde 1979 se encuentra también en Guatemala trabajando un grupo de científicos y técnicos de los E.E.U.U. para establecer medidas de control efectivo de la Oncocercosis. El trabajo actual consiste en determinar el grado endémico de la enfermedad, así como varios estudios entomológicos sobre la misma. El presente trabajo constituye una evaluación del insecticida aplicado, Abate, sobre las larvas de la mosca negra, en el área de estudio, Patulul, Suchitepéquez.

III. DISEÑO EXPERIMENTAL

Las aplicaciones de insecticida que se llevaron a cabo para realizar este trabajo se hicieron en el río 'Pie Cumbre', en la finca Los Andes, en el departamento de Suchitepéquez, y tuvieron como fin inmediato proporcionar información acerca de su efecto sobre el control de las larvas de la mosca negra en este riachuelo al emplear el larvicida Abate. El trabajo tuvo que ser controlado analíticamente, ya que no se puede exceder una concentración de 1 ppm en lugares donde el agua es utilizada para fines domésticos (21), o incluso para uso animal, ya que puede ser mortal en concentraciones mayores (22).

Para llevar a cabo el presente trabajo primero se hizo un estudio geográfico del río, lo cual implica conocer exactamente la localización del riachuelo con respecto a otros ríos, su longitud (por lo menos en el área de análisis), sus propiedades físicas, tales como velocidad, anchura, profundidad, rápidos, cascadas, pozas, etc.

Una vez se conocieron estas características, se procedió a la identificación y cuantificación de larvas, lo cual también implica conocer su habitat. Estas generalmente buscan los lugares donde hay rápidos en el riachuelo, para una más fácil respiración (23), y se adhieren preferiblemente a hojas, al igual que a ramas de textura lisa, y a todas aquellas superficies que están cerca o en los rápidos, tales como piedras, raíces, bolsas plásticas, etc.

El pesticida se utilizó como concentrado emulsificable, ya que en esta forma se obtiene fácilmente en el mercado, en E.E.U.U.. Las concentraciones son del 20 y del 50 %. El concentrado emulsificable se agregó en un punto del río como una solución acuosa con 20 % de Abate, por medio de una aplicación instantánea, y calculado para obtener una concentración de 0.1 ppm durante la primera aplicación, y 0.05 ppm para la segunda, durante un período de 10 min, lo cual es suficiente para obtener el efecto deseado, según estudios del CDC (24 - 25). Antes de agregar el insecticida se hicieron mediciones y cálculos necesarios, tales como velocidad del agua, profundidad, caudal de agua, y en base a estos datos se calculó la cantidad necesaria para obtener la concentración deseada en una sección del río de longitud aproximada de 400 m, durante un período de 10 min. Claramente esta sección tratada del río viaja con la corriente, pasando por todos los sitios de muestreo. En un sitio dado, entonces, habrá de pasar una cantidad determinada de insecticida en cierto intervalo de tiempo.

Una vez agregado el insecticida se realizaron las pruebas de aguas, que consistieron en tomar una muestra de agua en un determinado lugar, realizar la extracción del insecticida, y la determinación posterior de la concentración del mismo.

Con respecto al método de análisis se decidió emplear el cromatógrafo de gas, primero, por ser un aparato de separación muy preciso y específico, y segundo, por tener este método un límite de detección muy bajo, con el cual se pueden detectar concentraciones tan pequeñas como 0.1 ppm fácilmente (26).

Se muestrea el agua para hacer un estudio sobre la concentración del insecticida y su forma de distribución a lo largo del río, pero esto no nos dice nada acerca de su adsorbividad al suelo, o a las ramas, y en qué forma se está perdiendo en el río. Se podría dar el caso que en cierto lugar del río se exterminara la población larval, y en otro no. Esto podría deberse entonces a que en un lugar en especial se acumuló una mayor cantidad de insecticida.

Se puede apreciar que esto se puede convertir en un problema serio para el químico analítico, ya que se puede estar muestreando solamente la superficie del agua y haciendo perfectamente bien el análisis, pero los resultados serían entonces con referencia a la superficie del río nada más. Resulta entonces lógico que un análisis completo debe incluir no sólo el agua, sino toda la materia que esté en el río en el lugar de muestreo, como tierra, lodo, arena, hojas, ramas y piedras. Analizando cada una de estas partes o componentes del riachuelo, se tendrá una información más completa de lo que realmente está sucediendo.

Se procedió a tomar muestras representativas de agua a aproximadamente 5 cms de profundidad en cada sitio de muestreo. Se conoce el hecho que el insecticida se adsorbe fácilmente a las superficies, y que es absorbido por la materia orgánica (27),(28). Entre las posibles materias a analizar, además del agua, resalta el lodo o arena del fondo del riachuelo, por presentar una gran superficie de contacto, para adsorción o absorción del pesticida.

El método de análisis de la tierra se debe realizar según el procedimiento descrito por Miles (29), que consiste en secar las muestras al aire, pesarlas y proceder a la extracción con acetona. Estos extractos de acetona se diluyen en agua destilada, se llevan a un volumen igual al de las muestras acuosas, y luego se extraen con n-hexano, tal como se describe en la siguiente sección. En el presente caso

no se trataron de esta forma las muestras de tierra, ya que no se tuvo a la disposición este procedimiento. Por lo tanto, se analizaron de la misma manera que las muestras acuosas.

El muestreo ideal sería tomar una porción de tierra con un área, volumen, y a una profundidad determinadas, y realizar la extracción correspondiente. Pero el problema es recoger una muestra uniforme, sin que se agite, sin que se revuelva, sin que se diluya más. Además, se tiene que tener en cuenta la irregularidad de los depósitos de lodo y arena en el río.

Debido a que la absorción del pesticida probablemente ocurrirá sobre la capa más superficial de la tierra, pues se supone que no hay tiempo para que migre en grandes cantidades a mayores profundidades, lo importante en este tipo de muestreo es conocer el área más que el volumen. El procedimiento empleado utilizó un tubo de PVC de 2.5 pulgadas de diámetro, el cual se introdujo rápidamente en el agua, hasta penetrar en la tierra. Luego se tapó el fondo del mismo con una superficie lisa, para evitar la fuga de la tierra recolectada. Una vez afuera del agua, se eliminó el exceso de la misma por decantación, se guardó la tierra en una caja de Petri, y se procedió luego a la extracción y análisis. Este método tiene la desventaja que al introducir una tapadera bajo el tubo, se pierde un poco de tierra, además del problema que no se recoge un volumen constante.

Se debe tener en cuenta que no se tiene un tiempo indefinido para hacer el muestreo, ya que el insecticida no se agregará constantemente, sino que durante un período muy corto. Para lograr hacer el muestreo en ese intervalo, se agregó un colorante al agua, con lo que se determinó exactamente el tiempo que se tardaba en llegar de un sitio a otro una solución agregada al río. Esto se hace para tomar las muestras de agua, lodo, etc. cuando realmente está presente el insecticida, y no cuando sea demasiado tarde, o demasiado temprano.

IV. METODOLOGIA

1. METODOS DE ANALISIS

Existen varios métodos para hacer la identificación y cuantificación de pesticidas, que han sido desarrollados en los últimos años (30). Uno de estos métodos, rápido y sencillo, fue desarrollado por Dale & Miles (30), y consiste en una separación cromatográfica de residuos de pesticidas.

El análisis de trazas de pesticidas en presencia de sustancias biológicas interferentes presenta para el químico analítico un gran problema. Algunos de los métodos antiguos para el aislamiento de pesticidas encontrados en grasa, son destructivos para compuestos ácido-sensitivos. Métodos que utilizan hidrólisis lipofílica y alcalina también son destructivos para ciertos pesticidas. Jones & Reddick (31) desarrollaron un procedimiento para la separación de las sustancias interferentes del pesticida, y se basa en la extracción selectiva del compuesto con n-hexano por medio de acetonitrilo. El inconveniente de este método es que los pesticidas que se pueden utilizar tienen que tener un coeficiente de partición (valor - p) favorable, los cuales varían entre 0.01 y 0.26 (32).

Se ha elaborado una columna de partición que separa efectivamente el pesticida de la grasa y otros materiales biológicos, eluyendo en n-hexano la muestra, y utilizando acetonitrilo como fase estacionaria (32). Bowman & Beroza determinaron los valores - p para 131 pesticidas en 6 solventes binarios, valores que son muy importantes para determinar si una columna de partición separará un pesticida dado de los compuestos interferentes (33).

Comparando las ventajas y desventajas de estos métodos, se optó por el método cromatográfico, ya que se trata de determinar contenidos traza (menores de 1 ppm) en muestras acuosas principalmente.

2. METODO DE EXTRACCION DE ABATE DEL MEDIO DE APLICACION

El pesticida se encuentra disperso en muestras de agua y lodo del río, por lo que es necesario establecer un método de extracción del mismo para su cuantificación. Blinn & Pasarela (34) proporcionan un método, el cual es efectivo cuando el análisis se va a efectuar en un sitio cercano al de muestreo, pero no es muy efectivo, según Dale & Miles, si la muestra se tiene que transportar lejos (35). Existen varios otros métodos (36), pero el que mejor se adapta a las condicio-

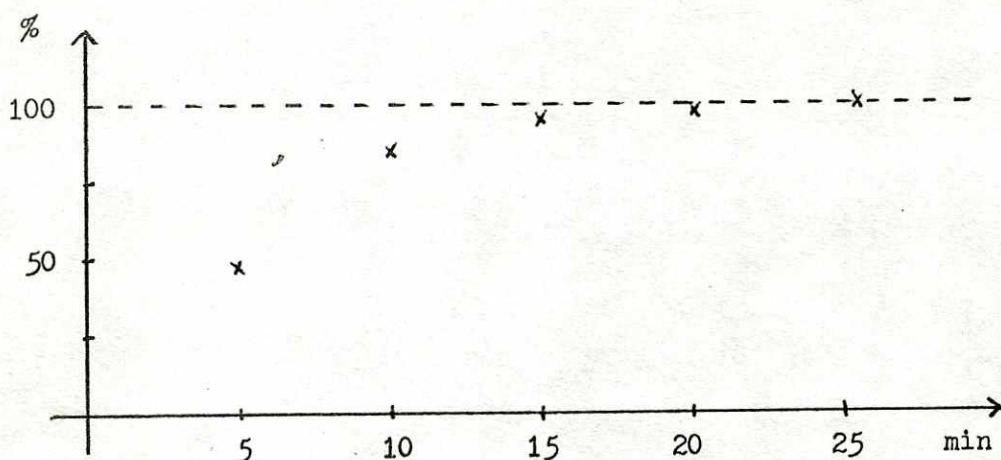
nes de transporte necesarias cuando el análisis se va a hacer lejos del lugar de muestreo es el propuesto por Miles & Dale (36).

La técnica convencional de extracción recomendaba tomar muestras de 100 a 1500 ml de agua, que inmediatamente se introducen en un embudo de separación, y en el que también se vierte el solvente, en porciones separadas. Se agita fuertemente, y se obtiene la muestra disuelta en el solvente. Se puede utilizar como solvente cloroformo, n-hexano, o heptano.

El método utilizado en este estudio es una modificación del anterior. Consiste en tomar 300 ml de la muestra acuosa, en los diferentes puntos estratégicos. Esta cantidad se recoge en un balón volumétrico de 500 ml, con tapón esmerilado de vidrio. A esta muestra se le agrega 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, luego se adicionan 10 ml de n-hexano redestilado, o grado analítico, al balón. Se introduce un magneto de 1 x 4 cm, y se agita vigorosamente durante 15 - 30 min sobre un agitador magnético. Al cabo de 15 - 30 min se para la agitación, y se le agrega agua destilada hasta que la capa de n-hexano suba al cuello del balón. Después de que las fases se separen totalmente, se toma una alícuota de 5 ml con una pipeta volumétrica, y la muestra es enviada al laboratorio para el respectivo análisis. El dato de 15 minutos mínimo de agitación no fue escogido al azar, sino que fue determinado en base a experimentos de extracción de Abate de una solución acuosa, siempre siguiendo el procedimiento anteriormente citado. Estas extracciones se hicieron con n-hexano durante un período de tiempo de 5 a 25 minutos. El porcentaje de recuperación fue determinado por medio de un cromatógrafo de gases, y los resultados se presentan en la gráfica #1.

Como se observa en la gráfica # 1, en 15 minutos ya existe un nivel de recuperación aceptable (99 %). Ya que un muestreo involucra una gran cantidad de muestras, los minutos en estos casos suelen ser muy valiosos. En los casos donde el tiempo lo permita, se hacen extracciones durante un período más largo (aproximadamente 25-30 min).

Gráfica # 1. Porcentaje de recuperación de Abate con respecto al tiempo de agitación (36).



El empleo de n-hexano como mejor solvente también fue determinado experimentalmente, comparando extracciones con cloroformo, benceno y n-hexano. El resultado, expresado en porcentaje de recuperación, fue el siguiente (36) :

Cloroformo	66.4 % ^a	1.5 ^b
Benceno	91.3 %	5.9
n-Hexano	97.5 %	1.4

a = valor promedio

b = desviación estandard

Estos datos resultan un tanto curiosos, ya que el Abate es mucho más soluble en cloroformo y benceno que en n-hexano. Esta divergencia de lo expuesto en generalidades del Abate se debe probablemente a que las gotas de Abate se dispersan mejor en n-hexano, durante el proceso de agitación. Entonces, a pesar de que el Abate es relativamente insoluble en n-hexano, se disuelve en éste casi cuantitativamente, debido a su completa insolubilidad en agua.

Se debe tener en cuenta la afinidad del Abate por el vidrio. Cada vez que se hace una transferencia de las muestras, las paredes de los recipientes deben ser limpiadas a fondo, preferiblemente con acetona. También se debe hacer un lavado de paredes al hacer una concentración por medio de evaporación, o cualquier trasvase en general.

3. DETERMINACION DE ABATE POR CROMATOGRAFIA DE GASES, UTILIZANDO UN DETECTOR FOTOMETRICO DE LLAMA (FPD) Y/O UN DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES (ECD).

Se han propuesto varios métodos para la determinación de residuos de Abate, pero ninguno de ellos resulta satisfactorio para la determinación a niveles tan bajos como se utiliza en el tratamiento de agua potable (36). Existe un método colorimétrico desarrollado por Blinn & Pasarela (34), que se basa en la reacción del producto de hidrólisis, el 4,4-tiodifenol, con 4-aminoantipirina y peryodato, y una subsecuente determinación a 485 nm.

Recientemente se elaboró un nuevo método muy rápido, efectivo y altamente específico, que utiliza un cromatógrafo de gases, equipado con un detector fotométrico de llama (FPD), o un detector de captura de electrones (ECD). Este método es muy satisfactorio para la determinación de Abate en agua potable, y es el que fue empleado en el presente trabajo.

3.a. Materiales y Reactivos .

Reactivos :

- Abate, standard analítico, con una pureza mínima de 99 % (American Cyanamid Co.).
- Algodón U.S.P., extraído con acetona durante una noche en un extractor Soxhlett; secado al aire, y luego calentado a 100 °C durante dos horas.
- GE goma de nitrito de silicona XE 60, sobre 80/100 mesh Chromosorb W, tratada con D.M.C.S.
- 5 % OV-101 sobre Gas-Chromosorb Q, 80/100 mesh.
- tubo de vidrio para columna, 2 mm de diámetro interno

Aparatos y Materiales :

- Cromatógrafo de gas Micro Tek MT - 220 (TRACOR), equipado con un FPD Melpar , además de un ECD.
- Jeringa para cromatografía de gases Hamilton de 10 µl
- Integrador Hewlett-Packard modelo HP 3380 A
- Material para extracciones.
- La columna empacada con goma de nitrito de silicona fue preparada por personal del CDC, en el laboratorio del Dr. J. Miles (Atlanta, Georgia, U.S.A.)

3.b.Preparación de Estándares :

Se pesan exactamente 0.030 g de Abate analítico, y se transfieren a un balón volumétrico de 25 ml, aforando con acetona. Por medio de dilución con n-hexano se preparan soluciones estándar que contengan 1.0, 12.0 y 60.0 ng de Abate/ μ l.

Se inyectan de 1 a 10 μ l (con ECD de 1 a 5 μ l) de los estándares de 1.0 y 12.0 ng/ μ l al cromatógrafo, que se opera bajo las siguientes condiciones (los datos en paréntesis se refieren a ECD) ;

Temperatura de la columna	:	240 °C	(200 °C)
Entrada y salida del block	:	250 °C	(250 °C)
Detector	:	240 °C	(200 °C)
Gas portador nitrógeno	:	150 cc/min a 50 p.s.i.	(77 cc/min a 50 p.s.i.)
Hidrógeno	:	150 - 200 cc/min a 20 p.s.i.	
Oxígeno	:	15 cc/min a 60 p.s.i.	
Atenuación	:	$10^2 \times 64$	($10^2 \times 2$)

Los datos anteriores se refieren a la columna de aluminio de $1/4$ " .

Las condiciones para la columna de vidrio son (aplicables nada más a FPD) :

Detector	:	280 °C	
Columna	:	270 °C	
Entrada del block	:	280 °C	
Nitrógeno	:	30 ml/min	; Oxígeno : variable
Hidrógeno	:	140 ml/min	; Aire : 80 ml/min

Se grafican alturas o áreas de picos vrs. cantidad inyectada, y se obtiene una curva de calibración. En el caso de utilizar FPD con filtro de azufre es necesario graficar en papel log-log para volver lineal la respuesta. Si se utiliza FPD con filtro de fósforo, la respuesta es casi lineal, al igual que cuando se analiza con ECD (35).

V. PROCEDIMIENTO.

El procedimiento seguido en las dos aplicaciones es el mismo, salvo en ciertos pasos que se detallan en los siguientes párrafos.

Lo primero que se hizo fue determinar y marcar los diferentes sitios o puntos de muestreo, tanto para larvas como para muestras acuosas de tierra, y los cuales no coinciden necesariamente. En el presente trabajo, cuando se habla de un sitio de muestreo se refiere a un sitio de muestreo de agua; de lo contrario se especifica. Se estableció el sitio 4 a 10 metros más arriba del puente, y a partir de este sitio se determinaron, en dirección río arriba, 4 sitios más; enumerándolos respectivamente como sitio 3, sitio 2, sitio 1 y sitio 0. Ya que a lo largo del río corre un tubo de PVC, dividido en varias secciones del mismo largo, se usó éste para determinar los sitios de muestreo, los cuales quedaron a distancias casi iguales entre sí.

El sitio 0 está $10 \text{ m} \pm 0.5$ más abajo del punto de aplicación tanto del insecticida como del colorante. Todos los sitios fueron marcados con pintura amarilla en puntos estratégicos para su futura y fácil localización. En el mapa # 3 se puede apreciar la localización de los diferentes sitios, inclusive la de los sitios 5, 6 y 7, que están río abajo. Los sitios A, B y C corresponden a los ríos, siendo A y B los que forman el río Pie Cumbre, y C es el río Corralitos (punto de aplicación del insecticida y colorante), el cual se une al anterior entre el sitio 5 y el sitio 6.

Se determinó que el último sitio interesante de muestreo era el sitio 4, lo cual implica que el cálculo de la cantidad necesaria de insecticida se hace en base a la cantidad de agua que fluye por este sitio, y hasta aquí se supone que va a ser efectiva la misma, ya que Dale & Miles (35) calcularon la efectividad del Abate en esta clase de riachuelos en no más de 500 m. En el sitio 4 entonces se hicieron mediciones de anchura, profundidad y velocidad promedio. Luego se hizo el cálculo del insecticida necesario basado en una descarga instantánea durante 10 minutos, para alcanzar 0.1 ppm en la primera aplicación y 0.05 ppm en la segunda. En la primera aplicación también se calculó la cantidad necesaria de insecticida para tratar el río Corralitos, entre el sitio C y el sitio 6.

Para saber el tiempo necesario en llegar de un sitio al otro, se añadió un colorante de color rojo al agua, y se fue cronometrando el tiempo entre cada sitio. En algunos casos fue necesario agregar más colorante, ya que se hacía imposible detectar el frente del mismo.

Esto solamente se hizo para la primera aplicación, y se supuso que para la segunda aplicación los tiempos no iban a variar mucho con respecto a los ya establecidos, al hacer una comparación entre los flujos de agua calculados.

En ambas aplicaciones se calculó la cantidad de agua que fluía hacia el sitio B desde el sitio A, y tomando el porcentaje del total del insecticida a agregar, se echó desde el sitio B, a un determinado tiempo, el cual también había sido calculado anteriormente con colorante.

Antes de las aplicaciones, se determinó una persona para cada sitio además de la persona encargada de aplicar el insecticida. Cada persona tenía doce recipientes la primera vez, y solamente seis la segunda. Esto se debió a que en la primera aplicación se hicieron recolectas dobles, para ser mandadas luego a los E.E.U.U. unas, y analizadas en UDV las otras. Cada botella de plástico (Nalgene) tenía una marca hasta aproximadamente 300 ml, hasta donde se tenía que llenar. Además, cada persona tenía escrito en un papel la hora exacta de muestreo, durante media hora y a intervalos de cinco minutos.

En la segunda aplicación se redujo a tres el número de muestras en el sitio 0 y a intervalos de dos minutos. Además no se muestreó en el sitio 6.

La aplicación de insecticida para todos los casos se basó en una descarga instantánea del concentrado emulsificable, lavándose el recipiente dos veces con acetona, y luego con agua del río.

Después de la recolección de muestras, se procedió con la extracción de las mismas. Antes y después de la aplicación de insecticida se llevó a cabo una recolecta de larvas, lo cual se hizo recogiendo en los distintos sitios, 20 hojas que yacían en el río, a lo largo de 10 m en cada sitio, y colocándolas luego en bolsas plásticas autosellables. En UDV eran sacadas y contadas por colaboradores del CDC. En algunos casos se introdujeron sustratos falsos al río como bolsas plásticas, o pedazos de metal u hojalata, para ver si se adherían o no las larvas a los mismos. Las larvas adheridas a estos sustratos fueron contadas con las demás, haciendo de caso que era una hoja recolectada.

1. EXTRACCION DE MUESTRAS

1.a. Primer Tratamiento:

Las muestras 0-1, 0-2, 0-3, 0-4, 0-5, 0-6 fueron extraídas el mismo día de la aplicación, siguiendo el procedimiento indicado en la sección anterior. Las muestras 1-1 y 1-2 también se lograron extraer el mismo día. Estas extracciones se llevaron a cabo en el laboratorio del CDC en Quixayá, Patulul (Such.).

Dos días después se continuó con las extracciones. Las muestras habían sido colocadas en el refrigerador, por lo que hubo que ponerlas a temperatura ambiente durante un período de tiempo para esperar que se deshiciera el hielo formado. La mayoría de las muestras pudieron ser sometidas a la extracción sin necesidad de calentamiento. La única muestra que tuvo que ser calentada fue la 1-6.

La muestra St.1 se hizo para tener referencia sobre la influencia de un almacenamiento largo a las muestras y posterior análisis. Por consiguiente debería ser tratada de la misma forma que las demás muestras. Se tomaron 0.1 ± 0.01 ml de Abate al 20 % EC y se disolvieron en 1000 ml de agua destilada; luego se tomó una alícuota de 1 ml y se disolvió en 1000 ml de agua destilada.

Al día siguiente, o sea tres días después de la aplicación, se extrajeron las muestras S-S (estandar). En la S-S1 se tomaron nada más 200 ml de muestra más 10 ml de n-hexano, menos 5 ml de alícuota.

En todas las muestras de tierra, denominadas A-, fue necesario agregar NaCl para disminuir la emulsión formada (según consejo del Sr. Mc.Cray) y poder así tomar una alícuota.

A-C, A-2 y A-4-2 sólo fue posible extraerles una alícuota de 2 ± 0.01 ml. A todas las muestras A- se les agregó 300 ml de agua destilada, menos a la muestra A-C, a la cual se le agregaron 250 ml.

Las muestras de tierra tomadas en los sitios 0 y 1 fueron recogidas con tubería de PVC de 1 pulgada Sch 40, mientras que las muestras de los sitios 2, 3, y 4 fueron tomadas con tubería de PVC de 1.5 pulgadas Sch 40. El intervalo de tiempo entre cada muestreo fue de 10 minutos, y entre sitio y sitio, de 5 minutos. Las muestras se empezaron a tomar 60 minutos después de la aplicación de insecticida, empezando en el sitio 0.

Todas las muestras fueron almacenadas en el congelador.

1.b. Segundo Tratamiento:

Las extracciones de la segunda aplicación dieron comienzo cinco días después de haber hecho el tratamiento. Se siguió el mismo procedimiento que en el primer tratamiento.

Las primeras muestras en ser extraídas fueron 5-6, 5-4, 5-1, y 1-5. Luego se extrajeron las muestras 5-2, 5-3, 3-3, 3-4, 3-6, 3-5, y 3-1. Al tomar la alícuota de 5 ml fue dividida en dos, aproximadamente, para el posterior envío de una de ellas a los E.E.U.U. para su análisis por miembros del CDC. Todas las muestras fueron almacenadas en el congelador.

Siete días después de la primera extracción se continuó con el proceso, siendo extraídas las muestras 4-2, 4-3, 4-4, 4-1, 4-5, 4-6, 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 0-1, 0-2, y 0-3, de la cual sólo se tomaron 250 ml iniciales. Todas las muestras fueron extraídas con el mismo n-hexano grado analítico, proveniente de la casa Merck.

Diez días después de la anterior extracción se procesaron las muestras 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-6, 5-5, y 3-2.

Gatorce días después de la anterior extracción se procedió a extraer las muestras de tierra. Fue necesario agregar una cantidad de NaCl para tratar de romper la emulsión formada. De las muestras A-0, A-1, y A-B fue posible extraer únicamente 4 ml. De la muestra A-2 se pudo extraer solo 1.4 ml, y de las muestras A-3 y A-4 no se pudo extraer absolutamente nada, ya que fue imposible romper la emulsión formada.

De las muestras de tierra no se envió duplicado a los E.E.U.U., ya que el método de muestreo no fue el mismo que el empleado por ellos en la primera vez. (Ver discusión, p.50).

1.c. Preparación de las Pruebas de Laboratorio.

Estas pruebas se realizaron para determinar el porcentaje de extracción de las muestras de tierra recolectadas durante el primer y segundo tratamiento (ver extracción de muestras de tierra).

Se prepararon dos soluciones madre de diferente concentración, utilizando Abate 500 EC proveniente del CDC. De la solución madre se preparó una solución más diluída, de la cual se tomó una alícuota; se le agregaron 310 ml de agua, 10 ml de n-hexano p.a., y una cantidad de tierra equivalente al área de tierra recolectada en las muestras de los tratamientos (el área se midió con un tubo de PVC de 2.5 pulgadas de diámetro). Se mezcló vigorosamente durante 30 minutos, con un agitador magnético. Al terminar el proceso de agitación se extrajo una alícuota de esta solución; en algunas muestras fue necesario agregar NaCl para romper la emulsión formada. Estas alícuotas fueron analizadas en el cromatógrafo de gases al igual que las demás muestras.

Preparación de las soluciones patrón:

a) Se pesaron 0.0212 ± 0.0004 g de Abate 500 EC y se aforaron a 500 ml de agua destilada. De esta solución se tomó una alícuota de 1 ml y se aforó a 250 ml con agua destilada.

$$\text{Concentración} = \frac{21.2 \times 0.50 \times 1000}{500} = 21.2 \text{ mg de Abate/ l sol.}$$

b) Se pesaron 0.0197 ± 0.0004 g de Abate 500 EC y se aforaron a 500 ml de agua destilada. De esta solución se tomó una alícuota de 1 ml y se aforó a 100 ml con agua destilada.

$$\text{Concentración} = \frac{19.7 \times 0.50 \times 1000}{500} = 19.7 \text{ mg Abate/ l sol.}$$

Preparación de los extractos:

De la solución patrón de 19.7 mg Abate/l se tomó una alícuota de 5 ml y se aforó a 100 ml con agua destilada. Se midió la cantidad de tierra con el tubo de PVC, y se agitó fuertemente durante 15 minutos. Por decantación se separó el agua de la tierra; a ésta se le agregaron 310 ml de agua destilada, 10 ml de n-hexano, y se procedió al proceso de agitación mencionado anteriormente. Finalmente se extrajo una alícuota, la cual fue almacenada en frascos de vidrio.

El agua decantada se llevó a un volumen de 310 ml con agua destilada, y se extrajo con n-hexano al igual que todas las muestras.

Como se aprecia en el apéndice C, las muestras fueron denominadas 0.985 g y 0.985 f, lo cual significa una concentración inicial de 0.985 mg de Abate/l, mientras que g y f significan tierra gruesa y tierra fina respectivamente.

Para tener idea del porcentaje de extracción de Abate del medio acuoso, se prepararon dos muestras con diferente concentración. Se tomaron 2 ml de las soluciones patrón y se disolvieron en 300 ml de agua destilada. A estas muestras se les efectuó el mismo procedimiento de extracción que a las demás muestras acuosas, y posteriormente fueron analizadas en el cromatógrafo de gas. Las concentraciones respectivas de las muestras preparadas fueron:

$$\text{Muestra 19.7} = 19.7 \text{ g Abate/ ml} \times \frac{2 \text{ ml}}{300 \text{ ml}} = 0.131 \text{ ppm}$$

$$\text{Muestra 21.2} = 21.2 \text{ g Abate/ ml} \times \frac{2 \text{ ml}}{300 \text{ ml}} = 0.141 \text{ ppm}$$

Los resultados del análisis cromatográfico se aprecian en el Apéndice C.

VI. RESULTADOS GENERALES.

Los resultados generales del presente trabajo estarán divididos siempre en dos partes, correspondiente cada una a las dos diferentes aplicaciones de insecticida realizadas.

La determinación de los sitios de muestreo fue llevada a cabo una sola vez, el día anterior a la primera aplicación. Igualmente, la determinación de tiempos entre cada sitio se llevó a cabo una sola vez el día anterior a la aplicación.

Determinación de sitios:

Los diferentes sitios de muestreo quedaron distribuidos de la siguiente manera:

Sitio 4 = 10 ± 0.5 m en dirección río arriba del puente

Sitio 3 = 11 divisiones de tubería = 83.6 ± 0.22 m.

Sitio 2 = 12 divisiones de tubería = 91.2 ± 0.24 m.

Sitio 1 = 11 divisiones de tubería = 83.6 ± 0.22 m.

Sitio 0 = 11 divisiones de tubería = 83.6 ± 0.22 m.

Sitio de aplicación = 10 ± 0.5 m más arriba que sitio 0 y/o

0.5 ± 0.75 m abajo del nacimiento.

Determinación de tiempos:

Con la ayuda de un colorante se logró establecer el tiempo que tarda en llegar de un sitio a otro, un líquido vertido en el sitio de aplicación. Los tiempos obtenidos son los siguientes:

sitio	tiempo		sitio	tiempo	
	min.	seg.		min.	seg.
0	0	35	3	0	00
1	7	45	4	6	45
2	16	00	4	0	00
3	22	08	5	12	20

Esto implica que el colorante tardó aproximadamente 41 min. en llegar desde el punto de aplicación hasta el sitio 5. Este dato es importante para saber la cantidad de insecticida que se tiene que agregar, y más aún, cuando se deben realizar las operaciones de muestreo.

Mediciones Generales (primera aplicación):

En el sitio 4 se hicieron mediciones de anchura y profundidad en tres diferentes puntos, todos cercanos a este sitio, y los resultados son los siguientes:

ancho (m ± 0.05)	profundidad (cm ± 0.25)				
2.50	5	10	18	13	6
2.50	13	18	15	8	-
1.80	21	21	19	18	7

Tomando los primeros datos de ancho, obtenemos el siguiente promedio para los datos de profundidad:

ancho (m)	profundidad promedio	desv. std.
2.50 ± 0.10	(cm) 11.78	4.84

Luego se buscó un tramo de 5 m de largo, y por medio de una aplicación de colorante rojo, se hicieron mediciones de velocidad, para lo cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Largo = 5.0 ± 0.05 m
 Tiempo = 11.2 ± 0.1 seg
 10.0 ± 0.1 seg
 11.0 ± 0.1 seg
 Promedio tiempo = 10.73 seg.
 Desv. std. = 0.64

BIBLIOTECA
 DE LA
 UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

En el río Corralitos se hicieron las mismas mediciones que en el sitio 4, precisamente en el sitio C. Los resultados son los siguientes:

ancho (m ± 0.05)	profundidad (cm ± 0.25)										
3.75	8	7	8	9	9.5	13.5	14	9	5.5	4.5	3
2.20	4	10	8	4	7.5	10	12				
2.70	5	5.5	7	8	11.5	7	9	5	2		

Tomando los promedios y las desviaciones estandar, obtenemos los siguientes datos:

	ancho (m)	profundidad (cm)
promedio	2.88	7.65
desv.std.	0.79	3.06

Luego se buscó un tramo de 10 m de largo, y se midió la velocidad del río:

Largo = 10 ± 0.10 m
 Tiempo = 15.0 ± 0.2 seg
 15.0 ± 0.2 seg
 14.9 ± 0.2 seg
 Promedio tiempo = 14.97 seg
 Desv. Std. = 0.06

Mediciones Generales (segunda aplicación) :

Al igual que en la primera aplicación, se hicieron mediciones de anchura y profundidad en el sitio 4, obteniéndose los siguientes valores:

ancho (m \pm 0.05)	profundidad (cm \pm 0.25)						
2.40	5	8	17	23	12	5	23

Si calculamos los valores promedio obtenemos:

	ancho (m)	profundidad (cm)
promedio	2.40	13.29
desv. std.	----	7.8

Luego se tomaron dos tramos, aunque de diferente longitud, y se midió la velocidad, para lo cual se obtuvieron los siguientes valores:

Largo (m)	Tiempo (seg \pm 0.1)		t promedio	desv. std.
5.0 \pm 0.05	11.0	10.4	10.70	0.42
3.10 \pm 0.05	6.5	6.2	6.35	0.21

Además de estas mediciones, se hicieron otras muy parecidas en dos diferentes puntos de la presa, debajo del puente, y se obtuvieron los siguientes datos:

Río arriba:
 ancho = 50 \pm 0.5 cm
 profundidad = 9 \pm 0.5 cm
 largo = 65 \pm 0.5 cm
 tiempo = 0.4, 0.4, 0.3, 0.4 \pm 0.1 seg
 promedio tiempo = 0.38 seg
 desv. std. = 0.05

Río abajo:
 ancho = 45 \pm 0.5 cm
 profundidad = 12 \pm 0.5 cm
 largo = 46 \pm 0.5 cm
 tiempo = 0.6, 0.5, 0.6 \pm 0.1 seg
 promedio tiempo = 0.55 seg
 desv. std. = 0.06

En el río Ramito que se une al Pie Cumbre poco antes del sitio de aplicación, también se hicieron mediciones, las cuales dieron como resultados lo siguiente :

ancho = 0.66 \pm 0.05 m
 profundidad = 0.5, 2, 3, 3.5, 3, 1 \pm 0.25 cm
 largo = 1.5 \pm 0.10 m
 tiempo = 6.5, 2.9, 3.8, 2.8, 3.7, 3.3 \pm 0.1 seg

	profundidad (cm)	tiempo (seg)
promedio	2.17	3.83
desv. std.	1.21	1.37

Para dar un ejemplo de los datos necesarios y la forma de calcular la cantidad justa de insecticida que se desea agregar, se presenta un caso supuesto a continuación:

$$\text{profundidad} = 1.0 \text{ m}$$

$$\text{ancho} = 5.0 \text{ m}$$

Se tiene un tramo de área de 5 m^2 . Si la velocidad media promedio es de 1.2 m/seg , tendremos un flujo de agua de:

$$5.0 \times 1.2 = 6.0 \text{ m}^3/\text{seg}$$

Suponiendo que la aplicación se va a llevar a cabo durante 10 minutos (600 seg), el volumen de agua que pasará durante ese tiempo será de:

$$600 \times 6 = 3,600 \text{ m}^3 = 3,600,000 \text{ l.}$$

La concentración máxima deseada es de $0.1 \text{ ppm} = 0.1 \text{ mg/l}$. Esto implica que la cantidad de insecticida necesaria es:

$$3,600,000 \times 0.1 = 360,000 \text{ mg} = 360 \text{ gramos de Abate al } 100 \%$$

Pero como no se tiene a la disposición Abate al 100 %, sino que un concentrado emulsificable al 20 %, se usará entonces:

$$360 \times 100/20 = 1,800 \text{ ml E.C. al } 20 \%$$

Haciendo los cálculos respectivos para las dos diferentes aplicaciones, obtenemos:

1a. Aplicación: Río Pie Cumbre:

$$2.50 \times 0.1178 = 0.2945 \text{ m}^2$$

$$\text{vel} = 5.0 / 10.73 = 0.4660 \text{ m/seg}$$

$$\implies \text{flujo} = 0.2945 \times 0.4660 = 0.1372 \text{ m}^3/\text{seg}$$

Si lo agregamos durante un período de 10 minutos:

$$0.1372 \times 600 = 82.3392 \text{ m}^3 = 82339.2 \text{ l}$$

Como la concentración máxima deseada es de 0.1 ppm

$$\implies 8233.92 \text{ mg} = 8.23 \text{ g de Abate al } 100 \%$$

Pero como se va a utilizar un concentrado emulsificable al 20 %

$$8.23 \times 100/20 = 41.2 \text{ ml de Abate E.C. } 20$$

Río Corralitos:

$$2.88 \times 0.0765 = 0.2203 \text{ m}^2$$

$$\text{vel} = 10 / 14.97 = 0.6680 \text{ m/seg}$$

$$\implies \text{flujo} = 0.2203 \times 0.6680 = 0.1472 \text{ m}^3/\text{seg}$$

Si lo agregamos durante un período de 10 minutos:

$$0.1472 \times 600 = 88.3046 \text{ m}^3 = 88304.6 \text{ l}$$

Como la máxima concentración deseada es de 0.1 ppm

$$\implies 8830.46 \text{ mg} = 8.83 \text{ g Abate al } 100 \%$$

$$\implies 44.2 \text{ ml de Abate E.C. } 20$$

2a. Aplicación: Río Pie Cumbre:

$$2.40 \times 0.1329 = 0.319 \text{ m}^2$$

$$\text{vel} = 5.0/10.70 = 0.4673 \text{ m/seg}$$

$$\implies \text{flujo} = 0.319 \times 0.4673 = 0.1490 \text{ m}^3/\text{seg}$$

Si lo agregamos durante un período de 10 minutos:

$$0.149 \times 600 = 89.4280 \text{ m}^3 = 89428.0 \text{ l}$$

En este caso la máxima concentración deseada es de 0.05 ppm

$$\implies 4471.4 \text{ mg} = 4.47 \text{ g Abate al } 100 \%$$

$$\implies 22.4 \text{ ml de Abate E.C. } 20$$

Como en esta aplicación se quiso tratar de igual forma el río Ramito, se calculó entonces la cantidad a agregar de la siguiente forma:

$$0.66 \times 0.0217 = 0.0143 \text{ m}^2$$

$$\text{vel} = 1.5 / 3.83 = 0.3916 \text{ m/seg}$$

$$\implies \text{flujo} = 0.0143 \times 0.3916 = 0.0056 \text{ m}^3/\text{seg}$$

agregado durante 10 minutos:

$$0.0056 \times 600 = 3.3655 \text{ m}^3 = 3365.5 \text{ l}$$

Y deseándose una concentración máxima de 0.05 ppm

$$\implies 168.27 \text{ mg} = 0.1683 \text{ g Abate al } 100\%$$

$$\implies 0.84 \text{ ml Abate E.C. } 20$$

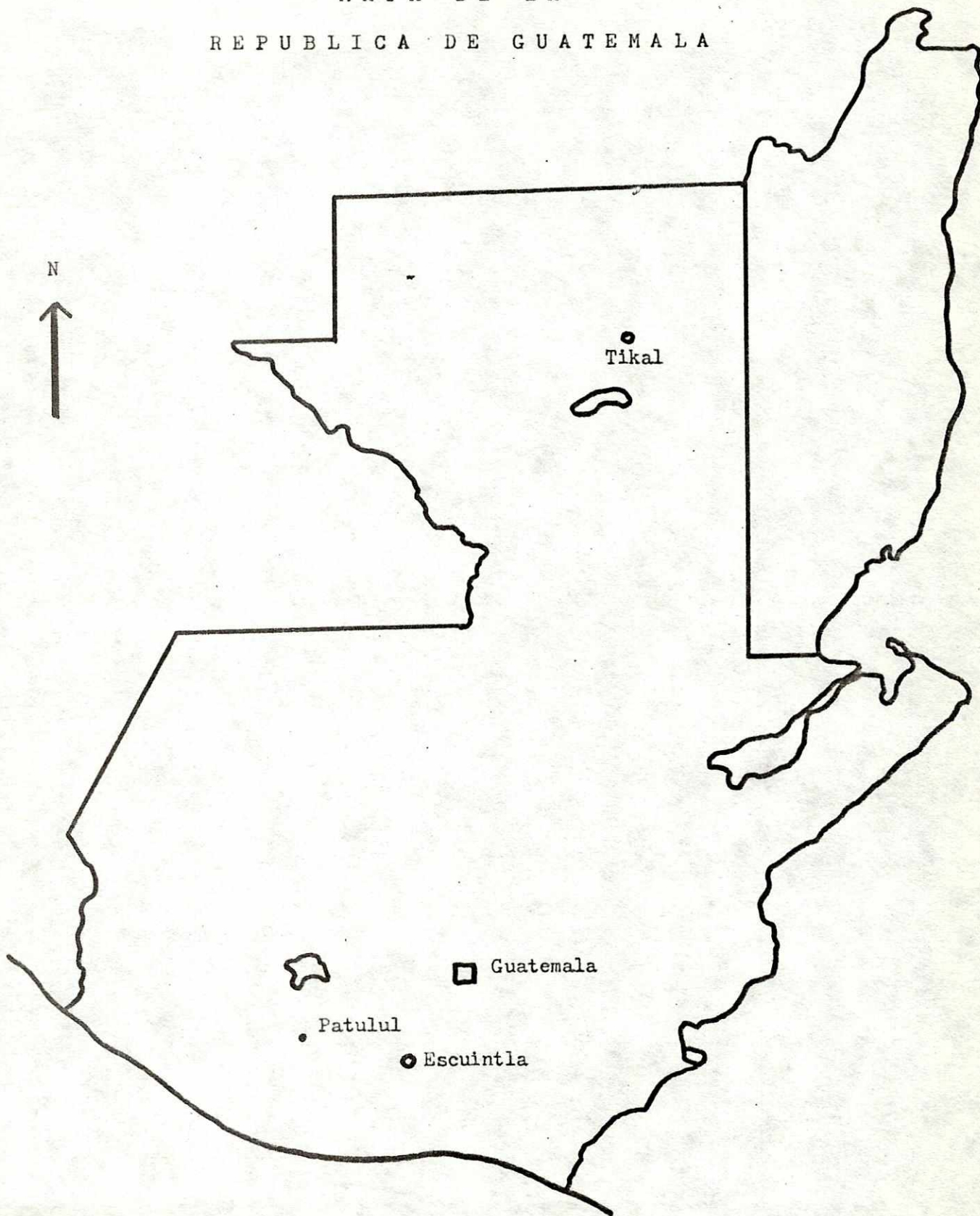
Pero se ha establecido que en riachuelos tan pequeños como éste, es necesario agregar por lo menos 0.1 ppm para que sea efectivo el tratamiento, por lo cual la cantidad a agregar en el río Ramito será aproximadamente 2 ml. Se agregaron entonces nada más 20 ml en el sitio de aplicación.

1. MAPAS DEL AREA DE ESTUDIO.

En las siguientes páginas se presentan tres diferentes mapas, los cuales dan a conocer la localización del área de estudio con respecto a la ciudad capital; la localización de los ríos estudiados con respecto al caserío y a las diferentes plantaciones; y la localización de los diferentes sitios de muestreo en ambos ríos.

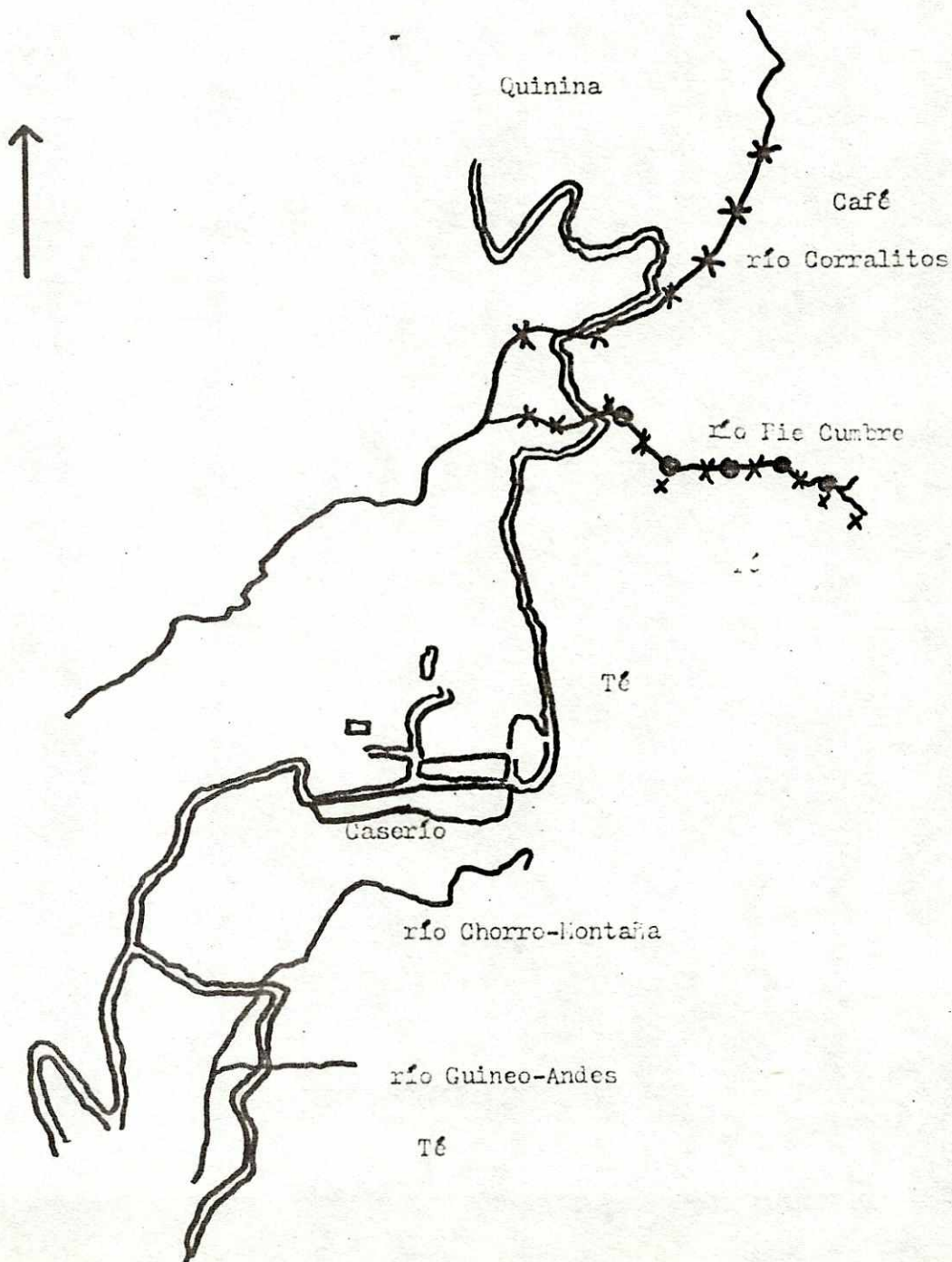
MAPA # 1

MAPA DE LA
REPUBLICA DE GUATEMALA



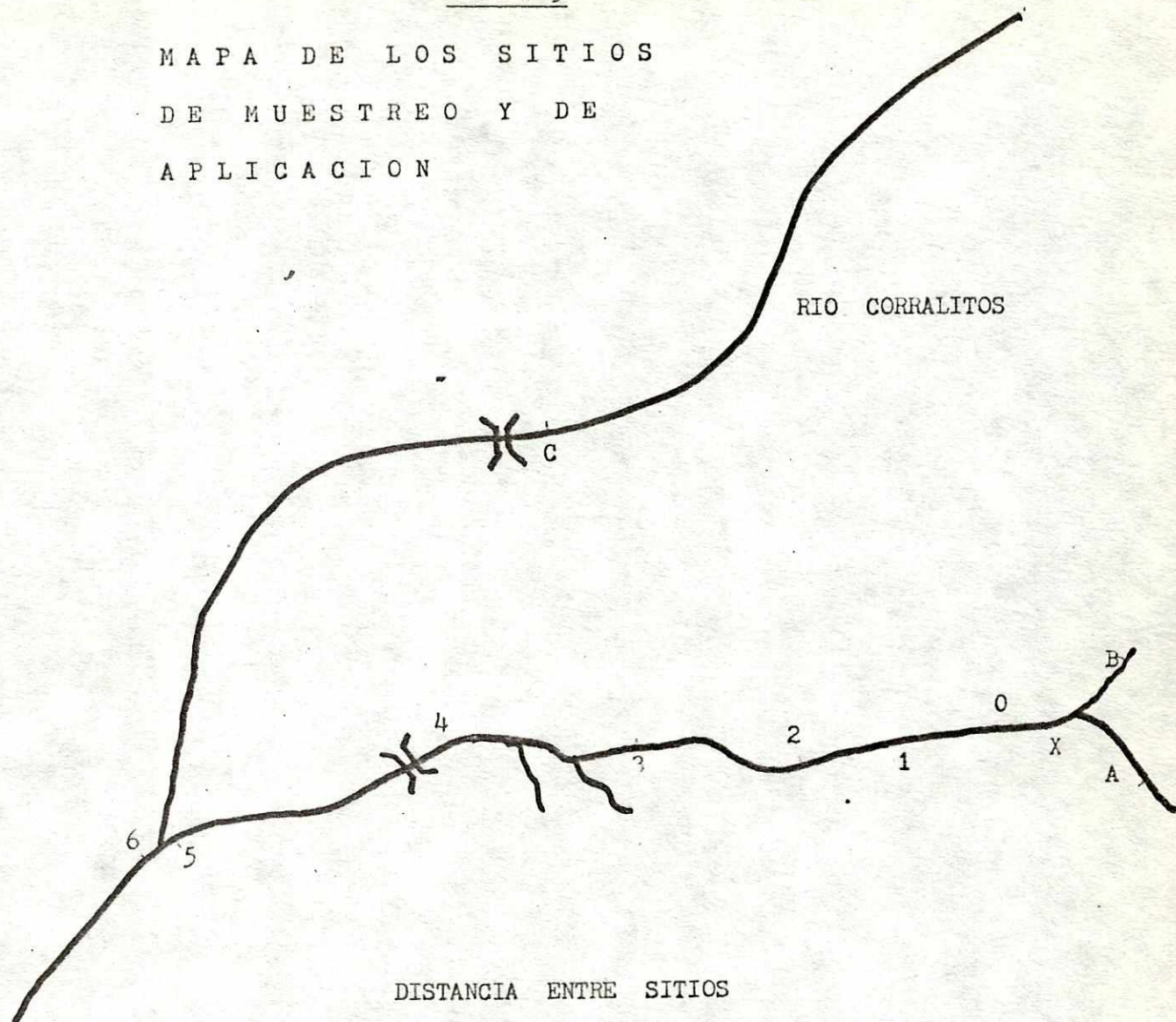
MAPA # 2

MAPA GENERAL DE LA FINCA 'LOS ANDES'



MAPA # 3

MAPA DE LOS SITIOS
DE MUESTREO Y DE
APLICACION



DISTANCIA ENTRE SITIOS

4 - 3	=	83.6 m	±	.25
3 - 2	=	91.2 m	±	.30
2 - 1	=	83.6 m	±	.25
1 - 0	=	83.6 m	±	.25
0 - X	=	10.0 m	±	.50

A = afluente

B = nacimiento del río Pie Cumbre

X, C = sitios de aplicación

2. PERFILES DE CONCENTRACION.

A continuación se presentan los resultados obtenidos al hacer los análisis de las muestras de la primera y segunda aplicación. Estas gráficas fueron hechas en base a los resultados que se presentan en el Apéndice C.

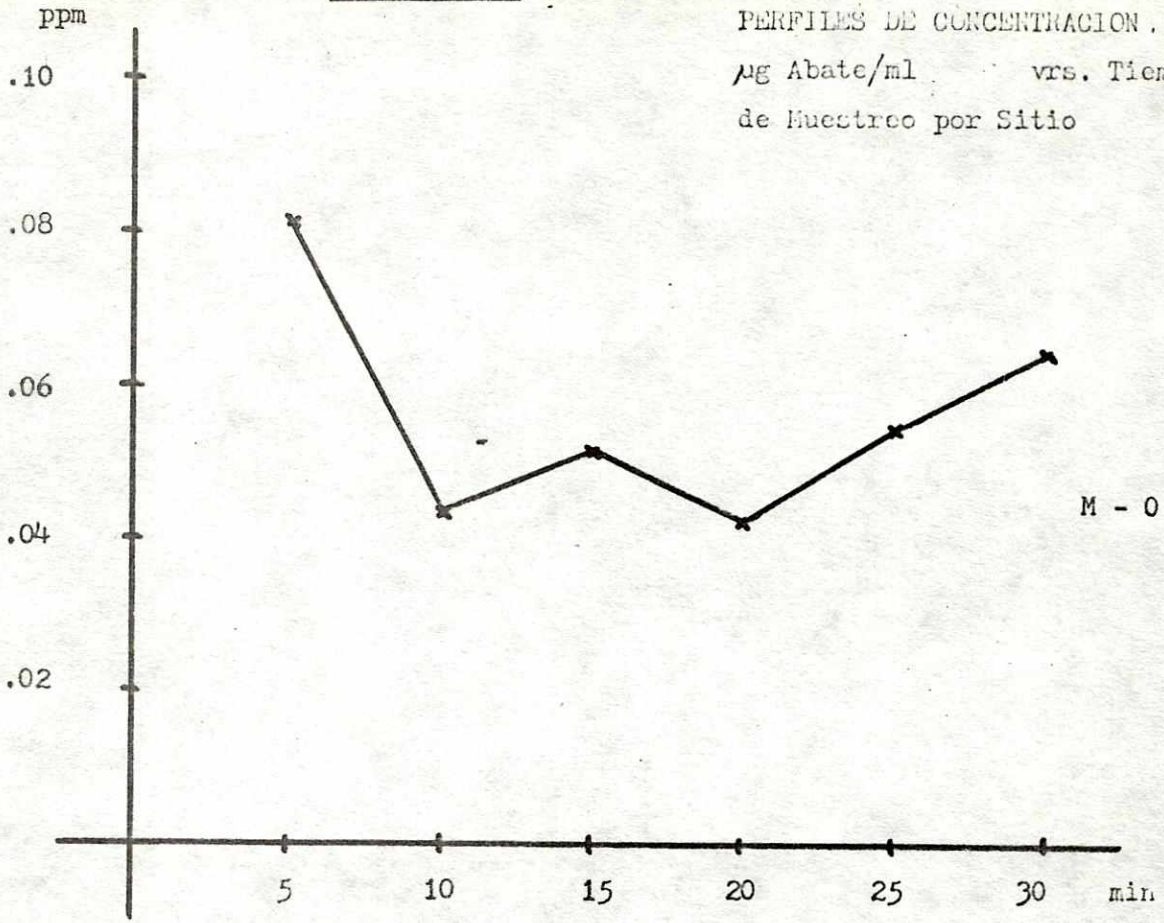
Las muestras M representan los datos para la primera aplicación, mientras que las muestras K representan los datos para la segunda aplicación. Como se puede observar, en las muestras K no existe el sitio 6 ya que en la segunda aplicación no se realizó muestreo en ese sitio.

Los minutos indicados en las gráficas representan el tiempo de muestreo correspondiente a cada sitio, teniendo en cuenta las diferencias de tiempo entre cada sitio, obtenidas al agregar un colorante al agua.

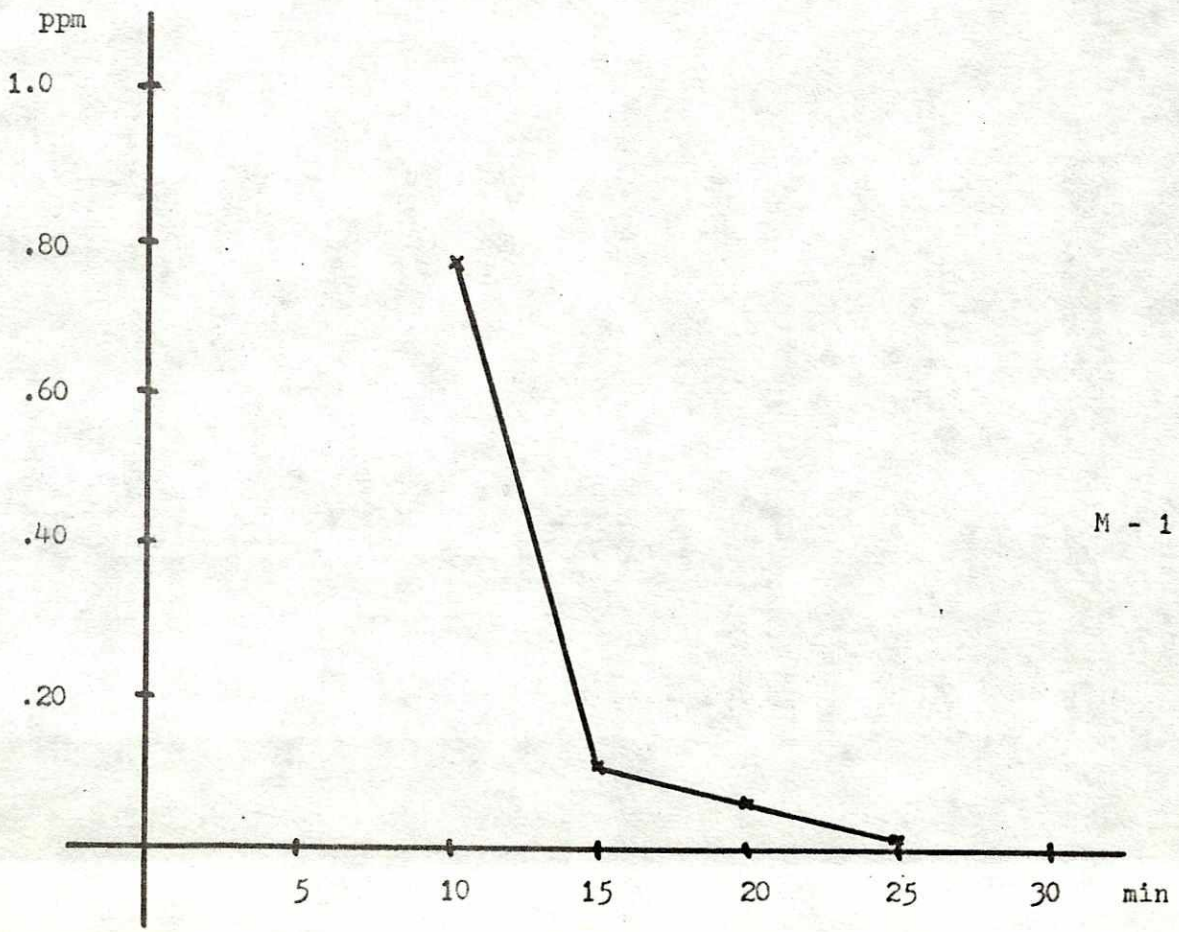
Las líneas punteadas significan que hace falta un dato intermedio, porque no se pudo analizar esa muestra en particular, y por lo cual no se puede establecer plenamente la forma de la gráfica en ese punto.

GRAFICA # 2

PERFILES DE CONCENTRACION.
 $\mu\text{g Abate/ml}$ vs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



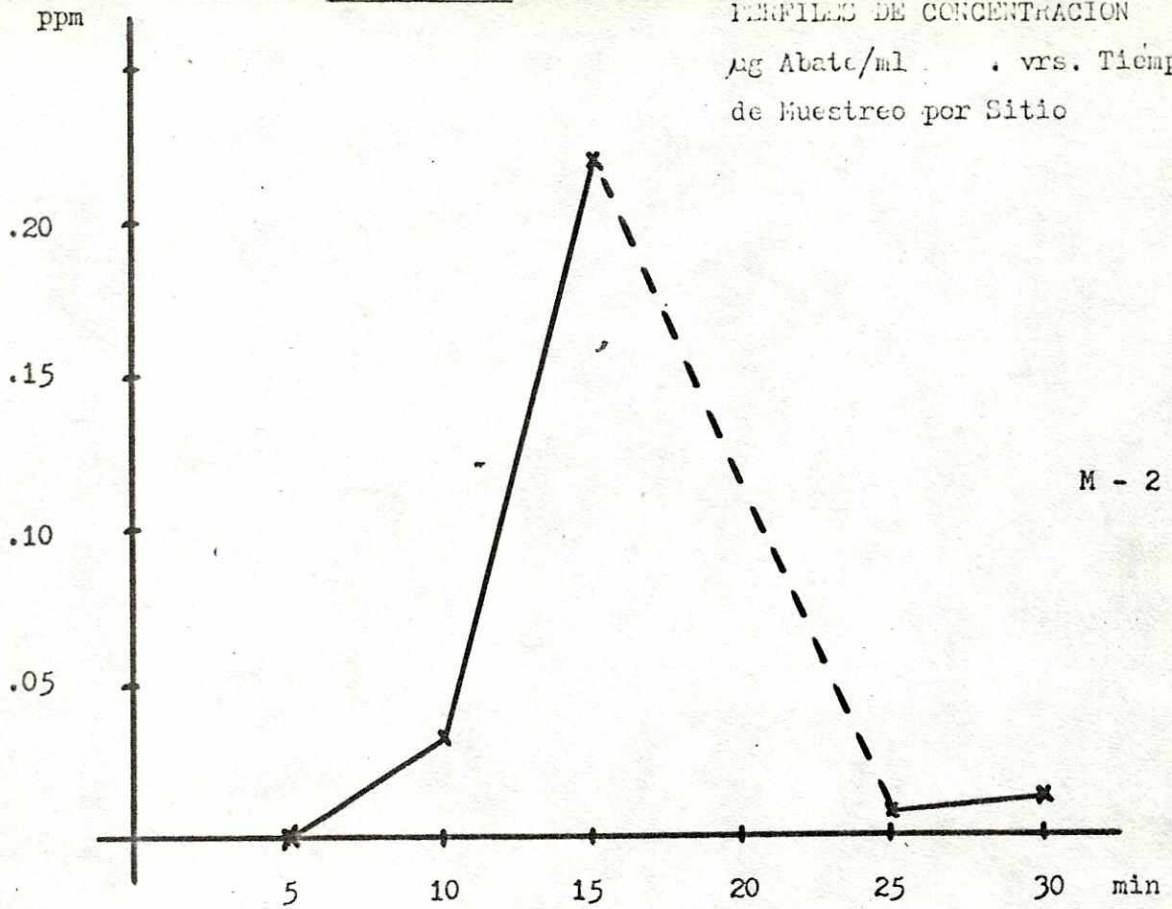
M - 0



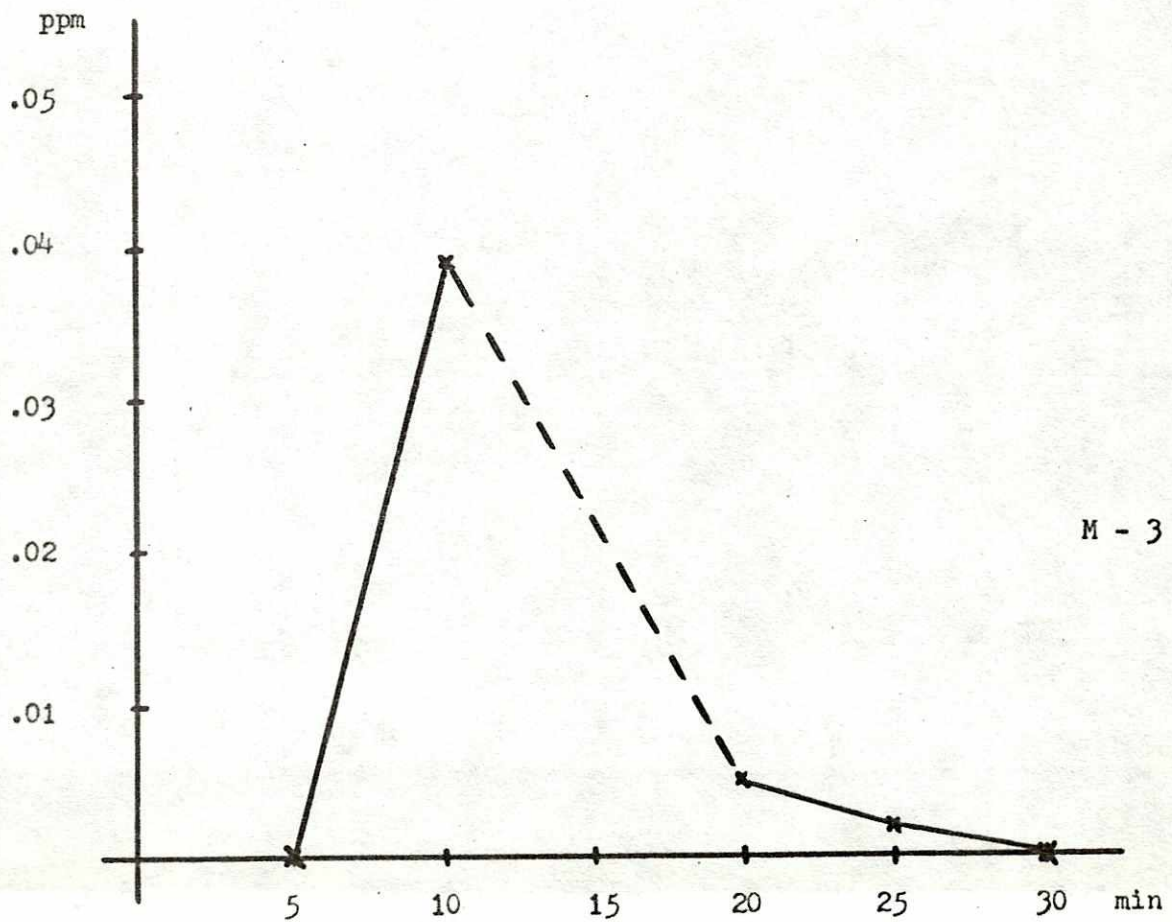
M - 1

GRAFICA #. 3

PERFILES DE CONCENTRACION
µg Abate/ml . vrs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



M - 2

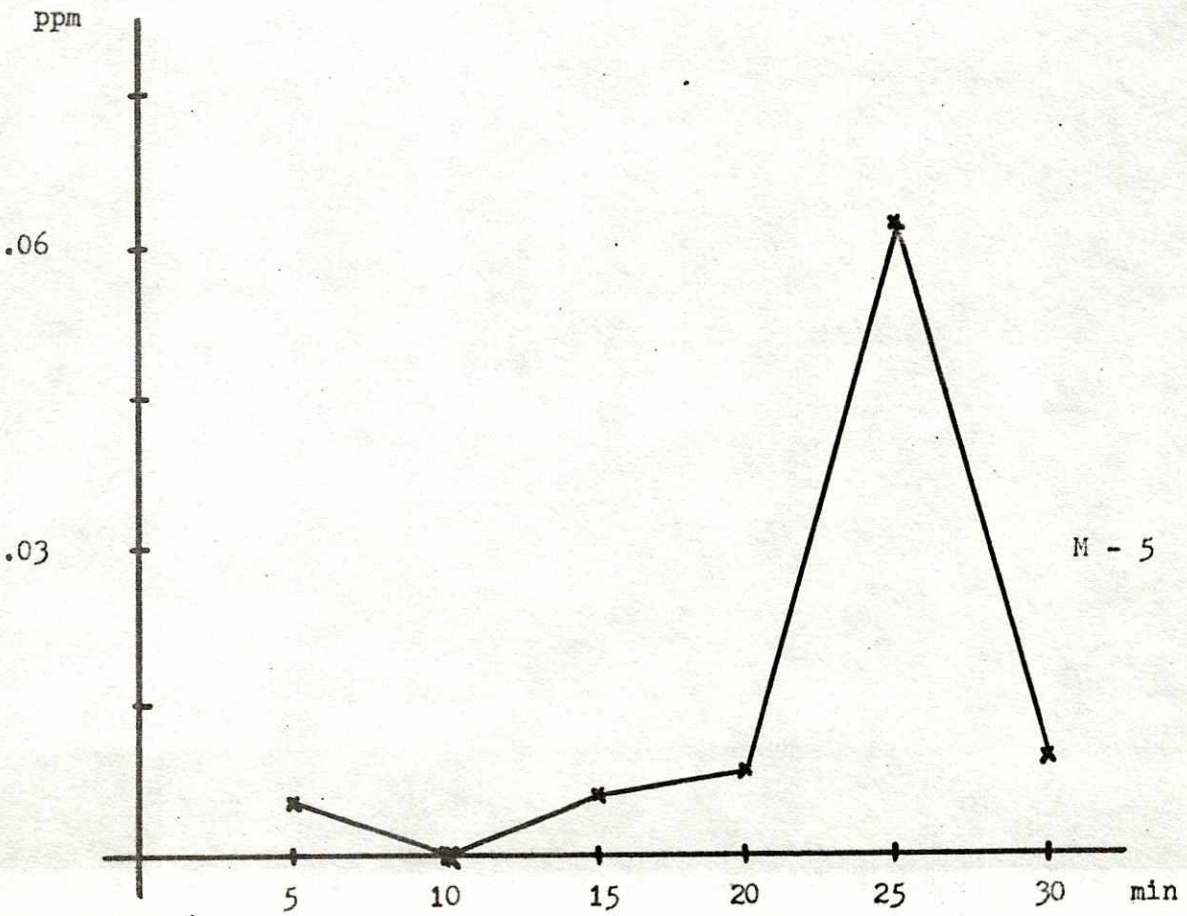
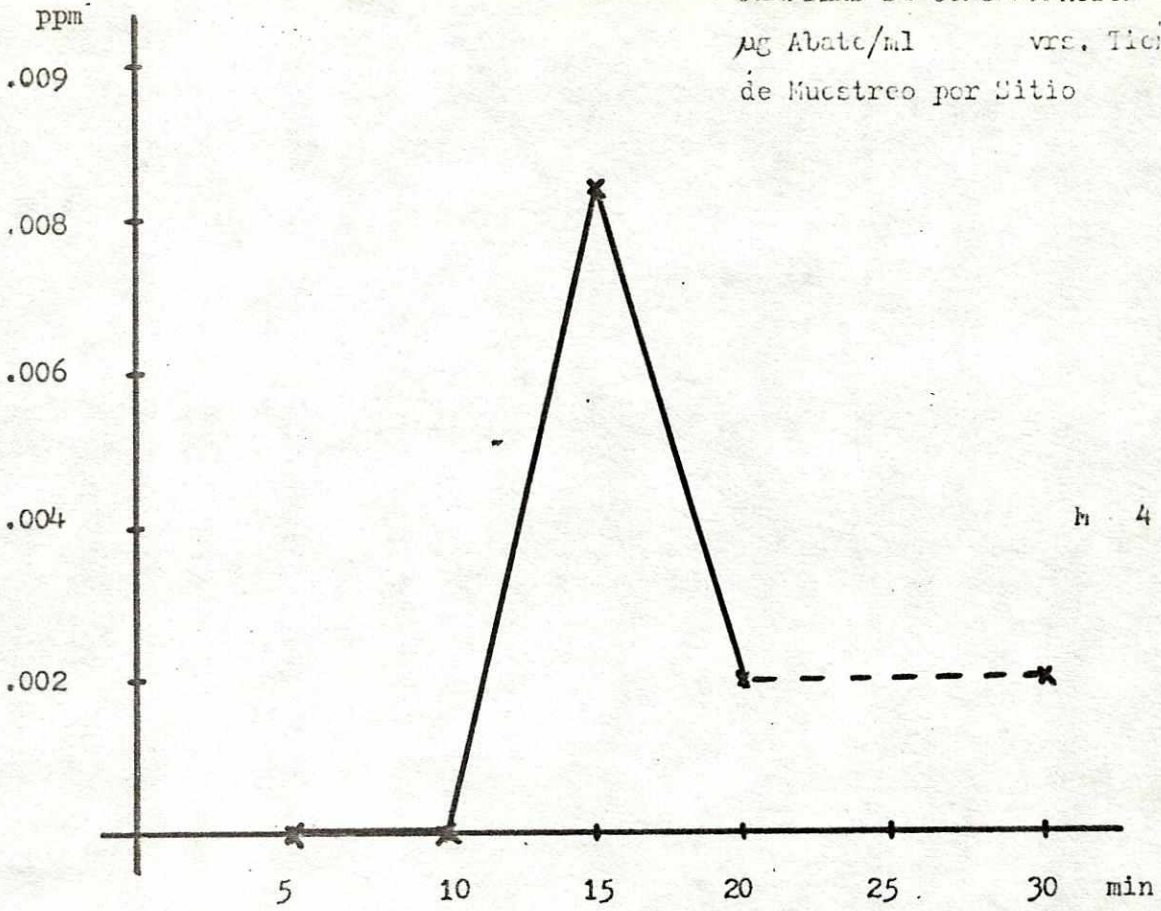


M - 3

GRAFICA # 4

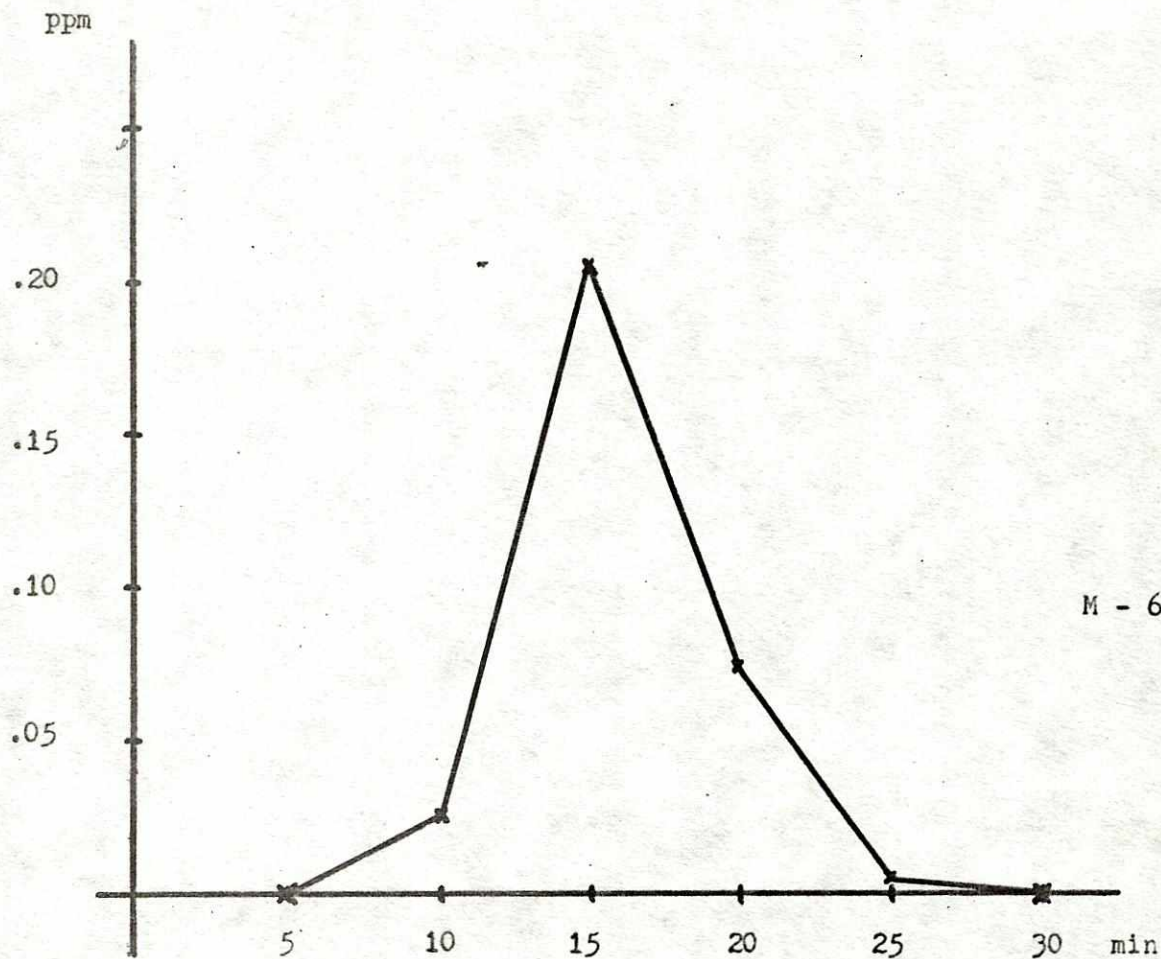
PERFILES DE CONCENTRACION

$\mu\text{g Abate/ml}$ vs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



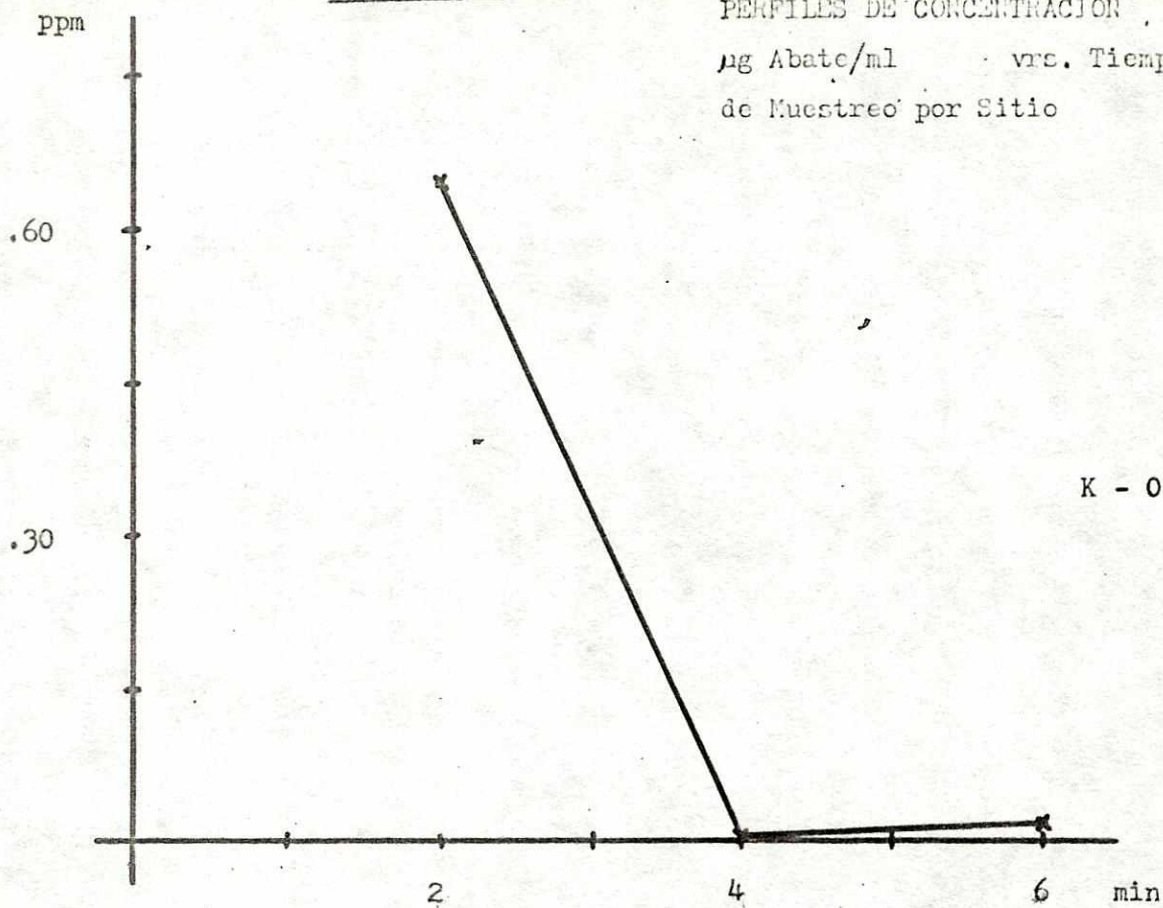
GRAFICA # 5

PERFILES DE CONCENTRACION
µg Abate/ml vrs. Tiempo
de Muestreo por Sitio

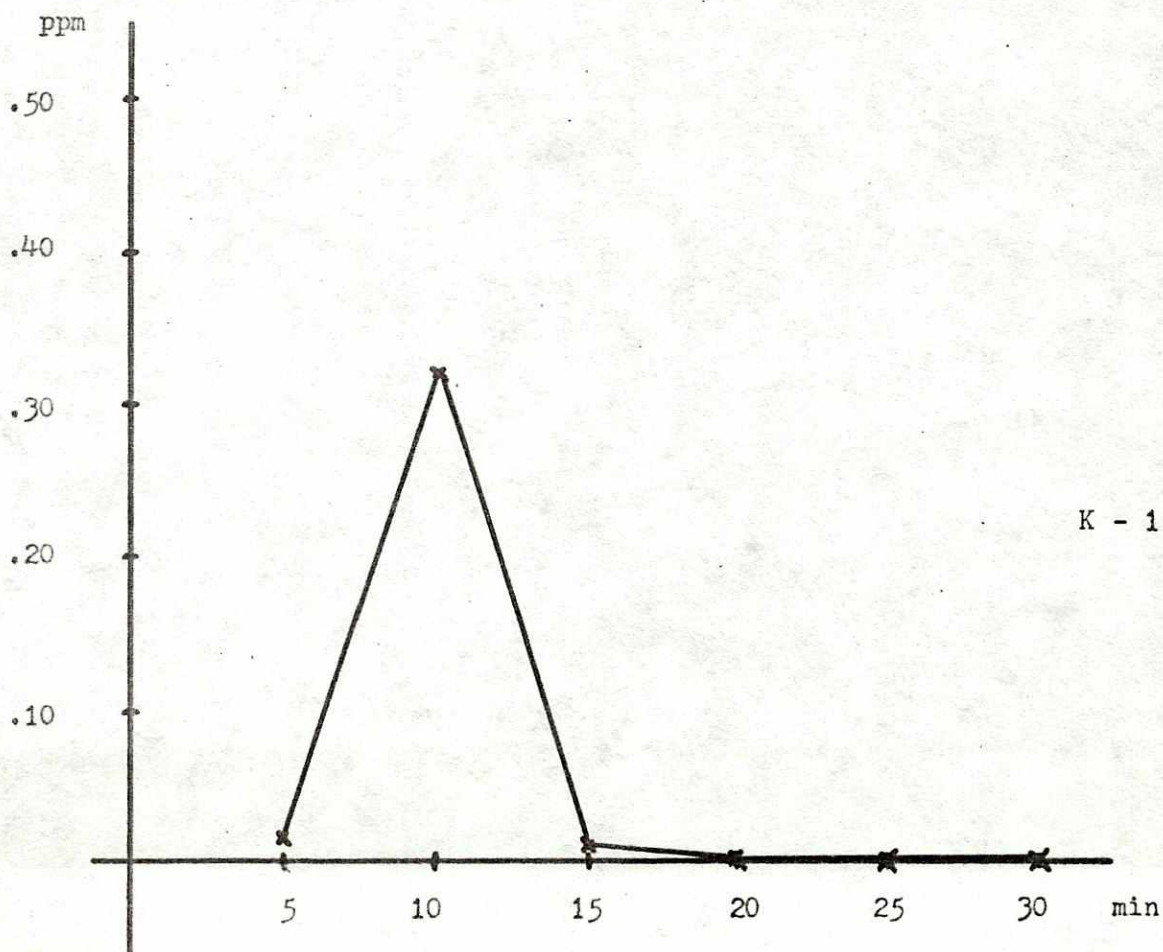


GRAFICA # 6

PERFILES DE CONCENTRACION
 $\mu\text{g Abate/ml}$ vs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



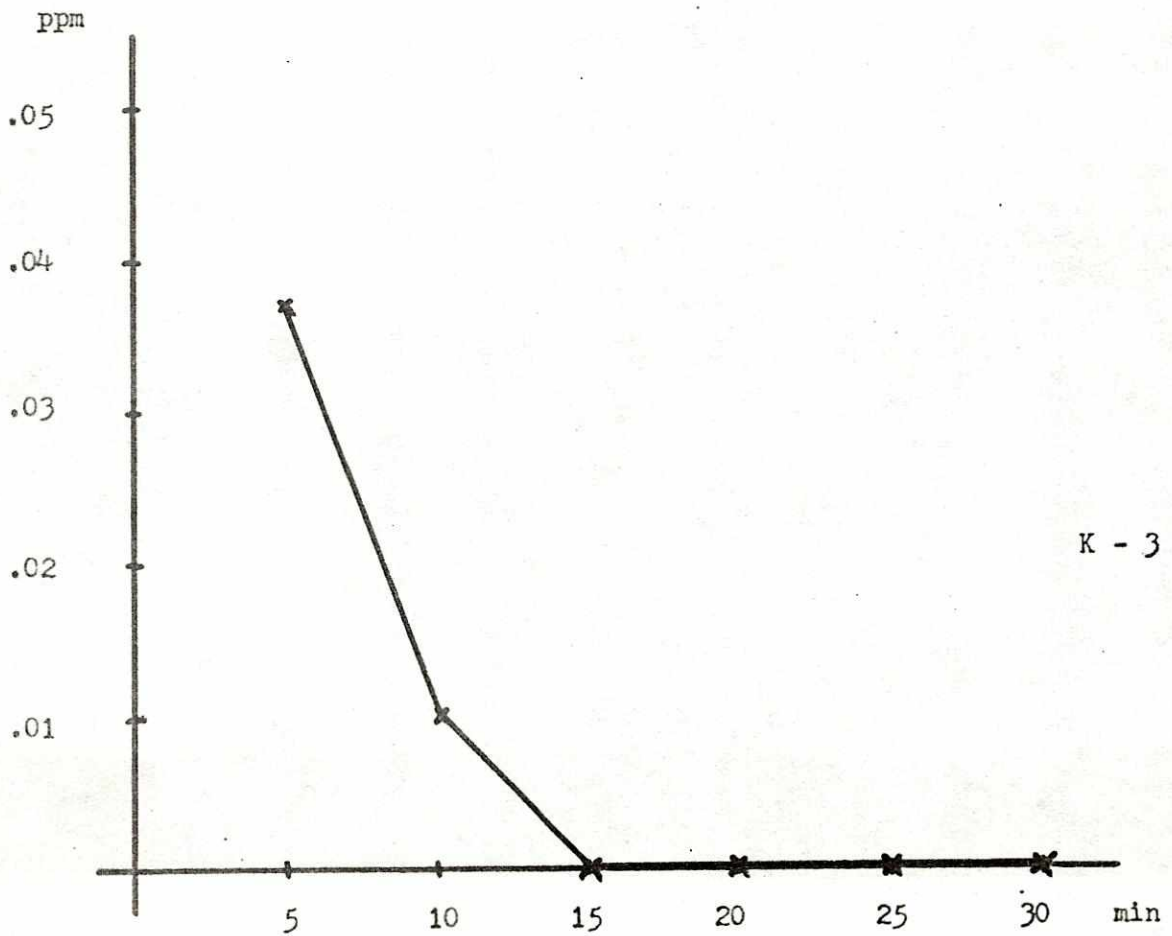
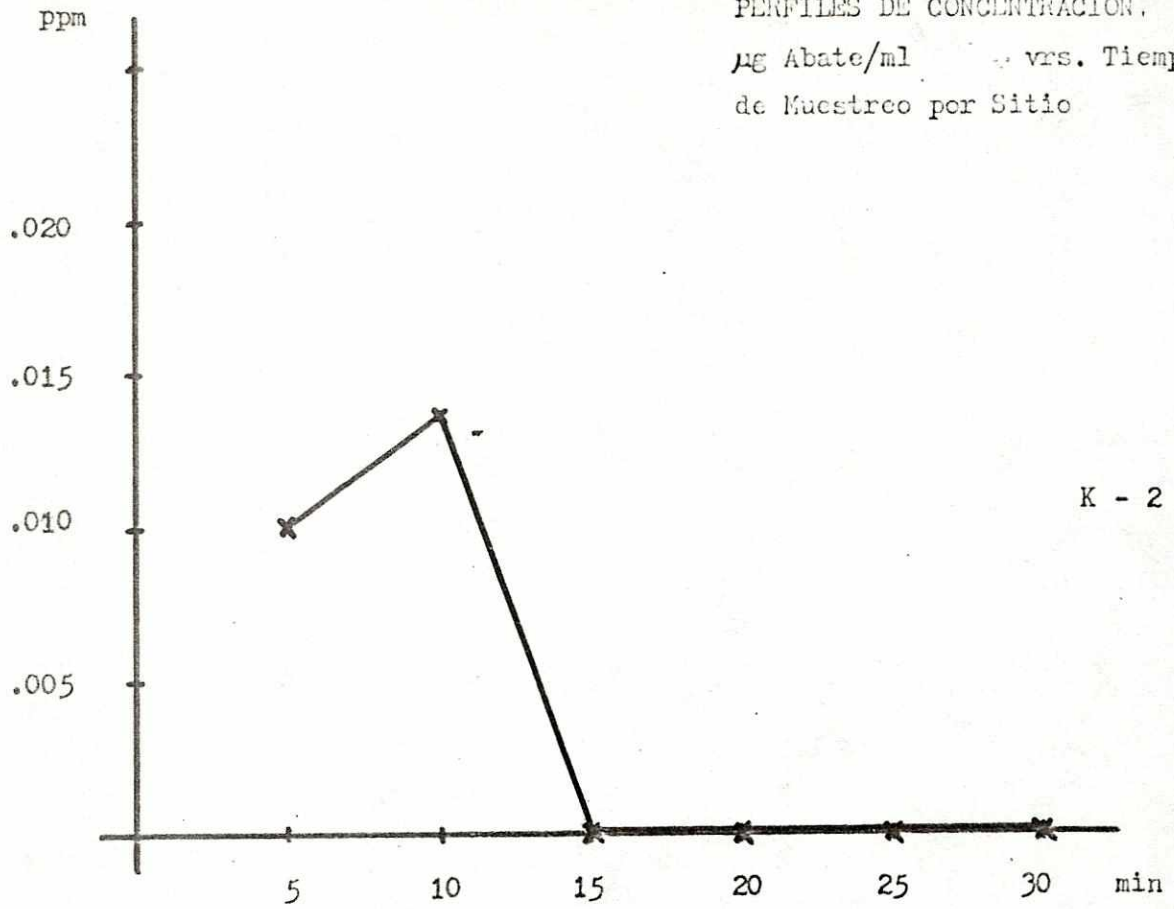
K - 0



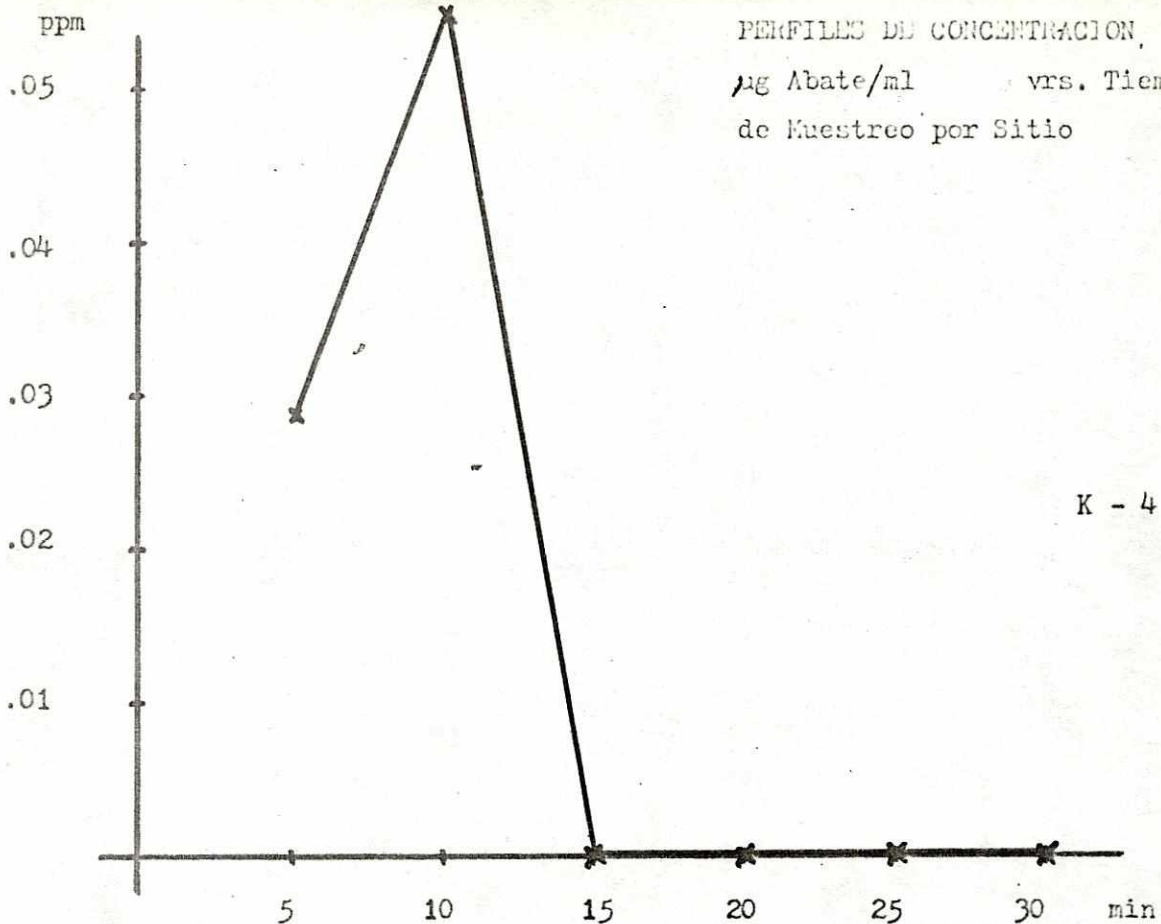
K - 1

GRAFICA # 7

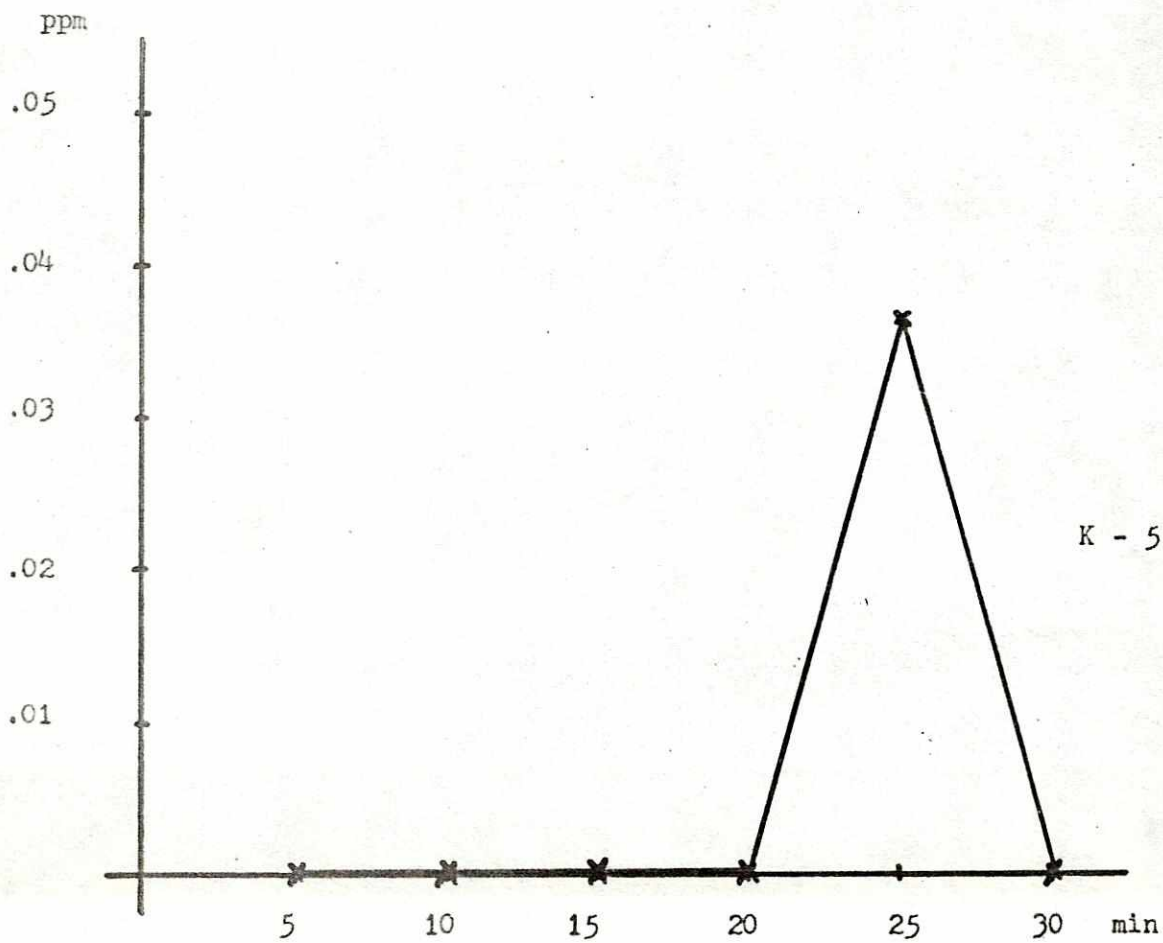
PERFILES DE CONCENTRACION,
 μg Abate/ml vs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



PERFILES DE CONCENTRACION,
µg Abate/ml vs. Tiempo
de Muestreo por Sitio



K - 4



K - 5

Tomando las mayores concentraciones encontradas por sitio (Apéndice C), obtenemos el siguiente cuadro:

Cuadro 1.

Mayores concentraciones encontradas por sitio.
Primera y segunda aplicación.

Sitio	Muestras M ⁽¹⁾	Muestras K ⁽¹⁾
0	0.081	0.645
1	0.770	0.316
2	0.219	0.014
3	0.039	0.037
4	0.008	0.055
5	0.062	0.037
6	0.208	-----

(1) Datos proporcionados en ppm (ng/ μ l)

Calculando el promedio (X) y la desviación estandar (S) para los datos anteriores (cuadro 1), obtenemos los siguientes valores:

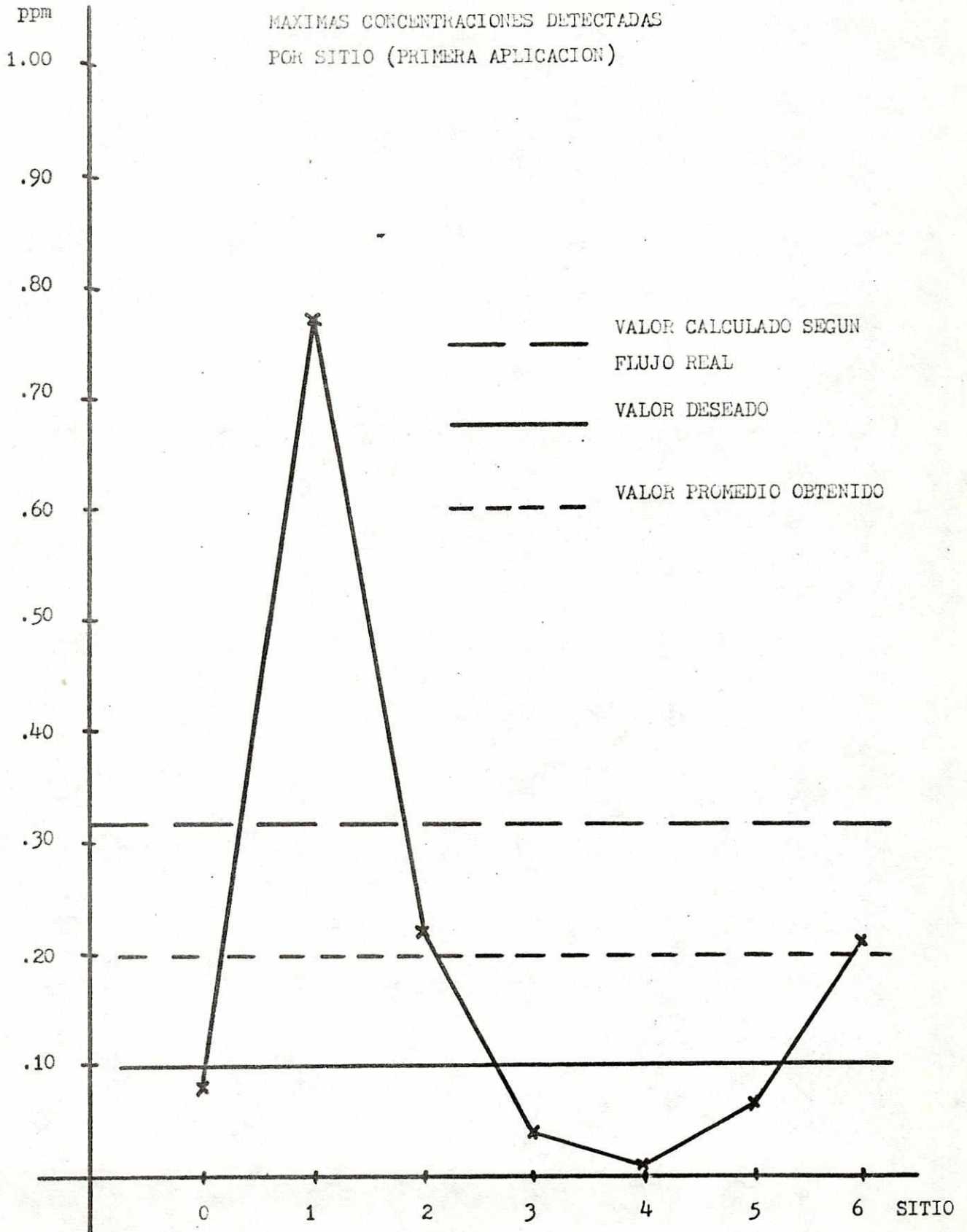
Cuadro 2.

Promedio de valores máximos de M y K.

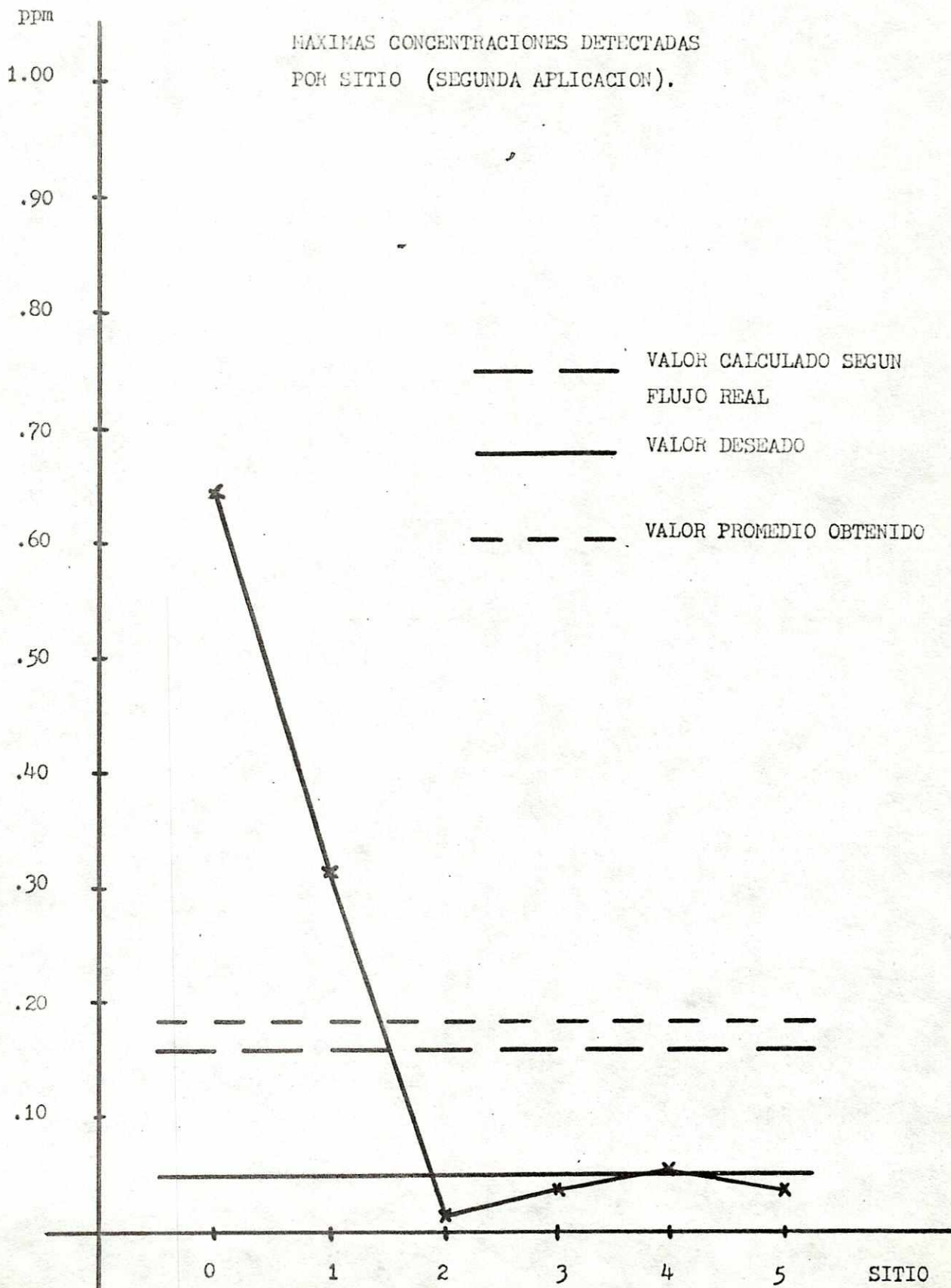
Muestra	X	S
M	0.198 ppm	0.265
K	0.184 ppm	0.252

Los datos de los cuadros 1 y 2, se presentan en las gráficas 9 y 10 respectivamente.

GRAFICA # 9



GRAFICA # 10



VII. DISCUSION.

A continuación se discuten los resultados obtenidos durante las aplicaciones y las Pruebas de laboratorio.

- VII.A.1. Aumento en la concentración en los sitios M-5 y M-6
2. Medición del caudal de agua.
 3. Desventaja de muestrear cada 5 minutos.
 4. Extracción de muestras de tierra.
 5. Comparación de columnas.
 6. Linearidad o no de Abate con FPD.
 7. Absorción de solvente-insecticida por tapaderas de frasquitos (2a. aplicación).

1. Aumento en la concentración en los sitios M-5 y M-6.

En la gráfica de perfiles de concentración de la muestra M-6 se puede observar un aumento en la concentración de Abate con respecto a los sitios anteriores, lo cual no debería ser así, ya que el sitio 6 es el más distante del punto de aplicación del insecticida. Como se ve en el mapa 3, el sitio 6 está después de la unión de los ríos Pie Cumbre y Corralitos. Debido a que en esta primera aplicación también se agregó pesticida al río Corralitos, es de esperarse que en este sitio 6 se detectara más insecticida que en el sitio 5. Desgraciadamente en el río Corralitos no se efectuó ningún muestreo después de la aplicación, por lo que no se conoce el perfil de concentración del mismo.

En el tercer muestreo en el sitio 6 (M 6-3) se encontró la mayor concentración de insecticida de este sitio, siendo esta cantidad de $0.21 \pm 0.02 \mu\text{g Ab/ml}$, lo cual es tres veces mayor que la máxima concentración encontrada en el sitio 5 (M 5-5; $0.062 \pm 0.006 \mu\text{g Ab/ml}$).

La distancia entre el sitio de aplicación en el río Corralitos y el sitio 6 es aproximadamente 250 m, distancia equivalente a la que hay entre el sitio 3 y el punto de aplicación en el río Pie Cumbre. La concentración máxima detectada en este sitio la tomamos del Apéndice C, datos proporcionados por Miles (37), ya que para este muestreo no tenemos un dato disponible (la muestra M 3-3 se había evaporado completamente); el dato de la concentración es de $0.085 \mu\text{g Ab/ml}$. Si a la concentración encontrada en M5-5 le sumamos este dato, obtenemos un valor de $0.147 \mu\text{g Ab/ml}$, lo cual

hubiera sido el valor esperado en el sitio 6. Podemos deducir entonces que la cantidad de insecticida agregado en el río Corralitos fue mayor de lo necesario para obtener la concentración deseada (0.32 ppm según el caudal real de agua), o que el lecho de este río contiene menos materia orgánica o tierra en la cual se adsorba el insecticida, o en la cual sea absorbido el mismo. Durante los conteos de larvas posteriores a la primera aplicación se observó varias veces el lecho de ambos ríos, pero no se pudo establecer una diferencia entre los mismos, aunque para aseverar lo anterior se debería realizar un estudio más detallado acerca de las propiedades físicas y químicas del lecho de los ríos.

En el sitio 5 también se detectó una cantidad mayor de insecticida que en el sitio anterior, 4, lo cual se puede deber a que en el sitio 4 no se muestreó adecuadamente, y no se encontró la máxima concentración que pasó por el mismo. No se tienen mayores datos para explicar la diferencia encontrada (las concentraciones detectadas son : M 5-5 = 0.062 ± 0.006 µg Ab/ml, mientras que en el sitio 4 fue M 4-3 = 0.008 ± 0.0005 µg Ab/ml).

2. Medición del caudal de agua.

Para conocer la cantidad de insecticida necesaria para alcanzar la concentración deseada es necesario conocer el caudal de agua del río. Por carecer de un medidor de velocidades de agua para estos tipos de mediciones, o algún método especial, se decidió hacer mediciones de profundidad y anchura promedio en un sitio determinado, característico del río, y medir la velocidad en un trayecto de longitud conocida, con lo cual se obtendría el caudal (m³/seg). Este método tiene sus limitaciones, como se discute posteriormente. Con el dato del caudal se puede calcular entonces la cantidad de insecticida por agregar.

Según el método anterior obtuvimos para el día 5/XI/79, fecha de la segunda aplicación, los siguientes resultados:

Ancho	=	2.40 m ± 0.10
Profundidad	=	0.1329 m , desv. std. = 0.078
Largo	=	5.0 m ± 0.05
Tiempo	=	10.7 seg ± 0.3

Con estos datos se obtiene un caudal de 0.1490 m³/seg = 149.05 l/seg, lo cual no es significativamente diferente del flujo medido para la primera aplicación (0.1372 m³/seg).

Haciendo conversiones a las medidas de pie cúbico/ segundo, se obtienen 5.26 pie³/seg. Al comunicarle este dato al dueño de la finca, dijo que era imposible, ya que el mismo río tiene una planta de energía instalada,

más abajo de los sitios de muestreo, y el flujo máximo para esa planta es de $2.5 \text{ pie}^3/\text{seg}$. Fue entonces hasta durante la segunda aplicación que nos dimos cuenta que habíamos cometido un error en el cálculo del flujo en ambas aplicaciones. Al percatarnos de este error, no habíamos agregado el insecticida de la segunda aplicación; sin embargo, para obtener una concentración de aproximadamente la mitad que en la primera aplicación, se utilizó el valor del caudal determinado erróneamente. Posteriormente se determinó el flujo verdadero para tener idea del factor de error.

Con un tonel de 200 litros hicimos mediciones en la presa, (ver Fig.#1) , dejando caer repentinamente todo el agua en el tonel, con ayuda de una lámina doblada, y tomando el tiempo que tardaba en llenarse completamente. Debido a que hay dos lugares por donde rebalsa la presa, se hicieron mediciones en ambos lados, obteniéndose los siguientes datos:

Lado # 1 : $t = 9.0 \text{ seg} \pm 1$
 22.22 l/seg

Lado # 2 : $t = 8.1 \text{ seg} \pm 1$
 24.69 l/seg

Sumando los datos obtenemos el flujo total (presa-tonel) = 46.91 l/seg , equivalentes a $1.66 \text{ pie}^3/\text{seg}$.

Esto da como resultado un factor de 3.18, comparándolo con el dato obtenido según nuestro método.

No conformes con este único dato de corrección hicimos nuevas mediciones en la misma presa, vaciándola completamente, y luego tomando el tiempo que tardaba en llenarse. Las medidas de la presa son (ver Fig.#2) :

Volumen : $12 \times 5 \times 3.08 = 184.80 \text{ pie}^3$
 $26.67 \times 1.5 \times 2.17 = 86.81 \text{ pie}^3$

La presa no es uniforme, razón por la cual existen estas dos medidas. Esto representa un volumen total de 271.61 pie^3 . Y tardó en llenarse $162.5 \text{ seg} \pm 1$, lo cual implica un flujo de :

Flujo total de la presa = $1.67 \text{ pie}^3/\text{seg}$.

Esto da un factor de error de 3.15. Por consiguiente, se tiene que multiplicar la concentración de insecticida esperada originalmente por este factor, para obtener la concentración real en el río. Es decir que en realidad las cantidades agregadas debieron haber producido concentraciones de 0.317 y 0.158 ppm respectivamente, utilizando el promedio del factor de error.

En las gráficas 9 y 10 se puede apreciar la diferencia existente entre la concentración calculada con el flujo real, la concentración deseada en base a la medición errónea del caudal, y los datos obtenidos en el

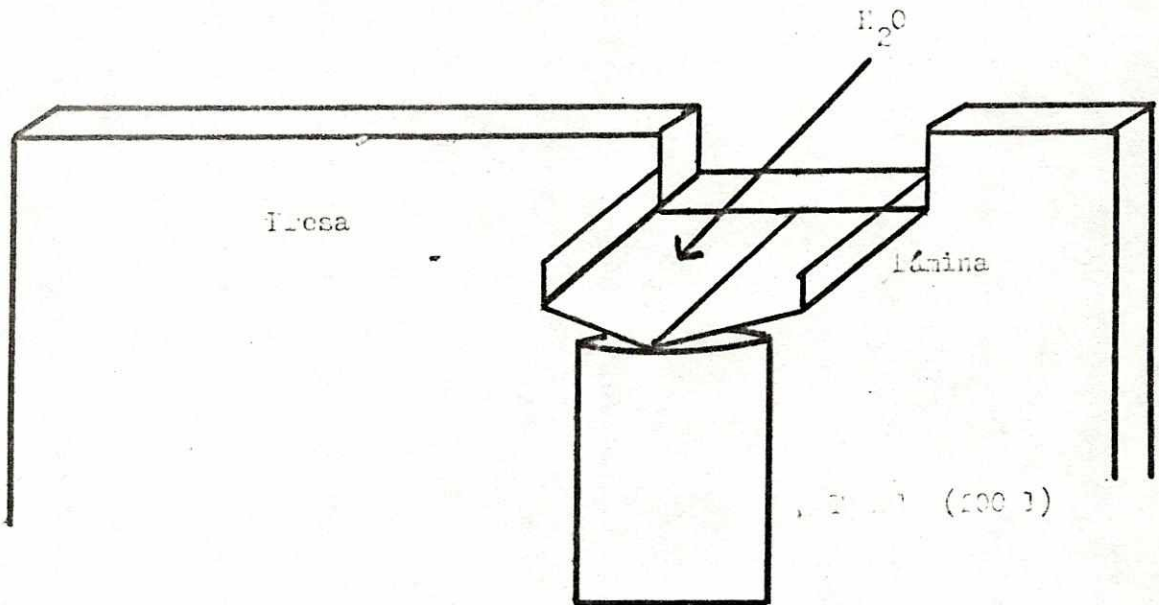
análisis. Claramente se ve que los valores promedio encontrados en la primera aplicación están por debajo de los esperados, basados en la cantidad de agua real. El valor representado en M-0 no es el verdadero, como se explica más adelante. Si lo suponemos mayor de lo encontrado, solamente habría dos sitios por encima del valor real calculado, y todos los demás quedarían por debajo. En la gráfica 10 se puede apreciar el patrón de disminución esperado en las concentraciones encontradas, y que disminuye en forma exponencial, o parecida. El mismo resultado se deduce de la gráfica 9, si hacemos caso omiso del dato para el sitio M-0. En la segunda aplicación se obtuvo una mejor concordancia entre la concentración promedio encontrada y la concentración calculada en base al flujo real.

En las figuras 1 y 2 se muestra la forma de la presa y el procedimiento seguido para determinar la cantidad real de agua (caudal verdadero) respectivamente. Durante las mediciones de profundidad no se siguió ningún patrón en especial, por lo que éstas fueron realizadas completamente al azar. Esto quiere decir que el valor obtenido para las profundidades promedio probablemente no es representativo del río, y por consiguiente tampoco lo es el caudal de agua medido. Al realizar las mediciones del caudal de agua en la presa pudimos observar la magnitud del error introducido.

Pero el error debido a las mediciones de profundidad no es el único, ya que también en la estimación de la velocidad del río se introdujo un error. Este río en particular es bastante desuniforme con respecto a la distribución de rápidos, pozas, cascadas, etc. Al hacer las mediciones de velocidad se escogió un tramo al azar, teniendo en cuenta la anchura del río, y en un trayecto en donde no hubieran ni pozas ni cascadas. Se dejaba caer un pedazo de rama o de hoja sobre la superficie del agua, y se tomaba el tiempo que tardaba en recorrer cierto tramo.

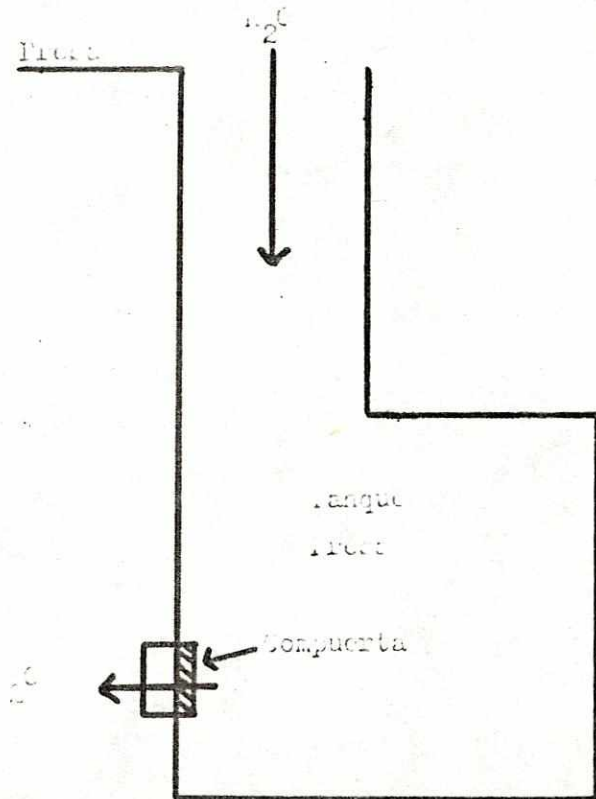
En ríos como el estudiado definitivamente el flujo es turbulento y no laminar, por lo que en la superficie se desplaza a mayor velocidad que en el fondo cualquier objeto agregado al río.

Figura # 1



LADOS # 1 y # 2

Figura : 2



3. Desventaja de muestrear cada 5 minutos.

En el procedimiento de muestreo de agua para la primera aplicación se recolectaron en los siete sitios dos muestras a la vez, cada 5 minutos durante 30 minutos. Una de las muestras fue enviada al laboratorio de Atlanta, Georgia, y la otra fue analizada en UDV (INCAP). Con los resultados obtenidos (Apéndice C) se demuestra que este intervalo de tiempo es satisfactorio para todos los sitios, excepto para el sitio 0, 10 m más abajo del sitio de aplicación. Viendo la gráfica de M-0 podemos ver que no sigue el patrón esperado; no se nota un súbito crecimiento en la concentración y luego una disminución, como se puede apreciar para los demás sitios. Además, los valores encontrados no son muy diferentes entre sí, con lo cual podemos asumir que se recogió la misma o muy similar cantidad de insecticida, y que la variación encontrada se debe a defectos en el tipo de extracción y del análisis, o a la distribución del insecticida en este sitio.

En la gráfica de M-1 no podemos afirmar que se logró el patrón deseado, ya que hace falta el primer dato de concentración, debido a que se había evaporado la muestra. Pero si comparamos con los valores aportados por el CDC (ver Apéndice C), vemos que el primer dato es mucho menor que el segundo, por lo cual sí hubo ese marcado incremento en la concentración, con una posterior disminución. Tampoco se puede afirmar que la cantidad encontrada a los 10 minutos haya sido mayor que las demás, pero demuestra que se muestreó más adecuadamente que en M-0 para los primeros cinco min.

Teniendo esto en cuenta al hacer la segunda aplicación, se muestreó en el primer sitio, o sea en el sitio 0, cada 2 minutos. Los resultados indican claramente que, aunque tampoco sea la máxima concentración la que se detectó, es mucho mayor que las concentraciones encontradas para los siguientes dos muestreos. Lógicamente tiene que haber más insecticida cerca de donde se agrega, ya que no hay muchos lugares o formas donde pueda adherirse en un trayecto tan corto (ver gráfica K-0).

Como se ve en la gráfica K-1, es éste el patrón esperado, lo cual podría aplicarse también al sitio M-1 de tenerse el dato para el primer muestreo. En los demás sitios es satisfactorio el muestreo cada 5 minutos, ya que se nota un pico sobresaliente, o por lo menos se puede suponer que existe uno.

Como se explicó en la sección de Procedimiento, se decidió empezar a muestrear cinco minutos antes de que el insecticida llegara al sitio de muestreo en cuestión, para evitar una pérdida del pico. En las gráficas correspondientes al análisis de agua (gráficas 2-8) se puede observar que para la primera aplicación no se encontró ningún pico en los primeros

5 minutos, descartando el sitio 0. Generalmente aparecen a los 15 minutos, con lo cual podemos garantizar que estamos muy cerca de la realidad en relación a las concentraciones reales vrs. las concentraciones encontradas (las concentraciones reales pueden ser un poco mayores, debido a que no se hace un muestreo continuo). El máximo de duración de insecticida encontrado es de 20 minutos, por lo que todavía se tenía un margen de 10 minutos.

Para la segunda aplicación el pico aparece desuniforme, y la duración máxima es de 15 minutos, 5 menos que para la primera vez. Podemos concluir entonces que para este nivel de concentración (0.05 ppm) es posible disminuir el tiempo de muestreo, al igual que el intervalo de tiempo entre cada muestreo. Es interesante notar que para la segunda aplicación, fue el único muestreo en que se encontró un pico tardío a los 25 minutos, en el sitio 5, al igual que para la primera aplicación, en el sitio 5. Esto se puede deber a que el cálculo del tiempo no fue realizado correctamente, y es más justificado para la segunda aplicación, ya que no se hizo la determinación de tiempo entre cada sitio, por lo que se trabajó con los datos existentes de la primera aplicación.

Comparando los picos obtenidos por el Dr. Miles con los nuestros (Apéndice C) notamos que están siempre en el mismo punto exceptuando el sitio 3, en donde no tenemos el dato para el tercer muestreo, y en el cual aparece el pico, según el Dr. Miles. La muestra M 3-3 se había evaporado completamente y no se hizo un proceso de reextracción.

4. Extracción de muestras de tierra. (Pruebas de laboratorio).

Debido al fenómeno de la absorción del pesticida por el suelo, principalmente por la materia orgánica en el río, se prepararon unas muestras en el laboratorio para determinar el porcentaje de extracción de las tierras recolectadas durante el primer y segundo tratamiento. La preparación de estas muestras está descrita en la sección de Procedimiento.

En el Apéndice C se aprecian los resultados del análisis cromatográfico de las pruebas de laboratorio. 0.985 significa la concentración inicial de Abate agregada, en mg/l, y g y f significan muestras de tierra gruesa y fina, las cuales se recolectaron arbitrariamente en el lecho del río especialmente para estas pruebas. CT significa que la muestra se almacenó en un frasco con sello de teflón, y ST que la muestra se almacenó en un frasco con sello de hule.

En la columna de μg está representada la cantidad total de insecticida detectada en el extracto de 10 ml de hexano. Los datos de agua g ST

y agua f CT, se presentan en ppm ($\mu\text{g Abate/ml}$), para mayor facilidad de cálculos posteriores, como se aprecia a continuación.

Si la cantidad inicial de Abate agregada a las muestras es de $0.985 \mu\text{g}$ de Abate/ml, y si conocemos la cantidad detectada en el extracto de agua, podemos calcular la cantidad de Abate que quedó atrapada en la tierra. Esto lo hacemos basados en la suposición que el Abate es extraído en un 100 % del agua al emplear este procedimiento (36). Al hacer los cálculos respectivos obtenemos :

$$\frac{0.127 \text{ ppm}}{0.985 \text{ ppm}} \times 100 = 12.89 \% \text{ de Abate en la fase acuosa.}$$

Este es el porcentaje de Abate detectado en el agua, por lo que el resto debió quedarse en la tierra :

87.11 % de Abate quedó en la tierra.

Como conocemos la cantidad inicial de Abate, podemos calcular cuánto insecticida corresponde este porcentaje :

$$0.871 \times 0.985 \times 310 = 265.98 \mu\text{g de Abate en la tierra.}$$

La cantidad de Abate detectada para esta muestra (0.985 f) fue de $24.75 \mu\text{g}$. Por consiguiente, podemos obtener el porcentaje de extracción:

$$\% E_1 = \frac{24.75}{265.98} \times 100 = 9.3 \%$$

Los mismos cálculos se pueden aplicar a la muestra 0.985 g, para la cual obtenemos :

$$\frac{0.129 \text{ ppm}}{0.985 \text{ ppm}} \times 100 = 13.10 \% \text{ de Abate en el agua}$$

86.90 % de Abate en la tierra.

Según el dato anterior, la cantidad total de Abate en la tierra es de :

$$0.869 \times 0.985 \times 310 = 265.36 \mu\text{g de Abate en la tierra.}$$

La cantidad detectada para esta muestra (0.985 g) fue de $23.55 \mu\text{g}$ de Abate. Podemos calcular entonces el porcentaje de extracción $\% E_2$:

$$E_2 = \frac{23.55}{265.36} \times 100 = 8.9 \%$$

Promediando los datos anteriores ($\% E_1$ y $\% E_2$) obtenemos $\% E_t$:

$$\% E_t = 9.1 \pm 1.6 \%$$

En la sección C del apéndice se pueden observar los datos corregidos de las muestras de tierra de la primera aplicación, expresados en $\mu\text{g Ab/cm}^2$ de tierra.

Las concentraciones detectadas en las muestras de tierra de la segunda aplicación fueron menores que las cantidades mínimas detectables (ver Linearidad o no de Abate con FPD), por lo que no es posible presentar datos significativos para estas muestras.

El resultado del análisis de las muestras acuosas 19.7 y 21.2 muestra que el procedimiento de extracción para las mismas no fue del 100 %, como lo proponen Dale & Miles (35). Para esto comparamos los valores obtenidos (concentraciones) con las calculadas, y obtenemos el porcentaje de extracción de Abate de un medio acuoso :

Muestra 19.7 = 0.105 μg Ab/ml solución (según Apéndice C)

valor real = 0.131 \pm 0.0005 μg Ab/ml solución

$$\frac{0.105 \text{ ppm}}{0.131 \text{ ppm}} \times 100 = 80.55 \% \text{ Ea}_1$$

Muestra 21.2 = 0.111 μg Ab/ml solución (según Apéndice C)

valor real = 0.141 \pm 0.005 μg Ab/ml solución

$$\frac{0.111 \text{ ppm}}{0.141 \text{ ppm}} \times 100 = 78.5 \% \text{ Ea}_2$$

Si aplicamos el valor promedio de error encontrado (ver Propagación de Errores) a los resultados de las muestras 19.7 y 21.2, obtenemos :

Muestra 19.7 = 0.105 \pm 0.013 μg Ab/ml solución

Muestra 21.2 = 0.111 \pm 0.013 " " "

Para obtener el mayor dato posible para el porcentaje de extracción de Abate en fase acuosa utilizamos los valores máximos permitidos para las muestras analizadas, es decir, teniendo en cuenta su incertidumbre, y los valores mínimos permitidos para los datos calculados :

0.105 \pm 0.013 = 0.118 μg Ab/ml solución

0.111 \pm 0.013 = 0.124 " " "

0.131 \pm 0.005 = 0.126 " " "

0.141 \pm 0.005 = 0.136 " " "

Para calcular el porcentaje máximo de extracción % Em :

Muestra 19.7 (0.118/ 0.126) x 100 = 94 %

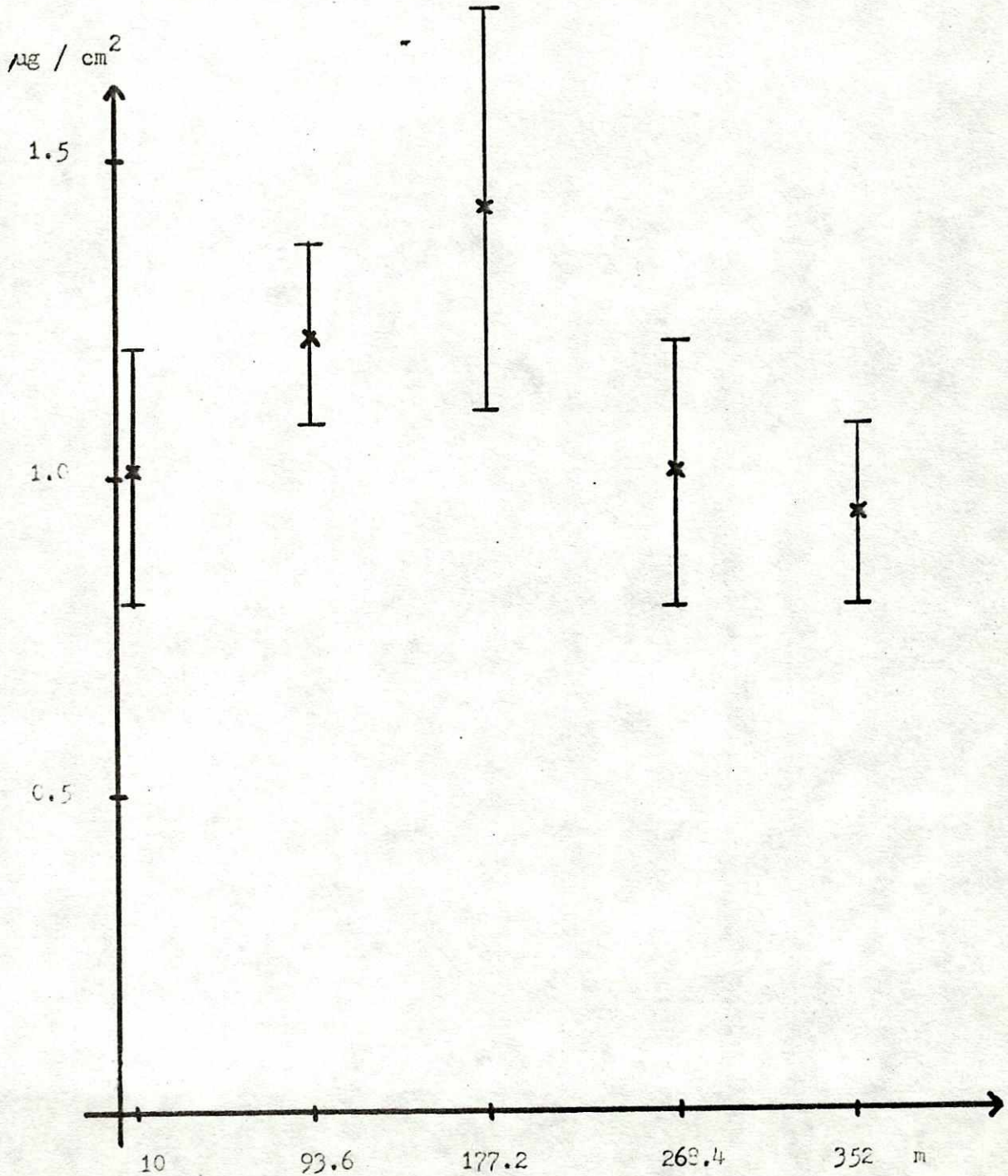
Muestra 21.2 (0.124/ 0.136) x 100 = 91 %

Este dato de extracción máxima posible puede ser un dato representativo del proceso de extracción, del análisis de las muestras, de la preparación de las soluciones patrón, o del estado en sí del pesticida que se utilizó para la preparación de la solución 'madre'.

GRAFICA 11

CONCENTRACION DE ABATE EN LAS MUESTRAS DE TIERRA

Primera aplicación



En la gráfica 11 se pueden apreciar los valores encontrados para las concentraciones de Abate en las muestras de tierra para la primera aplicación, en función de la distancia entre el sitio de aplicación y el sitio de muestreo.

5. Comparación de Columnas.

No se puede decir nada más que una columna es mejor que alguna otra si no se ha definido para qué debe ser mejor o peor. Es por eso que al hacer una comparación entre dos columnas diferentes se tiene que tener en cuenta si se desea mejor resolución, o mejor rendimiento, menor temperatura en el horno, etc. Además, en la comparación de columnas es necesario tener en cuenta el propósito final del análisis. Por ejemplo, si se va a realizar un análisis de un mismo insecticida durante un período largo, o sea, muchos días seguidos, varias veces al año; o si bien se va a llevar a cabo como un análisis ocasional, con lo cual se quiere decir que se realizará un análisis cada cierto tiempo, muy espaciado, y pocas muestras a la vez. Estas condiciones claramente influyen en el tipo de columna a usarse, y en las condiciones bajo las cuales debe operarse esa columna.

Pasarela & Orloski (38) sugieren un método de determinación de Abate, en el cual emplean un FID (flame ionization detector), al igual que un FPD (flame photometric detector). La columna que se emplea es la misma en ambos casos, siendo de 23.6 pulgadas de largo, vidrio de borosilicato, con un diámetro interno de 4 mm, empacada con 1 % OV-22 sobre Gas-Chrom de 60-80 mesh.

Las condiciones de trabajo tanto para el FID como para el FPD, están dadas en el cuadro 3. Los autores de este estudio (Pasarela & Orloski) proponen el método con FID para el análisis de una formulación directa, mientras que el de FPD para el análisis de residuos. O sea que el método con FPD es más sensitivo, y se pueden detectar hasta 0.05 ppb de Abate en leche.

Dale & Miles (comunicación personal con Miles, Guatemala) han propuesto varias columnas diferentes. Una es un tubo de aluminio de 0.25 pulgadas de diámetro, empacada con 2 pulgadas de 2 % GE nitrite silicone gum XE 60, sobre Gas-Chrom W, 80-100 mesh, que fue a la vez la columna utilizada en el análisis de las muestras de la primera aplicación. Luego proponen una columna también de aluminio, pero bastante más larga: 20 pulgadas de largo, 0.25 pulgadas de diámetro, empacada con 5 % OV-101 sobre Gas-Chrom Q. Y finalmente proponen una columna de vidrio, de 21 pulgadas de largo, 2 mm de diámetro interno, empacada con 5 % OV-101

sobre Gas-Chrom Q. Esta fue la última recomendada por Miles para este trabajo (comunicación personal) y fueron columnas de este tipo las que se usaron en el análisis de las muestras de la segunda aplicación y de las pruebas de laboratorio.

Cuadro 3.

Condiciones de trabajo segun Pasarela & Orloski. (38)

	FID	FPD
Temp. columna (°C)	235	250
Temp. entrada (°C)	275	300
Temp. detector (°C)	275	260
H ₂ (ml/min)	30	29
Aire (ml/min)	300	215
Helio (ml/min)	150	92
Tiempo de retención (min)	6.1	2.4

Las columnas y condiciones de trabajo empleadas en este estudio se presentan en el cuadro 4.

La columna de 2 pulgadas de aluminio nos fue mandada directamente del CDC , por lo que no sabemos exactamente cómo se preparó, y si durante el viaje no sufrió golpes que hayan alterado el empaque. Solamente sabemos que fue empacada como lo menciona Dale & Miles (35). Durante los análisis nos dimos cuenta que se podía trabajar muy bien con ella, a pesar de que el tiempo de retención es bastante corto, por lo cual dio problemas de vez en cuando con el integrador. Tiene la ventaja que se pueden hacer mucho más inyecciones por unidad de tiempo, y aunque el pico del insecticida está muy cercano al pico del solvente, no hay interferencias, por lo menos visibles (ver Fig.#3).

A lo largo de todos los análisis con esta columna observamos que se produce un pico o señal negativa después del pico del solvente. Esto es posible que sea un defecto en la columna, como lo obtuvieron Grice et al. (39). Cuando ellos tuvieron este problema, lo solucionaron cambiando inmediatamente la columna, lo cual no era posible en nuestro caso. Es más, se probaron diferentes condiciones de flujos y de temperatura, hasta obtener la mejor señal posible.

En la Fig.#3, al igual que en la Fig.#4 se observan dos señales distintas. Una es del FPD, y la otra es del ECD. La señal del ECD no fue muy estable durante los análisis, y cuando se analizaron muestras acuosas hubo incluso una gran interferencia, por lo que no se pudo utilizar para

una interpretación de datos. Es probable que también se deba al uso de un gas portador demasiado sucio, lo cual no afecta tan grandemente a la señal del FPD. También es probable que las condiciones de trabajo no fueran las óptimas para el ECD, pero no se buscaba una mejor señal en éste, sino que en el FPD.

La columna de aluminio de 21.5 pulgadas resultó ser no efectiva bajo las condiciones probadas. Es posible que no se haya logrado un buen resultado con esta columna debido a la limitación de un máximo de 250 °C para el FPD empleado. Pero se sustituyó rápidamente por la de vidrio de 22.5 pulgadas, la cual fue preparada por nosotros en el laboratorio de INCAP. Esta columna funcionó perfectamente, aunque tampoco se pudo elevar la temperatura del FPD a la recomendada por Miles (ver cuadro 4), pero se ajustaron las condiciones hasta obtener una señal muy buena y reproducible (ver Fig. #4). Se puede observar el tiempo de retención mayor que en la columna de 2 pulgadas de aluminio. La línea base después del pico del solvente es muy estable y larga, y por consiguiente se puede calcular fácilmente el inicio del pico correspondiente al insecticida. Desgraciadamente no se pudo eliminar completamente el 'tailing' de las muestras, el cual no fue tan grande como en la primera columna. Esto se puede deber a la temperatura en que se trabajó, que estaba 20°C por debajo de lo aconsejado por Miles (comunicación personal). Al poder aumentar esos 20°C en la columna, el tiempo de retención definitivamente disminuiría, y por consiguiente sería más ventajoso para cuando se hacen muchos análisis seguidos. Si al subir los grados mencionados no disminuyera el tiempo de retención, se podría acortar la columna en unas 5 pulgadas, con lo que se habría logrado disminuir el tiempo, aunque no se pueda predecir en cuánto.

La otra columna que se menciona, de 21 pulgadas de vidrio, es la misma que la de 22.5 pulgadas, sólo que a ésta se le quebró un pedazo durante la manipulación, resultando así una nueva columna. Esta se trabajó bajo las mismas condiciones de trabajo que la de 22.5 pulgadas, como se aprecia en el cuadro 4.

Era de esperarse entonces que el tiempo de retención disminuyera, cosa que no resultó ser completamente cierta. El tiempo de retención fue un poco mayor, aunque no del todo diferente. Aplicando el 'Test t' según Shoemaker et al. (40) no se pudo establecer una diferencia estadísticamente significativa entre estas dos columnas con respecto al tiempo de retención. Entre las columnas de 2 pulgadas de aluminio y las de 22.5 y 21 pulgadas de vidrio sí se encontró una diferencia entre los tiempos de retención, con una certeza mayor del 100% para ambos casos. La pe-

queña diferencia observada en las dos columnas de vidrio puede deberse a una compactación del material de empaque en la columna de 21 pulgadas. Además es notorio un nuevo pico a los 0.36 minutos, lo cual evidencia un cambio interno en la columna, lo cual podría deberse a una contaminación (ver Fig.#5) . Este nuevo pico no se debe al insecticida, ya que también aparece al inyectar solvente solamente.

Cuadro 4.

Columnas y condiciones de trabajo utilizadas.

	2" al ⁽¹⁾		21.5" al		22.5" vi		21" vi ⁽²⁾
	GDC	UDV	GDC	UDV	GDC	UDV	UDV
Temp.Columna °C	240	240	270	245	270	250	250
Temp.Inyección °C	250	230	280	240	280	247	245
Temp.Detector °C	240	240	280	250	280	250	250
H ₂ (ml/min)	175	170	140	175	140	170	167
O ₂ (ml/min)	15	30	---	30	---	28	30
Aire (ml/min)	---	60	80	60	80	50	50
N ₂ (ml/min)	150	60	158	80	30	110	110
Tiempo.Retén.(min)	0.97	0.55	---	0 ⁽³⁾	---	2.06	2.30

(1) al= aluminio, vi= vidrio

(2) columna de 22.5 pulgadas menos 1.5" por quebradura

(3) esta columna de aluminio no dio resultado

Con la columna de 21 pulgadas se volvió a notar la señal negativa después del pico del solvente, y no se pudo eliminar. También es notorio que la señal mejoró, ya que hubo menos 'tailing', y la línea base es muy estable. Es necesario decir que la parte que se quebró fue primordialmente un área de empaque de soporte, ya que fue en un extremo, por lo que en total no se perdió mucho en el largo efectivo de la columna. Antes del accidente el material de empaque medía 18,75 pulgadas de largo, mientras que después midió 18 pulgadas.

Lo que se hizo para poder utilizar la misma columna fue eliminar la parte astillada con un pequeño esmeril, se sacó luego un poco del material de empaque, y se colocó nuevamente material de soporte. Durante este procedimiento es posible que se haya contaminado un poco la columna, o que haya quedado un pedazo de vidrio dentro de la misma, lo que al realizar los análisis posteriores produjo un pico extra. Antes de volver a utilizar la columna se limpió varias veces con solvente, y se volvió a sa-

turar de solución madre de estandar analítico.

En el Apéndice F se pueden ver los datos para la obtención del tiempo de retención promedio para las diferentes columnas. Estos datos se obtuvieron del integrador utilizado (HP 3380 A) a la par del registrador del cromatógrafo.

Cuadro 5.

Análisis estadístico (Test t)
para la comparación de columnas

Columna	tiempo r.	desv.stan.	t ⁽¹⁾	N ⁽²⁾	diferencia significativa
2	0.55	0.02	37.96	6	si, p < 0.001
22.5	2.06	0.09			
22.5	2.06	0.09	3.94	6	si, p < 0.01
21.0	2.30	0.08			
2	0.55	0.02	47.45	8	si, p < 0.001
21	2.30	0.08			

(1) Valor de t con p=0.01, N=6, t=3.71; con p=0.001, N=8, t=5.04
N=6, t=5.96

(2) Número de grados de libertad

6.- Linearidad o no de Abate con F.P.D.

Es un hecho que el detector FPD es típicamente no lineal, lo cual representa un problema a la hora de hacer las correspondientes interpretaciones de las muestras analizadas. Esta característica es notoria tanto cuando se usa para detectar fósforo (526 nm), así como cuando se emplea para detectar azufre (394 nm). En la literatura se pueden encontrar varios estudios acerca de ésto y las posibles complicaciones que tenga, y las posibles soluciones (Sevcik (41), Grice et al.(39), Attar et al. (42)).

Lo más sencillo de hacer para evitar este problema es elaborar una curva de calibración a partir de inyecciones variadas de un cierto estandar, y trabajar en base a ella. Si es posible se debe escoger un rango parecido al que se cree tengan las muestras, para mejores resultados.

Otros autores ,Attar et al. (42), recomiendan el uso combinado de dos diferentes métodos de análisis, como por ejemplo, combinar el méto-

do de determinación de alturas con el método de determinación de áreas.

Combinando estos dos métodos se logra la disminución en el error debido al método de calibración, lo cual se puede derivar a partir de la desviación estandar que se obtenga de un mismo set de datos, utilizando diferentes métodos de calibración (41).

En el presente trabajo no se puede establecer plenamente si el detector es lineal o no. Pero sí se puede afirmar que en el rango de concentraciones empleado es bastante lineal, como se puede apreciar en las gráficas 12, 13, y 14. Aquí se graficó la cantidad inyectada de estandar vrs. el porcentaje de respuesta para los diferentes días de trabajo y condiciones, según el método de alturas. En la gráfica 12 está graficado el análisis para el primer tratamiento, y se nota que hay una diferencia en los interceptos y pendientes de las rectas obtenidas. Esto significa que el límite de detección y la sensibilidad variaron con cada recta. Las líneas rectas se obtuvieron por medio de un programa para calcular la regresión lineal, utilizando los datos del Apéndice C, y r^2 denota el coeficiente de determinación. Para las cuatro rectas 'a', es bastante alto el valor de r^2 : ($r^2(a_1) = 0.940$, $r^2(a_2) = 1.00$, $r^2(a_3) = 0.937$, y $r^2(a_4) = 1.00$), aunque esto no signifique que sea completamente lineal la señal del detector en este rango, ya que no se tienen mayores datos disponibles para una mejor interpretación de datos de las rectas.

Según Grice et al. (39), la respuesta del FPD con respecto a fósforo es lineal entre 0.2 ng y 300 ng, mientras que para azufre es lineal solamente en una escala log-log desde 0.2 ng hasta 100 ng. Además, estos autores predicen que las cantidades mínimas detectables para fósforo y azufre son 40 y 200 picogramos respectivamente.

Al contrario, Sevcik (41) asegura que el rango dinámico lineal del FPD con respecto a fósforo se mantiene sobre 5 órdenes de concentración, mientras que para azufre se mantiene nada más sobre 3 órdenes de magnitud. Curiosamente no proporciona un dato exacto acerca de las cantidades mínimas detectables, y solamente dice que la sensibilidad para azufre es 40 veces menor que para fósforo.

Las cantidades mínimas detectables (cm) para las curvas de calibración de la primera aplicación son: cm (a_1) = 1.07 ng, cm (a_2) = 0.24 ng, cm (a_3) = 1.28 ng, y cm (a_4) = 0.87 ng.

La diferencia entre a_1 y a_2 , trabajadas el mismo día, se debe a que se hicieron cambios en la temperatura del FPD, al igual que en la entrada del block. La temperatura del FPD en a_1 fue de 235°C, mientras que en a_2 fue de 245°C, y la entrada del block fue de 225°C en a_1 , mientras que en a_2 fue de 232°C. En las rectas a_3 y a_4 también existen diferencias en

temperaturas de trabajo. En a_3 el FPD estaba a 240°C y la entrada del block a 235°C , mientras que en a_4 el FPD estaba a 235°C y la entrada del block a 230°C . Estos datos se pueden apreciar más claramente en el cuadro 6.

Cuadro 6

Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block para el análisis de las muestras del primer tratamiento.

	a_1	a_2	a_3	a_4
Temp. detector ($^\circ\text{C}$)	235	245	240	235
Temp. entr. block ($^\circ\text{C}$)	225	232	235	230

Si comparamos los datos proporcionados por Miles para las condiciones de trabajo de esta columna (cuadro 4), vemos que la temperatura aconsejada para el detector es de 240°C y la temperatura de la entrada del block es de 250°C .

En la gráfica 13 se muestran las curvas de calibración para el segundo tratamiento, en el cual se utilizó una columna distinta (ver sección de Comparación de Columnas). Al comparar los coeficientes de determinación, $r^2(b_1) = 0.983$, $r^2(b_2) = 1.00$, $r^2(b_3) = 1.00$, y $r^2(b_4) = 0.999$, vemos que son un poco más altos que los valores encontrados para el primer tratamiento.

Las cantidades mínimas detectables para esta aplicación son un poco mayores que para el primer tratamiento, ya que se utilizó un estándar más concentrado, a excepción de b_1 , en que se usó el mismo estándar. Estas cantidades son : $cm(b_1) = 1.76\text{ ng}$, $cm(b_2) = 11.51\text{ ng}$, $cm(b_3) = 1.36\text{ ng}$, y $cm(b_4) = 7.30\text{ ng}$.

La diferencia entre $cm(b_2)$, $cm(b_3)$ y $cm(b_4)$ es probablemente debida también a que se utilizó un septum completamente nuevo en b_3 , y se utilizó gas portador nitrógeno muy limpio, proveniente de los E.E.U.U.. En los casos de b_2 y b_4 se trabajó con un gas portador adquirido en el comercio local, el cual no es suficientemente puro para este tipo de trabajo. En el Cuadro 7 se pueden apreciar las diferentes temperaturas empleadas, teniendo en cuenta que es una columna diferente la utilizada. Miles aconseja para esta columna temperaturas más altas (cuadro 4), siendo de 280°C para el FPD, al igual que para el block de entrada, y de 270°C para la columna.

Cuadro 7

Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block para el análisis de las muestras del segundo tratamiento.

	b ₁	b ₂	b ₃	b ₄
Temp. detector (°C)	255	245	250	245
Temp. entr. block (°C)	250	245	245	245

En la gráfica 14 se muestran las curvas de calibración para el análisis de las muestras y pruebas de laboratorio. Los coeficientes de determinación son bastante altos : $r^2(c_1) = 0.907$, $r^2(c_2) = 1.00$, y $r^2(c_3) = 1.00$. Las cantidades mínimas detectables para estas muestras son : $cm(c_1) = 7.11$ ng, $cm(c_2) = 12.23$ ng y $cm(c_3) = 14.52$ ng, empleando en la curva de calibración el estandar concentrado. Las temperaturas empleadas están en el cuadro 8. Las temperaturas aconsejadas deberían ser las mismas que para la columna empleada en las curvas b (ver Comparación de Columnas).

De los datos obtenidos para las concentraciones mínimas detectables para las curvas a, b y c, podemos deducir que mientras más cerca se esté trabajando de las condiciones aconsejadas, mejor serán los resultados obtenidos. En el caso de a₂ fue donde más cerca se estuvo trabajando de las condiciones ideales, y fue cuando se obtuvo una menor cantidad mínima detectable. En el caso de b₃ se puede aplicar el mismo razonamiento.

Solamente en el caso de las curvas c no es aplicable la anterior suposición, ya que en c₂ se trabajó más cerca de las condiciones aconsejadas, pero la cantidad mínima detectable fue mayor que para c₁. Es de recordarse que la columna empleada en este caso fue la que se rompió en un extremo, por lo que las condiciones de trabajo óptimas no se conocían, solamente se supusieron iguales a las de la original (ver Comparación de Columnas).

Cuadro 8

Temperaturas empleadas en el FPD y en la entrada del block para el análisis de las muestras y pruebas de laboratorio.

	c ₁	c ₂	c ₃
Temp. detector (°C)	246	250	251
Temp. entrada block (°C)	242	245	245

A continuación se presentan los datos que sirvieron de base para la obtención de las curvas de calibración, presentadas en las gráficas 12, 13 y 14.

Cuadro 9

Datos para la obtención de las gráficas 12, 13 y 14
 μ l inyectados y porcentaje de respuesta

recta	μ l	altura	S
a ₁	3.0	50.950	6.435
	2.9	51.800	
	2.4	41.850	
	2.35	37.900	4.510
a ₂	1.7	44.050	
	1.6	41.275	
a ₃	3.05	44.200	
	3.0	53.325	9.401
	2.95	44.550	
	1.6	21.967	1.279
	1.55	19.350	
a ₄	2.75	88.375	3.288 (1)
b ₁	4.0	84.875	4.066
	3.05	54.550	4.101
	2.0	33.300	0.071
b ₂	1.3	31.967	3.783
	1.35	34.050	
b ₃	1.5	38.900	7.506
	2.3	60.550	5.602
b ₄	1.5	38.900	7.506
	1.9	48.925	0.035
	2.3	62.283	4.180
c ₁	1.8	67.465	16.091
	1.55	54.550	13.240
	1.15	37.775	0.177
c ₂	1.15	41.450	1.552
	1.7	80.450	
	1.75	84.300	
	1.8	87.475	0.742
	1.15	27.517	3.121
c ₃	1.75	64.200	8.061
	1.8	61.850	

(1) Este dato es un promedio de dos inyecciones, de 2.8 y 2.75 μ l respectivamente, y el segundo punto utilizado en la construcción

de la curva de calibración es el promedio de los interceptos de las rectas a_1 , a_2 y a_3 , cuyo valor es de 0.401 ± 0.19 . La curva de calibración se determinó en base a estos datos, ya que no se disponía de mayores datos.

A continuación se presentan los resultados al aplicar el programa de regresión lineal a los datos del cuadro 9.

Cuadro 10

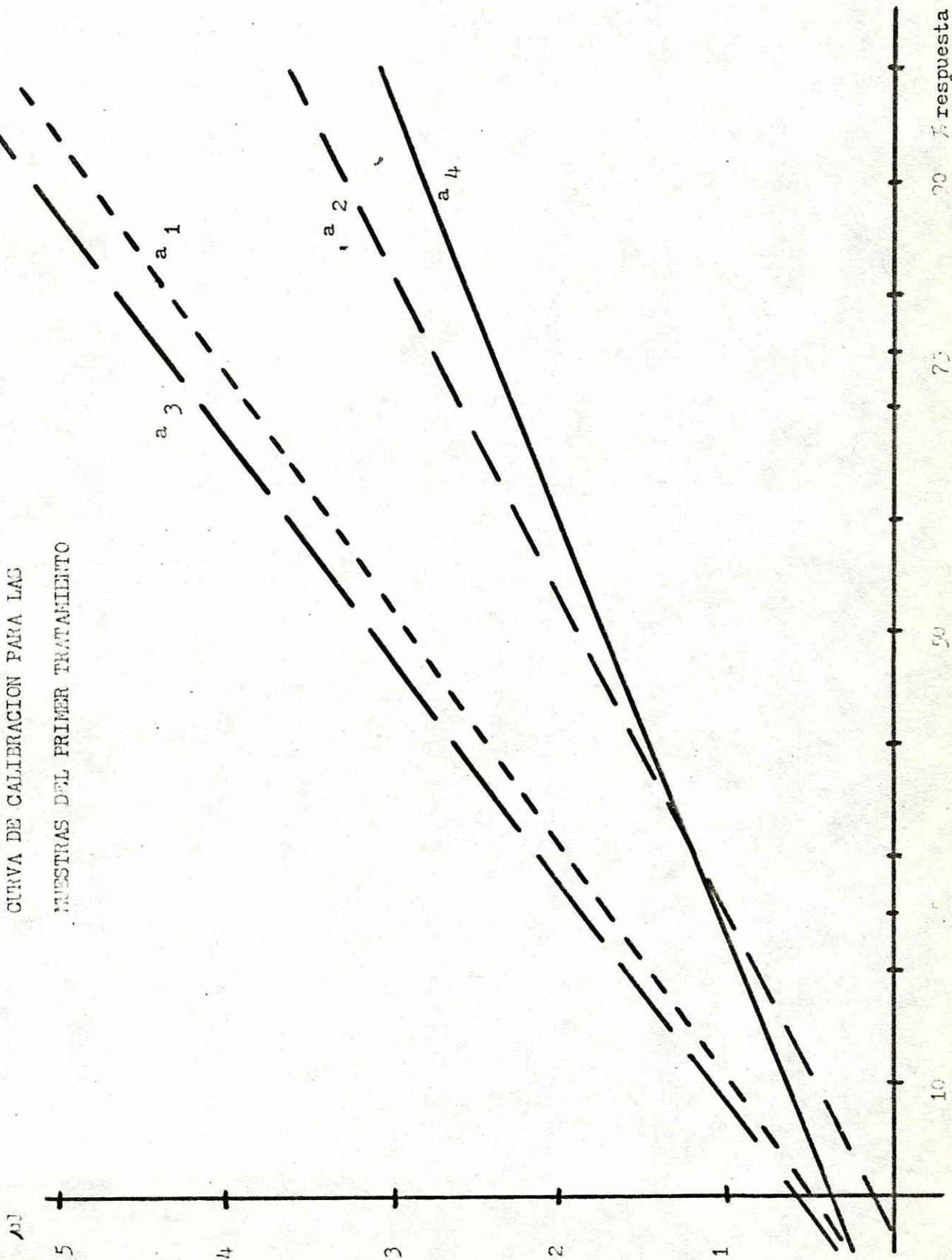
Resultados al aplicar el programa de regresión lineal a los datos del cuadro 9.

recta	intercepto	pendiente	r^2	25 %	50 %	75 %
a_1	0.496	0.047	0.940	1.683	2.870	4.058
a_2	0.113	0.036	1.000	1.014	1.914	2.815
a_3	0.593	0.050	0.937	1.845	3.097	4.350
a_4	0.401	0.027	1.000	1.067	1.733	2.399
b_1	0.813	0.038	0.983	1.770	2.727	3.684
b_2	0.533	0.024	1.000	1.133	1.733	2.333
b_3	0.063	0.037	1.000	0.986	1.910	2.834
b_4	0.338	0.032	0.999	1.128	1.919	2.709
c_1	0.329	0.022	0.997	0.879	1.428	1.978
c_2	0.566	0.014	1.000	0.918	1.270	1.622
c_3	0.672	0.017	0.984	1.109	1.546	1.983

Estos resultados se presentan en las gráficas 12, 13 y 14.

GRAFICA # 12

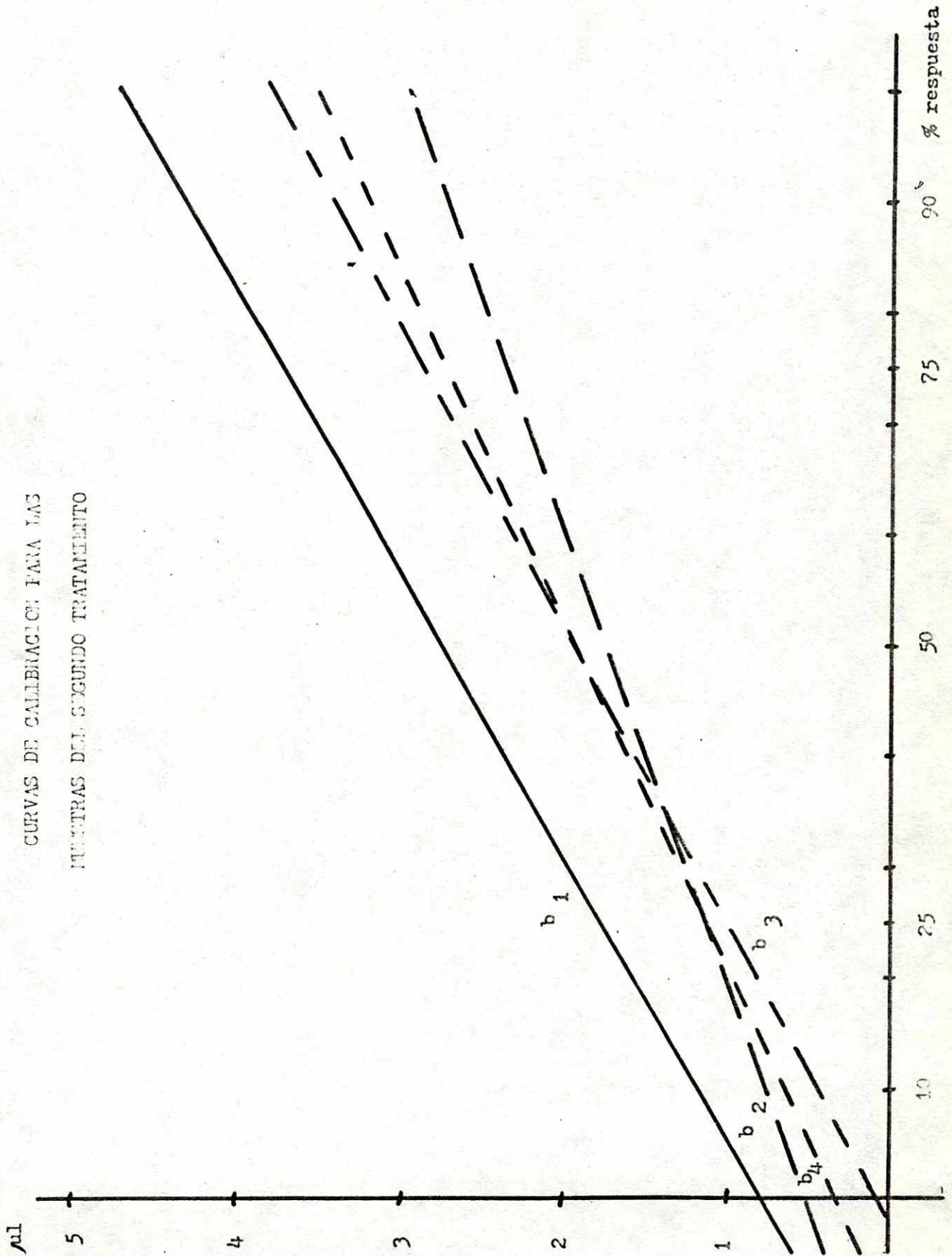
CURVA DE CALIBRACION PARA LAS
MUESTRAS DEL PRIMER TRATAMIENTO



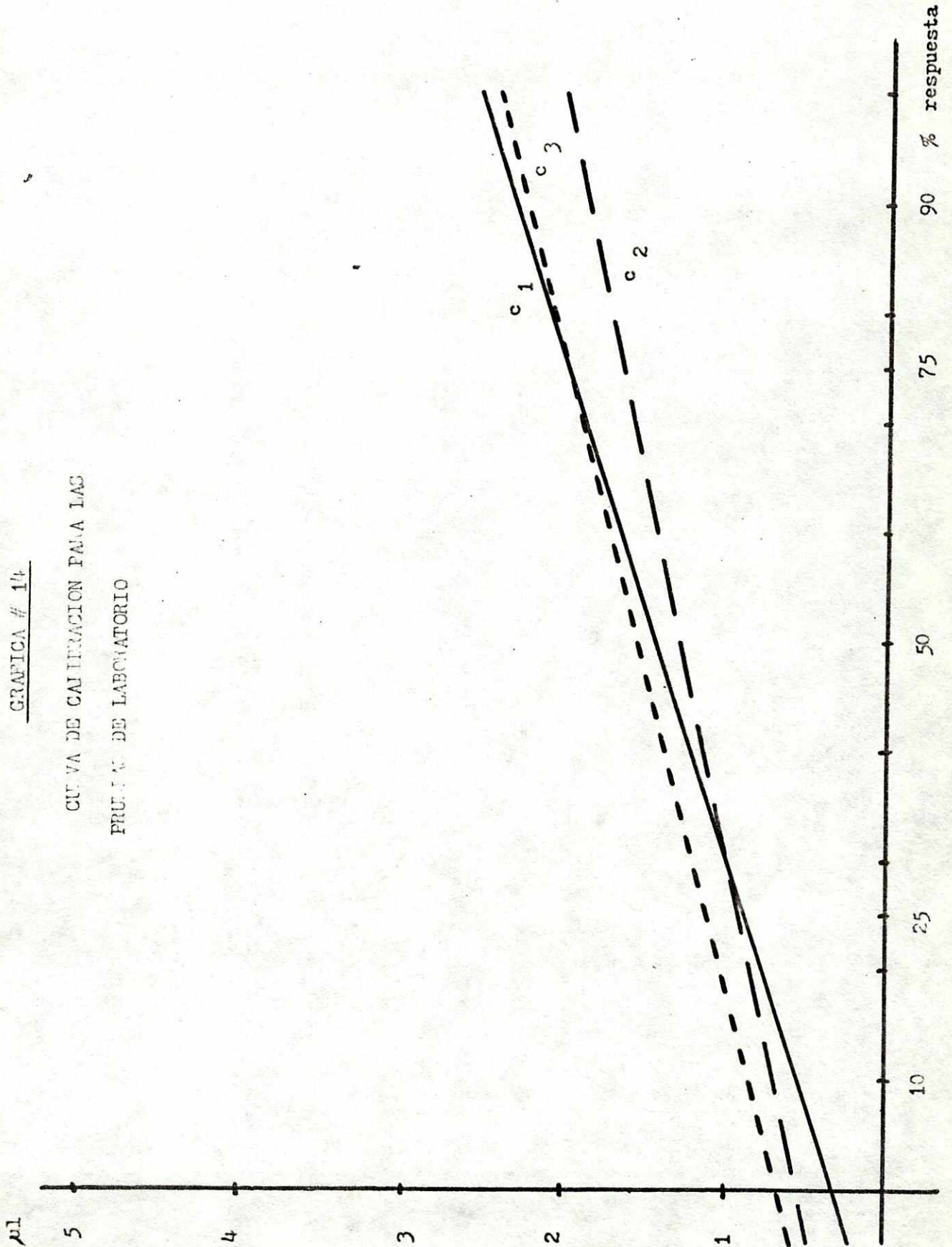
respuesta

GRAFICA # 13

CURVAS DE CALIBRACION PARA LAS
MUESTRAS DEL SEGUNDO TRATAMIENTO



GRAFICA # 14
CURVA DE CALIBRACION PARA LAS
PRUEBAS DE LABORATORIO



7. Absorción de Solvente-insecticida por Tapaderas de Frascuitos
(Segunda Aplicación).

Todas las muestras que se extrajeron, tanto acuosas como de tierra, se almacenaron en frascos de vidrio de aproximadamente 10 ml, rotulados debidamente, con cinta de teflón alrededor de la rosca, para evitar la evaporación del solvente, y por consiguiente, una alteración en la concentración real del insecticida. Además de la tapadera corriente de plástico, para las muestras de la primera aplicación se colocó un sello de teflón en la tapadera, para cerrar herméticamente el recipiente. En las muestras de la segunda aplicación se colocó un sello de hule, el cual se supone debería jugar el mismo papel que el sello de teflón, según información del CDC.

El 24/7/79 se hizo la primera aplicación y las muestras se terminaron de extraer el 28/7/79. Pero no fue sino hasta el 13/9/79 que se empezó a hacer el análisis de las mismas, debido a la falta de equipo. Esto implica que las muestras permanecieron por lo menos 100 días almacenadas en el congelador, y no se puede garantizar que el suministro de energía eléctrica haya sido ininterrumpido durante ese tiempo. Como se puede ver en el Apéndice C, fueron varias muestras las que se evaporaron completamente, y no hubo proceso de reextracción.

El 5/9/79 se llevó a cabo la segunda aplicación, y las muestras se extrajeron en los siguientes 20 días. Los análisis empezaron a hacerse a los 30 días de haber terminado con las extracciones, o sea, el 26/12/79, y se prolongaron hasta el 2/1/80. Durante ese mes de almacenamiento en el refrigerador de UDV, por un descuido desconectaron el mismo, y dio lugar a que varias muestras se evaporaran. Al abrir entonces los frascos, nos dimos cuenta que el tapón o sello de hule se había ensanchado grandemente, tanto así que no se pudo remover tapón alguno de su lugar, ya que estaba muy duro para sacarlo, o simplemente se rompía. Ciertas muestras (ver Apéndice C) se tuvieron que llevar al nivel original, agregando con una jeringa la cantidad aproximada de solvente para llegar al volumen deseado.

Teniendo esto en cuenta cuando se hizo el último trabajo, la extracción de tierra, se almacenaron muestras dobles, o sea, la misma extracción dividida en dos frascuitos, uno con tapón de teflón, y uno con tapón de hule. En total, se inyectaron siete muestras con tapón de hule, y seis muestras con tapón de teflón.

De las muestras con tapón de teflón, el 100 % de ellas resultó con

un solo pico después del pico del solvente, a un promedio de 0.733 min, con una desviación estandar de 0.034, al igual que una muestra de solvente puro. De las muestras con tapón de hule, el 71.4 % mostró un doble pico a los 0.38 y 0.75 min, con desviaciones estandar de 0.008 y 0.044 respectivamente (sólo se incluyen 4 datos en este cálculo, ya que para una muestra el integrador no funcionó, y los tiempos dados están basados en los resultados de este aparato); las dos muestras restantes presentaron un solo pico a los 0.735 min, con desviación estandar de 0.007. Podemos intuir entonces que este segundo nuevo pico se debe a la interacción del solvente, o del insecticida, con el tapón. Pero no repercute grandemente en la concentración del insecticida si es que el análisis se lleva a cabo a los pocos días de haberse extraído la muestra. Dado el caso de la segunda aplicación, cuando el análisis se llevó a cabo hasta después de un mes de la extracción, es posible que el efecto sea mayor, aunque para ello no hay datos disponibles.

Al comparar las muestras 0.985 g y 0.985 f almacenadas con ambos tipos de tapones, obtenemos los datos presentados en el cuadro 11.

Cuadro 11

Comparación de las pruebas de laboratorio

Muestra	μg de Abate ⁽¹⁾	desv.estan.	diferencia significativa (2)
0.985 g ST	24.66	0.61	no, $p \ll 0.05$
0.985 g CT	22.45	2.77	
0.985 f ST	25.08	0.74	
0.985 f CT	24.42	0.27	no, $p \ll 0.05$

(1) Datos obtenidos del Apéndice C

(2) Valor de t con $p = 0.05$, $N = 2$, $t = 4.30$

$t(0.985 \text{ g}) = 1.10$, $t(0.985 \text{ f}) = 1.18$

Por lo tanto no podemos diferenciar las muestras entre sí, como habíamos supuesto al principio de la discusión.

VII.B. EFECTIVIDAD

En esta sección se discutieron los temas de efectividad de las aplicaciones y los mecanismos de repoblación.

VII.B.1 Efectividad de las aplicaciones:

- Erradicación de larvas
- .2 Mecanismos de repoblación
- .3 Niveles residuales de Abate

.1 Efectividad de las Aplicaciones : Erradicación de Larvas

Para determinar la efectividad de las aplicaciones se realizó un conteo de larvas en los diferentes sitios establecidos. Debido a que es muy difícil determinar la cantidad exacta de larvas en un río, se siguió el procedimiento propuesto por el Dr. R. Darsie (23), el cual consiste en tomar en cada sitio de muestreo de larvas 20 hojas del lecho del río. Esta colecta de hojas debe ser al azar, aunque en algunos casos se miran primero las hojas para confirmar la presencia de larvas. En caso que no tengan se buscan otras hojas, hasta encontrar 20 de ellas que sí tengan larvas. Este procedimiento se lleva a cabo en un tramo de 10 m a lo largo de cada sitio, y la espesa vegetación a la orilla del río siempre provee de hojas necesarias. En varias ocasiones se colocaron sustratos artificiales en el río, pero no con el propósito de realizar un conteo de larvas en base a sustratos, sino que se hizo con el fin de una más fácil visualización de la velocidad de repoblación, al igual que la cantidad aproximada de larvas. Las 20 hojas recolectadas en cada sitio fueron colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético, y se trasladaron a la capital en un recipiente fresco (hielera sin hielo). Cada bolsa contenía la descripción exacta de la fecha de recolección, el sitio de muestreo y el lugar.

En los cuadros 12 y 13 se pueden apreciar los resultados obtenidos, los cuales están graficados en la gráfica 15. Los muestreos fueron realizados una vez por semana, durante 5 semanas post tratamiento, y todas las veces primero en el río de aplicación, aproximadamente de 10 a 12.30 horas, mientras que la recolección en el río testigo siempre se realizó de 13.30 a 15.30 horas aproximadamente.

Del cuadro 12 se puede apreciar que no existe una eliminación total, ya que se encontraron algunas larvas incluso el día después de la aplicación. Esto se puede deber a una migración de uno de los lugares

no tratados, como por ejemplo los dos pequeños afluentes río arriba del sitio 4, o la migración de algún punto río arriba y donde la aplicación de insecticida no fue eficiente.

A los 15 días de la aplicación ya se nota un aumento considerable en la cantidad de larvas, aunque todavía el número permanece parecido al del día antes de la aplicación. A los 21 días se nota claramente que el insecticida ha dejado de ser efectivo, ya que el aumento de la población larval es considerable. Este aumento es notorio hasta el 36o. día después de la aplicación, lo que significa tres semanas de crecimiento larvario. A la cuarta semana, o sea, al 43o. día después de la aplicación, se nota una disminución en la cantidad de larvas, lo cual puede ser el comienzo del estadio de pupas. El dato de crecimiento larval de tres semanas que se obtiene de estos datos está de acuerdo con los datos proporcionados por Monroy (43) y por Collins (comunicación personal), al igual que los comunicados por Darsie (comunicación personal).

Los datos que se obtuvieron para la segunda aplicación (cuadro 13) siguen el mismo patrón que los de la primera. Se nota un marcado decaimiento de larvas hasta el noveno día después de la aplicación, y luego empieza a aumentar el número de larvas encontrado. La diferencia está en que en la primera aplicación la cantidad de larvas inicial se alcanza al 19o. día después de la aplicación, mientras que en la segunda vez el número inicial se alcanza al 15o. día. El aumento de larvas es más pronunciado en la segunda vez, y desgraciadamente no se llegó a un muestreo en el 43o. día como en la primera vez, por lo que no se puede ver el decaimiento de larvas debido a la formación de pupas. La mayor cantidad de larvas en el segundo tratamiento se debe a que en la fecha de aplicación (5/11/79) comienza la época o estación seca, con lo cual aumenta la cantidad de moscas, y por consiguiente, la cantidad de larvas, según datos proporcionados por Porter (comunicación personal).

De los resultados anteriores se deduce que es necesario hacer aplicaciones cada tres semanas para eliminar las larvas, si se emplea una concentración de 0.1 ppm de Abate, y cada dos semanas si se hace la aplicación con una concentración de 0.05 ppm de Abate. La razón por la cual se espera a que la cantidad de larvas después del tratamiento sea igual o parecida a la inicial es que las aplicaciones se deben espaciar lo más posible, por dos razones principalmente. Una es la relacionada con el factor económico, ya que se supone que en un futuro serán los dueños de las fincas los encargados de comprar y aplicar el insecticida, y la segunda razón es que mientras más espaciada sea una aplicación, menos

probabilidad existirá de que estas larvas desarrollen resistencia al insecticida. Dado el caso que las aplicaciones de insecticida a las concentraciones mencionadas no fueran efectivas, se podría realizar una aplicación con concentraciones mayores, y luego volver a emplear otra vez las aplicaciones con concentraciones menores.

Otro resultado interesante es que es más económico tratar el río con concentraciones de 0.05 ppm en vez de 0.1 ppm, durante un período de tiempo largo, ya que se observó que no existe una linealidad entre la cantidad de insecticida aplicada vrs. efectividad obtenida. Esto quiere decir que si se realiza una aplicación con 1 ppm de Abate seguramente no se obtendrán 30 semanas de eliminación larval, dato que se obtiene al multiplicar los resultados obtenidos de la aplicación de 0.1 ppm y efectividad de tres semanas.

A continuación se presentan los cuadros 12 y 13, en los cuales está ploteada la cantidad de larvas contra el sitio de muestreo, para la primera y segunda aplicaciones. Aparece, además, la gráfica 15, en la cual se plotea la cantidad de larvas encontradas en función de los días después del tratamiento.

Cuadro 12

CANTIDAD DE LARVAS vrs. SITIO PRIMERA APLICACION

Días	- 1		+ 1		+ 8		+ 15		+ 21		+ 29		+ 36		+ 43		Totales
	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	
1	6	21	0	1	0	0	0	12	4	63	7	47	25	91	3	10	245
2	18	71	0	0	0	0	16	18	105	15	130	24	134	15	61	517	
3	11	47	0	0	0	0	11	6	30	26	80	5	69	11	41	278	
4	9	38	0	0	0	0	6	11	53	21	105	40	313	10	103	618	
5	15	28	0	0	0	0	10	5	54	42	346	5	119	13	87	644	
6	14	27	0	0	0	0	17	3	15	15	52	19	118	8	74	303	
7	26	46	0	0	0	0	0	2	6	6	12	13	53	25	59	176	
8	12	18	-	-	4	6	18	43	54	33	65	52	78	71	112	362	
9	0	4	0	0	0	0	1	2	53	4	76	2	87	1	3	224	
10	2	25	0	0	0	0	3	4	6	0	14	7	215	1	4	267	
Totales	113	325	10	12	4	6	94	98	439	169	927	192	1277	158	554	3634	

och. = Simulium ochraceum

tot. = Total de larvas

Quadro 13

CANTIDAD DE LARVAS vrs. SITIO SEGUNDA APLICACION

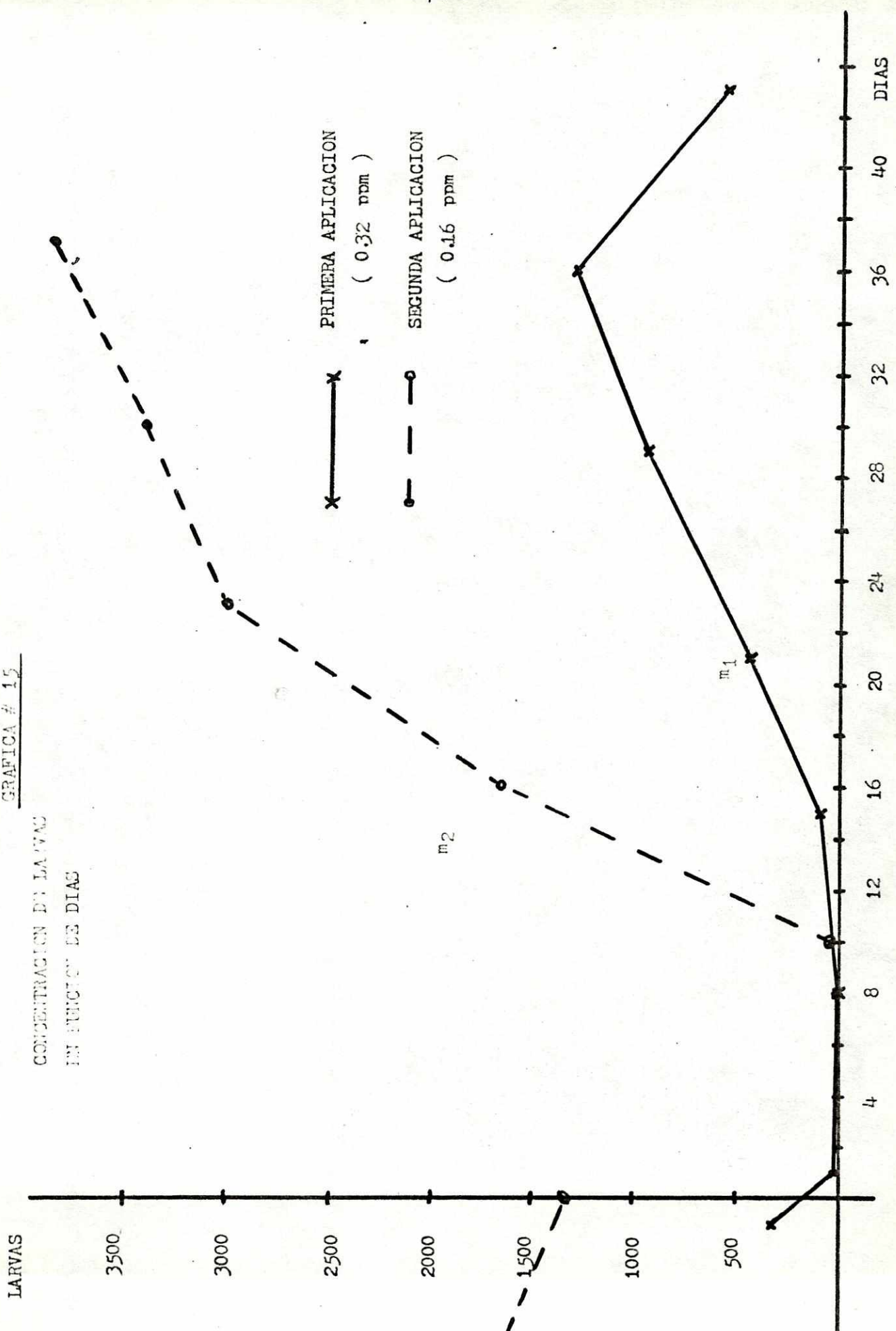
Días Sitio	- 7		+ 0		+ 9		+ 16		+ 23		+ 30		+ 37		Totales
	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	och.	tot.	
1	75	177	70	270	0	0	8	36	80	326	78	435	108	338	1582
2	58	159	0	0	0	0	108	307	143	413	112	269	87	333	1481
3	79	179	92	278	0	0	53	228	74	289	173	421	157	417	1812
4	93	221	0	0	0	0	68	322	77	349	107	425	157	500	1817
5	110	342	178	493	0	0	55	212	40	326	113	282	97	391	2046
6	63	199	0	0	0	0	120	432	199	754	230	704	162	592	2681
7	24	43	67	119	0	0	-	0	7	23	61	149	91	234	568
8	23	33	0	0	30	33	8	30	13	16	3	4	11	16	132
9	62	176	55	155	0	0	6	35	55	398	74	483	212	923	2170
10	65	163	0	0	0	0	8	43	25	92	42	168	19	75	541
Totales	652	1692	462	1315	30	33	434	1645	713	2986	993	3340	1101	3819	14830

och. = Simulium ochraceum

tot. = Total de larvas

GRAFICA # 15

CONCENTRACION DE LA VMA
EN FUNCION DE DIAS



.2 Mecanismos de Repoblación

Debido al efectivo proceso de eliminación de larvas durante un cierto tiempo al agregar insecticida al agua, es interesante conocer un poco acerca de los métodos y mecanismos de repoblación de larvas. Como el insecticida aplicado es únicamente larvicida, y no tiene efecto alguno sobre las moscas, al igual que sobre las pupas (22), el interés se fija en cómo vuelven a aparecer las larvas en el río.

Básicamente se puede decir que hay dos mecanismos de repoblación posibles : el arrastre de huevos y larvas desde sitios en donde no llegó o no fue efectivo el insecticida, y el segundo, una nueva oviposición por parte de las moscas que vuelan por los alrededores. También se podría mencionar como tercera posibilidad un mecanismo combinado, el cual se llevaría a cabo al interactuar los dos anteriores.

El arrastre de larvas o huevos desde sitios no contaminados por insecticida es poco probable como único mecanismo de repoblación, ya que debería haber áreas tan altamente pobladas de larvas o huevos, que en poco tiempo fueran capaces de repoblar todo el río, o por lo menos el trayecto estudiado, lo cual resulta muy poco probable.

En cambio, es más factible que las moscas que vuelan por el lugar empiecen a depositar huevos, y que éstos empiecen a eclosionar. Debido a la gran cantidad de moscas que sobrevuelan el lugar, y a la cantidad de huevos que depositan por puesta (aproximadamente 100 huevos/puesta, según Monroy (43)), la repoblación de larvas es más probable que se deba a este mecanismo, y no al anterior. No podemos decir con certeza si se lleva a cabo por medio de un solo mecanismo, o si ambos intervienen para dar una más rápida repoblación.

En la gráfica 15, en la sección de Efectividad de las Aplicaciones, podemos observar que el aumento de larvas es, dentro de la incertidumbre de los datos, lineal con respecto al tiempo, para ambas aplicaciones. Utilizando un programa para calcular regresión lineal obtenemos que la recta m_1 (1a. aplicación) tiene una pendiente de 56.87, corta el eje 'x' en 13.22, y el eje 'y' en -751.8; mientras que m_2 (2a. aplicación) tiene una pendiente de 210.93, corta el eje 'x' en 8.63, y el eje 'y' en -1820.2. Los coeficientes de determinación son 0.998 y 0.997 respectivamente. De las intersecciones del eje 'x' obtenemos el intervalo de tiempo que hay desde el tratamiento del río al punto en donde se inició la repoblación. La diferencia entre los valores para las dos aplicaciones, aproximadamente 4.5 días indica que, a pesar que la población tratada con menos insecticida se empezó a recuperar 4. días antes, éste es

un cambio solamente del 25 % comparado con un factor de 2 en la concentración de insecticida. Como se había comentado anteriormente, la respuesta de la población al tratarse con concentraciones diferentes de insecticida es marcadamente no lineal.

Basados en esta observación podemos proponer un modelo matemático para la repoblación larval del río. Sea la velocidad de crecimiento de la población larval proporcional a una concentración constante de moscas (hembras), es decir,

$$\frac{dL}{dt} = k M \quad (1)$$

$$L = \text{larvas/m}^2 \text{ río}, \quad M = \text{moscas/m}^2 \text{ finca}, \quad k = \text{cte}, \quad t = \text{tiempo (días)}$$

con lo cual proponemos el modelo matemático con una ecuación de primer orden, la más sencilla proposición. Si integramos la anterior ecuación desde un tiempo $t_0 = 0$ hasta un tiempo $t_f = t$, obtenemos

$$L = L_0 + k M t \quad (2)$$

Pero L_0 por definición va a ser igual a cero, ya que la cantidad inicial de larvas = 0, para el período cuando empieza la repoblación. Por lo tanto, podemos escribir

$$L = k M t \quad (3)$$

Si definimos la constante k como

$$k = f N P R \quad (4)$$

f = porcentaje de eclosión (larvas/huevos)

N = huevos/puesta de mosca hembra

P = puesta/mosca por día

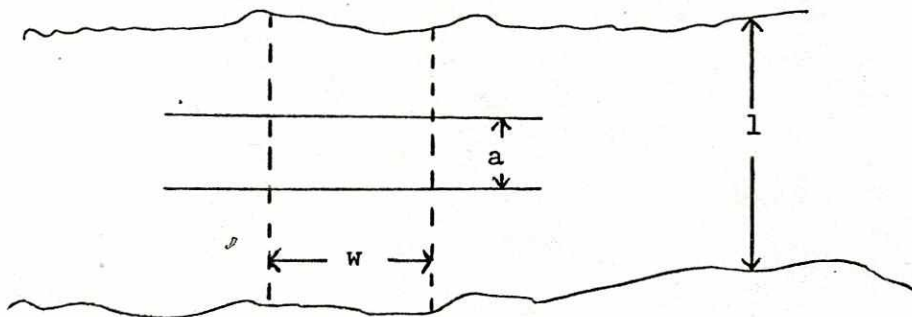
R = $\text{m}^2 \text{ finca/m}^2 \text{ río}$

Dimensionalmente obtenemos entonces para k :

$$k = \frac{\text{larvas}}{\text{huevos}} \frac{\text{huevos}}{\text{puesta}} \frac{\text{puesta}}{\text{mosca día}} \frac{\text{m}^2 \text{ finca}}{\text{m}^2 \text{ río}} = \frac{\text{larvas}}{\text{m}^2 \text{ río}} \frac{\text{m}^2 \text{ finca}}{\text{mosca día}}$$

Para entender más fácilmente el parámetro R , veamos el siguiente esquema (esquema 1) :

Esquema 1 (Definición del parámetro R)

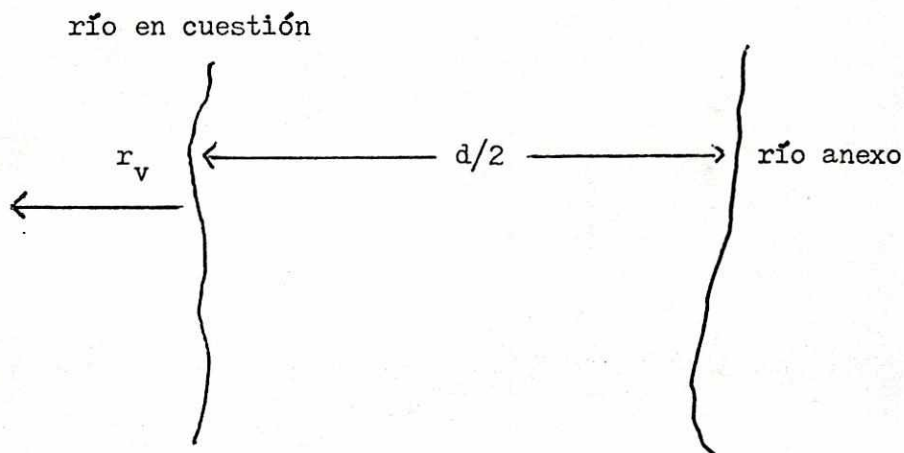


$$R = \frac{w l}{w a} = \frac{l}{a}$$

(5)

El esquema 1 representa el caso ideal donde el único río presente en el área en cuestión es el río estudiado. Entonces, la distancia l es igual al radio de vuelo de la mosca, r_v . Si el caso no es éste, sino que hay más ríos en el área, se aplica el siguiente esquema (esquema 2) :

Esquema 2 (Corrección al parámetro R)



Por lo que l queda definida entonces como

$$l = r_v + d/2$$

(6)

y tenemos la restricción para l ,

$$0 < l < 2 r_v$$

(7)

Para calcular todos los parámetros de la ecuación 4, f es el porcentaje de huevos que eclosionan/cantidad de huevos puestos. Este dato lo encontramos en Monroy (43), quien indica que bajo condiciones de laboratorio, un 44% de los huevos eclosionan. Por no tener datos de comparación con el campo, se toma este dato como primera aproximación.

N lo definimos como huevos/puesta, dato que también encontramos en Monroy (43), y nos dice que este número es de 92 huevos/puesta. En su trabajo de tesis, Monroy (44) dice que puede llegar hasta 150 la cantidad de huevos/puesta, por lo que tomando un promedio obtenemos aproximadamente $N = 120$. P se refiere a la frecuencia con que las moscas oviponen, y según Collins (comunicación personal), éstas están en capacidad de oviponer cada cuarto día, por lo que $P = 0.25$. El cálculo de R representa un problema, ya que no se sabe con exactitud el área de finca efectiva. El área de río efectiva se obtiene al tomar el promedio de anchura del río, y que en el trayecto de interés es de 2.50 m. Supongamos que el máximo de radio de vuelo para esta área es de 1000 m, con lo que $R = 800$. Con estos datos calculamos k :

$$k = 0.44 \times 120 \times 0.25 \times 800$$
$$= 10560 \frac{\text{larvas m}^2 \text{ f}}{\text{mosca día m}^2 \text{ r}}$$

Si tomamos la pendiente obtenida según el cálculo hecho para las rectas m_1 y m_2 , con ayuda del programa de regresión lineal, podemos calcular las concentraciones de moscas como :

$$M = \text{pendiente} / kA, \text{ con } A = \text{área de recolección de larvas}$$
$$= 10 \text{ m}^2 \text{ río}$$

$$M_1 = 5.687 / 10560 = 0.00054 \text{ moscas/m}^2 \text{ f}$$

$$M_2 = 21.093 / 10560 = 0.0020 \text{ moscas/m}^2 \text{ f}$$

donde M_1 = moscas en la primera aplicación

M_2 = moscas en la segunda aplicación

Estos datos se refieren a las moscas hembras que están en el área incluida en el parámetro R, el cual es bastante grande y aplicable solamente si la población estuviera homogéneamente distribuida en esta área. Pero la mayoría de moscas podrían encontrarse en un área muy cercana al río, para poder oviponer. Por lo tanto, podemos asumir como otro modelo, que $R = 1$ (adimensional), con lo cual obtenemos los siguientes datos :

$$k = 0.44 \times 120 \times 0.25 \times 1.00 = 13.20 \text{ larvas/mosca día}$$

Y entonces obtenemos para los datos de moscas :

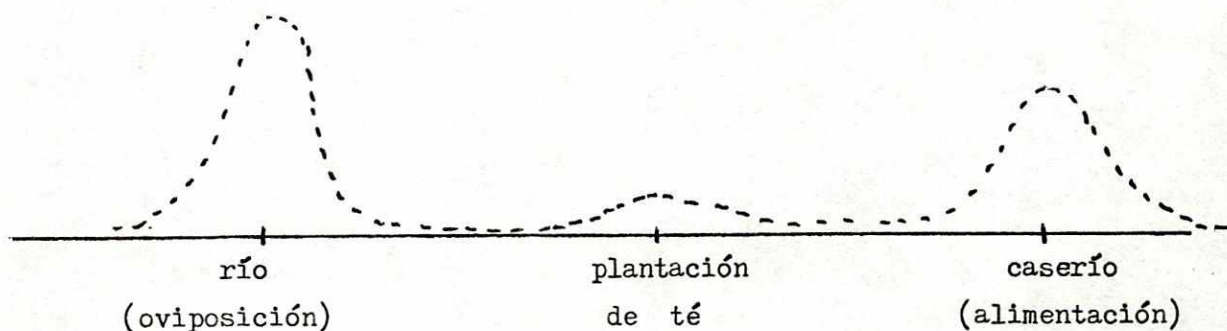
$$M_1 = 0.431 \text{ moscas/ m}^2 \text{ r}$$

$$M_2 = 1.598 \text{ moscas/ m}^2 \text{ r}$$

Por último, si imaginamos una distribución de moscas con respecto al lugar de alimentación y oviposición, podemos obtener un esquema como el siguiente (esquema 3) :

Esquema 3

Distribución de moscas con respecto al lugar de alimentación y oviposición.



Los datos de Porter (45) indican que en el caserío hay aproximadamente 20 veces más moscas que en el cafetal, y nosotros suponemos que en el río deben haber más moscas que en el cafetal. Si existe un equilibrio entre estos parámetros, entonces $P = 1$, ya que hay una puesta al día por cada mosca que llegue a oviponer. Si calculamos entonces k :

$$\begin{aligned} k &= f N P \\ &= 0.44 \times 120 \times 1 \quad \frac{\text{larvas}}{\text{huevos}} \quad \frac{\text{huevos}}{\text{puesta}} \quad \frac{\text{puesta}}{\text{día mosca}} \\ &= 52.8 \text{ larvas / día mosca} \end{aligned}$$

Calculando entonces M con este nuevo dato obtenemos :

$$\begin{aligned} M_1 &= 5.687 / 52.8 = 0.108 \text{ moscas hembras/m}^2 \text{ r} \\ M_2 &= 21.093 / 52.8 = 0.399 \text{ moscas hembra/ m}^2 \text{ r} \end{aligned}$$

Si multiplicamos por 4 días, la frecuencia de oviposición, obtenemos el total de moscas hembras en la región :

$$\begin{aligned} M_1 &= 0.43 \text{ moscas hembras/m}^2 \text{ r} \\ M_2 &= 1.60 \text{ moscas hembras/m}^2 \text{ r} \end{aligned}$$

Asumamos que el radio de atracción de las moscas es de 10 m a la redonda, entonces obtenemos un área de atracción de 314.2 m^2 , con lo cual habrá 136 y 502, para los dos casos respectivamente, moscas dispuestas a picar a un cebo colocado en el centro de esa área, durante un cierto período o tiempo de muestreo. Este último dato se compara favorablemente con las mediciones hechas en el campo por Porter (45), en el cual han obtenido un promedio de 700 moscas atraídas por un cebo humano en un período

do de 18 minutos.

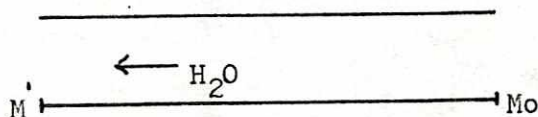
El modelo presentado para la repoblación podría ser útil, entonces, para la planificación de estudios posteriores.

.3 Niveles Residuales de Abate.

En el sitio de aplicación se agregó una determinada cantidad de insecticida, la cual es arrastrada a lo largo del río. Si el río fuera un prototipo ideal, con un fondo o lecho no interferente con el pesticida, la cantidad agregada al inicio sería detectada en los sitios subsiguientes. Pero este río en particular contiene mucha materia orgánica en su lecho, como hojas y ramas, además de que en su mayoría el lecho es de tierra y no de piedras. Es de suponerse, por lo tanto, que no se detectará la misma cantidad inicial agregada en el sitio de aplicación que en cualquier sitio de muestreo subsiguiente. Conociendo este fenómeno podemos proponer un modelo matemático para calcular la cantidad de insecticida que se pierde debido al fenómeno de absorción.

Supongamos que la cantidad inicial de insecticida agregada al río es M_0 , y la cantidad detectada en la fase acuosa en un sitio x es M' . Esto implica que la cantidad atrapada en la tierra será $M_t = M_0 - M'$.

Esquema 4



La cantidad M' la podemos calcular empleando los perfiles de concentración de Abate (págs.34 - 40). Debido a que en el sitio M-4 se detectó una menor cantidad de Abate que en el sitio M-5, lo cual no debería haber sucedido (ver Aumento de la Concentración en los Sitios M-5 y M-6), utilizaremos los valores obtenidos para el sitio 5. Para el segundo tratamiento no es posible hacer los cálculos que se harán a continuación, ya que no se detectó insecticida alguno en las muestras de tierra.

En la pág.36, encontramos el perfil de concentración de Abate para el sitio M-5. La mayor concentración de Abate detectada es en M 5-5, siendo de $0.062 \pm 0.006 \mu\text{g Ab/ml}$. Notamos además que el pico de insecticida tiene una duración de 10.75 min, haciendo una extrapolación al eje 'x'; ver esquema 5.

Calculando el área bajo el triángulo B podemos conocer la cantidad de insecticida que fluyó a través de este sitio :

$$h = 0.062 \pm 0.006 \mu\text{g Ab/ml}$$

$$b = 10.75 \text{ min.} \pm 0.02$$

$$\text{Area B} = \frac{0.062 \times 10.75 \times 60}{2} = 20.0 \mu\text{g Ab seg/ml solución}$$

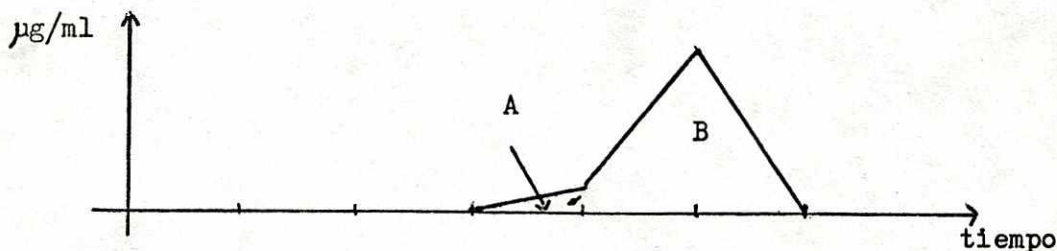
Multiplicando este dato por el valor del flujo real para la primera aplicación (43.18 l/seg) obtenemos :

$$20.0 \times 43.18 = 864 \text{ mg de Abate}$$

Los mismos cálculos se pueden aplicar al triángulo A :

$$\frac{0.008 \times 10.0 \times 60 \times 43.18}{2} = 104 \text{ mg de Abate}$$

Esquema 5



Sumando las dos cantidades (triángulos A y B) se obtiene una cantidad total de 967 ± 384 mg de Abate.

La cantidad inicial de Abate agregada en la primera aplicación fue de 8.23 gr. Obviamente se perdió bastante insecticida, de algún modo, en el trayecto entre el sitio de aplicación, y el sitio 5.

Proponemos entonces un modelo matemático para calcular la masa de insecticida en el río (no agua). Haciendo la suposición de que a mayor distancia recorrida menor la cantidad de insecticida depositada en la tierra, podemos derivar las siguientes fórmulas :

sea $C_t(x)$ = concentración de insecticida en la tierra, en el sitio x.

En la gráfica 11 se encuentran ploteados los datos acerca de la concentración de Abate en las muestras de tierra, primera aplicación. Descartando los primeros dos datos, podemos decir que la figura formada por los tres restantes se asemeja mucho a una curva exponencial decreciente, por lo cual proponemos :

$$C_t(x) = C_t^0(x) e^{-x/L_e} \quad (1)$$

con lo cual estamos suponiendo que la concentración del insecticida decae exponencialmente conforme recorre el riachuelo (x = distancia desde el sitio de aplicación hasta el sitio en mención; Le = largo efectivo, o sea, el máximo que pueda alcanzar el insecticida antes de diluirse o ser absorbido completamente).

Integrando la ecuación anterior obtenemos la cantidad total de insecticida en ese intervalo de espacio, y el cual en nuestro caso es :

$$\begin{aligned} \int_0^L C_t(x) dx &= - Le C_t^o e^{-x/Le} \Big|_0^L \\ &= Le C_t^o (1 - e^{-L/Le}) \end{aligned}$$

donde L = distancia hasta cierto punto, a partir del sitio de aplicación. Ahora bien, la masa total de insecticida en el río se define entonces como :

$$\begin{aligned} M_R &= A \int_0^L C_t(x) dx \\ &= A Le C_t^o (1 - e^{-L/Le}) \quad (2) \end{aligned}$$

donde A = área del río hasta el sitio en cuestión

Para poder aplicar la ecuación anterior es necesario conocer Le . Una forma de obtener un valor para Le es calculando la relación entre dos sitios diferentes :

$$\frac{C_{t1}^o}{C_{t2}^o} = \frac{C_t(x1) e^{x1/Le}}{C_t(x2) e^{x2/Le}} \quad (3)$$

Pero como la concentración inicial debe ser la misma, $C_{t1}^o = C_{t2}^o$, y por lo tanto :

$$\begin{aligned} \frac{C_t(x1)}{C_t(x2)} e^{\frac{x1 - x2}{Le}} &= 1 \\ \ln \frac{C_t(x2)}{C_t(x1)} &= \frac{x1 - x2}{Le} \end{aligned}$$

y obtenemos entonces para Le :

$$Le = \frac{(x1 - x2)}{\ln (C_t(x2) / C_t(x1))} \quad (4)$$

Para poder aplicar la ecuación 2 hace falta conocer el valor de C_t^o .

Pero, $C_t^o = C_t(x) e^{x/Le} \quad (5)$

Calculando los valores de C_t^0 para los diferentes sitios, podemos obtener el promedio de $C_t^0 = \bar{C}_t^0$. Entonces podemos aplicar la ecuación 2 y obtener el valor de M_R . Además, podemos estimar el valor de M_0 , la cantidad inicial de insecticida agregada, suponiendo que $L \rightarrow \infty$. De la ecuación 2 obtenemos :

$$M_R = A L e \bar{C}_t^0 \quad (6)$$

Para realizar los cálculos de las ecuaciones anteriores es necesario conocer la concentración de insecticida detectada en las muestras de tierra, las distancias entre los diferentes sitios y el sitio de aplicación, y el ancho promedio del río. Estos valores los obtenemos de la sección de Resultados Generales y del Apéndice C. En el cuadro 14 se presentan estos valores .

Cuadro 14

Datos necesarios para calcular M_R .

Sitio	Distancia (1)	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$
1	93.6	1.216
2	177.2	1.418
3	268.4	1.060
4	352.0	0.942
5	452.0	-----

(1) Distancia entre el sitio de aplicación y el sitio mencionado (en metros).

Aplicando la ecuación 4 podemos calcular L_e :

$$L_{e_{13}} = \frac{93.6 - 268.4}{\ln(1.060/1.216)} = 1273 \text{ m}$$

$$L_{e_{14}} = \frac{93.6 - 352.0}{\ln(0.942/1.216)} = 1012 \text{ m}$$

$$L_{e_{23}} = \frac{177.2 - 268.4}{\ln(1.060/1.418)} = 313 \text{ m}$$

$$L_{e_{24}} = \frac{177.2 - 352.0}{\ln(0.942/1.418)} = 427 \text{ m}$$

$$L_{e_{34}} = \frac{268.4 - 352.0}{\ln(0.942/1.060)} = 708 \text{ m}$$

Promediando los valores anteriores, obtenemos :

$$\bar{L}_e = 746.9 \text{ m con una desviación estandar} = 400$$

Podemos entonces calcular C_t^0 según la ecuación 5 :

$$C_t^0 1 = 1.216 \times e^{93.6/746.9} = 1.378 \text{ } \mu\text{g Ab/cm}^2 \text{ tierra}$$

$$C_t^0 2 = 1.418 \times e^{177.2/746.9} = 1.798 \text{ " " "}$$

$$C_t^0 3 = 1.060 \times e^{268.4/746.9} = 1.518 \text{ " " "}$$

$$C_t^0 4 = 0.942 \times e^{352.0/746.9} = 1.509 \text{ " " "}$$

Promediando los valores anteriores obtenemos :

$$\bar{C}_t^0 = 1.551 \pm 0.17 \text{ } \mu\text{g Ab/ cm}^2 \text{ tierra}$$

Para calcular M_R^0 aplicamos la ecuación 6 :

$$M_R^0 = 2.50 \times (100)^2 \times 1.551 \times 746.9 = 28.9 \text{ gr de Abate}$$

Este valor es 3.5 veces mayor que la cantidad real agregada, con lo cual se demuestra que este modelo no es aplicable para calcular M_R^0 . Debido a que se conoce el valor real de M_R^0 (8.23 gr Abate), se puede calcular más exactamente el valor de M_R , aplicando la ecuación 2 :

para el sitio 4 ($x = 352.0 \text{ m}$)

$$M_R = 8.3 (1 - e^{-352.0/746.9}) = 3.12 \text{ gr Abate}$$

para el sitio 5 ($x = 452.0 \text{ m}$)

$$M_R = 8.3 (1 - e^{-452.0/746.9}) = 3.77 \text{ gr Abate}$$

De la sección de Propagación de Errores obtenemos :

$$M_{R 452.0} = 3.77 \pm 1.47 \text{ gr de Abate}$$

Para calcular la masa de insecticida que quedó atrapada en la materia orgánica, realizamos los siguientes cálculos :

	- % E	40 %	+ % E
$M_T =$	2.2	3.77	5.3
$M_A =$	0.5	0.97	1.4
	2.7		6.7

Entonces,

$$M_{mo} = 8.3 - 2.7 = 5.60 \text{ gr Abate máximo}$$

$$M_{mo} = 8.3 - 6.7 = 1.60 \text{ gr Abate mínimo}$$

M_T = masa de Abate en la tierra, M_A = masa de Abate en el agua,

M_{mo} = masa de Abate en la materia orgánica

Tomando el valor promedio de M_{mo} obtenemos :

$$M_{mo} = 3.6 \pm 2 \text{ gr de Abate}$$

Haciendo un balance de pesticida obtenemos los resultados presentados en el cuadro 15.

Cuadro 15

Balance de Pesticida (Abate)

$M_A =$	0.90	\pm	0.4	gr Abate
$M_T =$	3.77	\pm	1.6	" "
$M_{mo} =$	3.60	\pm	2.0	" "
$M_{tot} =$	8.27	\pm	4.0	" "

Este valor (8.27 gr de Abate) es muy parecido a la cantidad real agregada (8.23 gr de Abate), con lo cual se deduce que el modelo matemático empleado es aplicable para calcular el balance de pesticida cuando se tiene un río como el mencionado en este trabajo, bajo las condiciones trabajadas, aunque la incertidumbre sea grande (8.27 \pm 4.0 gr de Abate).

VIII. RECOMENDACIONES

En la siguiente sección se presentan algunas recomendaciones para trabajos futuros, relacionados con el presente estudio.

El día 6/XI/79, o sea un día después de la segunda aplicación, se hicieron mediciones de tres ríos más pequeños, localizados a 150 metros aproximadamente del caserío en dirección sur (ver mapa de la finca). El propósito era el de agregar insecticida en los tres ríos con concentraciones similares a la primera aplicación, y luego observar los resultados al hacer aplicaciones en riachuelos de este tamaño.

Los ríos estudiados fueron Chorro-Montaña, Guineo-Andes y Bolsita. Las mediciones del caudal realizadas fueron del mismo tipo que en Pie Cumbre, y resultaron ser : 0.014, 0.003 y 0.006 m³/seg respectivamente, comparados con 0.1490 m³/seg medidos en Pie Cumbre. En base a estos datos se calculó la cantidad necesaria para agregar 0.1 ppm durante 10 min, y se vertió en cada río, cerca de su nacimiento. En el río Chorro-Montaña se hizo la aplicación en tres puntos diferentes, ya que son tres riachuelos los que forman este río. A los tres días de la aplicación, el Sr. R. Bell, co-dueño de la finca, observó que las larvas, o no habían muerto, o habían vuelto a repoblar los ríos, principalmente el río Chorro-Montaña. Sólo en los lugares muy cercanos al sitio de aplicación no había encontrado muchas larvas. A los ocho días de la primera aplicación se repitió el experimento con una concentración de 1 ppm durante 10 min, en los tres ríos. Otra vez a los tres días el Sr. Bell observó que en el río Chorro-Montaña la cantidad de larvas había disminuido cerca del lugar de aplicación, no así en puntos más lejanos de 100 - 150 m. En los otros dos riachuelos sí había sido efectivo el tratamiento.

Fue entonces cuando estudiamos más detenidamente los ríos, y nos dimos cuenta que hay una gran diferencia entre éstos y el río Pie Cumbre: el lecho de éste es mucho más pedregozo que los otros, y hay mucho más materia orgánica en contacto con el agua en los tres más pequeños. Según Chiou et al. (27) la materia orgánica del suelo es la que mayor cantidad de sustancias orgánicas atrapa, tales como insecticidas, en su mayoría debido a un proceso de partición. Sería conveniente entonces realizar una aplicación de insecticida en riachuelos de este tipo y tamaño, analizando tanto muestras acuosas como materia orgánica presente, la que puede ser sólo de tierra, o también ramas y hojas del lecho del río.

Otro trabajo que proveería información muy valiosa sería el hacer aplicaciones de insecticida en un mismo río durante un período largo. Esto puede proveer datos muy importantes acerca de la periodicidad con que se necesita hacer una aplicación para mantener un nivel de larvas muy bajo, si no completamente nulo. Debido a que se piensa llevar a cabo este proyecto a un nivel mucho mayor, si no a nivel nacional, es importante también tener en cuenta el factor económico, ya que al finquero le interesa erradicar las larvas, pero pensando en gastar la menor cantidad de dinero posible. Por lo tanto, sería interesante observar si el nivel de aplicación propuesto en la sección de Discusión, agregando insecticida cada tres semanas, es suficiente o no para erradicar las larvas durante un período de tiempo mucho más largo. Se tiene que tener en cuenta que las cantidades a agregarse en una finca, son grandes debido a la gran cantidad de ríos y riachuelos existentes en la región. Otro dato interesante que se podría obtener de este experimento es la resistencia creada por estas larvas al insecticida, aunque en los años que se lleva aplicando en Africa no se ha visto que aparezca este fenómeno.

Un proyecto que involucraría un estudio un poco diferente sería el de agregar una cantidad de insecticida mucho mayor que las empleadas en el presente trabajo, por lo menos una vez, para observar los efectos del insecticida sobre los organismos deseados (target), que en este caso serían las larvas de Simulium, y sobre los organismos no deseados (non-target) que serían otro tipo de larvas. Esto es importante para ver el comportamiento de los no deseados con respecto al insecticida, al igual que las larvas de Simulium. En este caso se tienen que hacer colecciones de larvas, muertas o vivas, con redes de cierto tamaño, colocadas a distancias prudenciales río abajo. Jamnback & Frempong-Boadu (14) realizaron un experimento de este tipo en los E.E.U.U., en el cual hicieron experimentos tanto en el campo como en el laboratorio, utilizando concentraciones de 0.04, 0.4 y 4.0 ppm de Abate, Dursbán y Metoxy-cloro. En este experimento determinaron que también los solventes de las formulaciones del insecticida causaban un desprendimiento de larvas, aunque en mucho menor grado que el insecticida.

Otro proyecto muy interesante en este tipo de experimentos es el observar el efecto del insecticida sobre las larvas a mayores distancias del sitio de aplicación. Esto se puede hacer tanto para organismos target como para non-target, al igual que un estudio acerca del desprendimiento de larvas arrastradas, cantidades encontradas muertas, etc. Jamnback & Frempong-Boadu (14) mencionan intervalos de 400 - 1500 m, ya

que a mayores distancias hicieron re-aplicaciones del pesticida.

Wallace et al. (10) trabajaron en el Canadá, haciendo aplicaciones en varios ríos. A lo largo de los ríos habían determinado 4 estaciones de muestreo, a un intervalo de 402 m cada una, lo cual implica un largo total de estudio de por lo menos 1206 m. En el trabajo se puso especial énfasis en la recolección de larvas, y no en el análisis del agua.

En el presente caso se podría realizar un estudio sencillo parecido, analizando entonces la concentración del insecticida a esas distancias, lo cual proveería de mayor información acerca de la pérdida del mismo, ya fuera por partición en la tierra o por absorción de la misma. A la vez se estudiaría el arrastre de larvas, al igual que el efecto sobre las mismas a esa distancia. Esto estaría paralelamente ligado al tema de repoblación larval del río.

Un proyecto del CDC que desgraciadamente ya no se llevó a cabo pretendía estudiar la preferencia de las larvas con respecto a diferentes sustratos artificiales, tales como plástico, planchas de metales, o de fibra de vidrio. Estos datos podrían haber sido de mucha utilidad para un conteo mejor de larvas, ya que se podría colocar varios sustratos del mismo tipo de un tamaño uniforme a cierta distancia entre sí, con lo cual se evitaría el problema de buscar hojas con larvas, lo cual se hace dentro de una cierta distancia pero es demasiado al azar para tener un dato confiable.

IX. APENDICES

En la siguiente sección se presentan los diferentes apéndices mencionados en las secciones anteriores, los cuales son :

- A Compuestos Organofosforados
- B Información general sobre Abate
- C (1) Resultados de los Análisis Cromatográficos de todas las Muestras Analizadas
- C (2) Resultados de la Primera Aplicación (Análisis realizado en los E.E.U.U)
- D Ejemplo del Cálculo de Concentraciones
- E Propagación de Errores
- F Tiempos de Retención de las diferentes Columnas

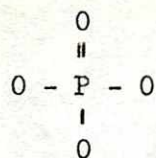
A. Compuestos Organofosforados

Bajo esta clasificación se pueden nombrar una gran cantidad de compuestos. Se estima que en 1959 se habían sintetizado unos 50.000 diferentes, y con una producción mensual de no menos de un compuesto nuevo (46).

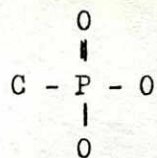
El descubrimiento de la acción insecticida de muchos compuestos se debe a la segunda guerra mundial, y en particular a Alemania. Es éste uno de los pocos casos en que algo tan negativo trajo como consecuencia inmediata algo tan positivo. Lo que realmente buscaban en aquel entonces eran sustancias que atacaran los nervios principalmente, y de las cuales se conocen el tabun, sarin, y seman. Se le debe a Schrader (46) el haber descubierto la aplicación de estos compuestos a la agricultura.

La primera preparación industrial que se utilizó en Alemania fue Bladán, cuya actividad se debe a su contenido en 'tepp'. En 1944 se introdujo el parathión, y que junto con su homólogo, el metilparathión, son unos de los organofosforados más utilizados en la actualidad.

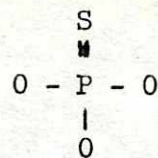
Generalmente se le denomina a un compuesto organofosforado cuando es un compuesto orgánico tóxico que contiene al menos un átomo de fósforo. Luego se nombra de acuerdo a los sustituyentes en este átomo. Para ejemplificación, tenemos los siguientes compuestos :



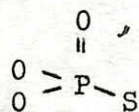
fosfato



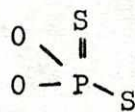
fosfonato



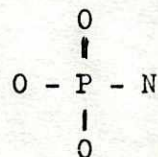
fosfotionato



fosfotiolato



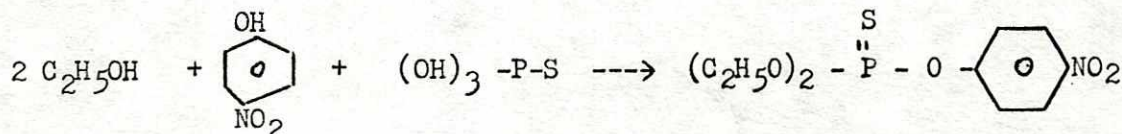
fosfoditiolato



fosfoamidato

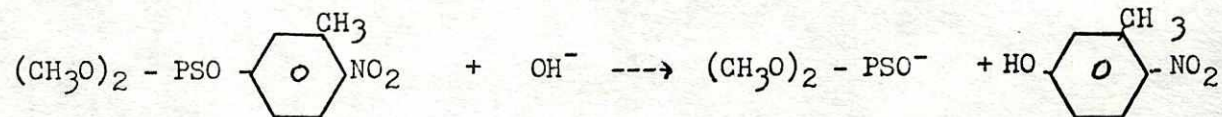
Como se puede apreciar, existe una gran variedad de estos compuestos, dependiendo de los sustituyentes que tenga el fósforo.

También se puede pensar en los organofosforados como ésteres, con un ácido fosfórico, o como anhídridos de un ácido fosfórico con algún otro ácido. Para clarificar lo anterior, el parathión sería un éster del ácido $(\text{HO})_3 - \text{P} - \text{S}$ con dos moléculas de etanol y una de p-nitrofenol :



Algunas reacciones no enzimáticas deben mencionarse para entender la bioquímica envuelta con estos compuestos, y entre las cuales sobresalen la hidrólisis y la isomerización, ya que ambas alteran las propiedades biológicas (47).

Todos los organofosforados se pueden hidrolizar, y a una velocidad directamente proporcional a su alcalinidad, como por ejemplo:



aunque lo más importante de notar en las reacciones de hidrólisis es el mecanismo de reacción. En el ejemplo anterior, el mecanismo empieza por el ataque del OH^- al fósforo, lo cual representa un ataque de tipo nucleofílico. Mientras más positivo sea el punto de ataque, o sea, el fósforo, más efectivo será el ataque mismo. Entonces es posible deducir que la velocidad de hidrólisis está determinada por las propiedades de los grupos unidos al fósforo (46). Si éste tiene grupos electrofílicos co-

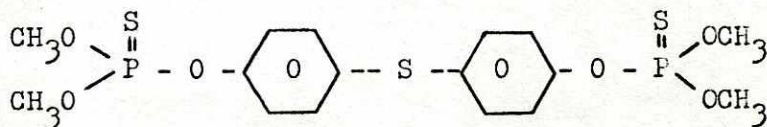
Otro factor que influye en la velocidad de reacción de los organofosforados es el impedimento estérico al ataque del fósforo, aunque no es muy limitante cuando se trata de iones hidroxilo. Pero sí es de suma importancia cuando se hacen reacciones con proteínas, o sea, enzimas.

Como se había mencionado anteriormente, otro factor de suma importancia es la isomerización. En muchos casos han habido malentendidos por este factor, ya que muchos compuestos realmente no son siquiera tóxicos, pero tienen uno o más isómeros, los cuales resultan ser muy tóxicos. Se puede mencionar por ejemplo los fosfotioatos, como muchos otros organofosforados. Estos son producidos a muy altas temperaturas, con lo cual es factible que se produzcan isómeros fácilmente. Y son éstos los responsables por malos olores, o por la actividad anticolinesterasa, o por la rápida hidrolización de los compuestos. Otro ejemplo de los isómeros es el BHC, o lindano, del cual se conocen cinco isómeros, y de los cuales el que se toma como insecticida es el isómero gamma (44).

B. Abate. Información general.

Los nombres comunes del Abate son : Temephos, o Difenphos, mientras que la OMS lo cataloga bajo el número 786 (22). El nombre de Abate pertenece a una casa comercial estadounidense, específicamente a la American Cyanamid Co.

El uso de este compuesto es exclusivamente como insecticida, y su nombre químico es : 0,0,0',0' - tetrametil 0,0' - tiodi - p-fenilenofosfotioato ó 0,0 (tiodi - 4,1 fenileno) - bis (0,0 - dimetilfosforotioato) (22), y tiene una fórmula estructural :



Abate

Está catalogado como un insecticida organofosforado de baja toxicidad, y es ampliamente usado como larvicida de moscas y mosquitos. Es un compuesto no sistemático, y tiene poca actividad residual, y su actividad se manifiesta en el metabolismo, según se ha podido comprobar en estudios realizados por/para OMS (22).

En su forma pura es un sólido cristalino blanco, con un punto de fusión de 30-30.5 °C, mientras que el producto técnico es un líquido café

bastante viscoso. Es prácticamente insoluble en agua a 20 °C (menos de 1 ppm), pero es muy soluble en acetona, acetonitrilo, éter, y en la mayoría de solventes aromáticos y clorados, y es casi insoluble en n-hexano. Tiene una presión de vapor de 7.17×10^{-8} mm Hg a 25 °C, y es moderadamente estable a una hidrólisis en contacto con álcalis acuosos. No se observa hidrólisis alguna a un pH 8, cuando se deja varias semanas a temperatura ambiente, o a un pH 11 a 40 °C durante varias horas (22).

En el comercio se puede adquirir como polvo humectable al 50 %, concentrado emulsificable al 20 o 50 %, y como un producto granulado al 1 %. Definitivamente su empleo es exclusivo para la agricultura, no para uso doméstico. Es específico para combatir los mosquitos, aunque también se puede emplear para combatir la mosca negra, mosca de arena, piojos, y muchos insectos más (22). La aplicación promedio es de 0.1 - 0.5 kg/ha para combatir mosquitos.

Toxicología : el modo de acción del Abate es la inhibición de la acetilcolinesterasa, y el producto de excreción en las heces fecales es el mismo compuesto, con algunos subproductos debidos a una pequeña hidrólisis. En la orina se encuentran trazas de Abate nada más, y los mayores productos de excreción en la orina son ésteres conjugados de la hidrólisis fenólica (22).

La toxicidad de este compuesto es bastante baja, como se puede apreciar en el siguiente cuadro (cuadro 16):

Cuadro 16 (22)

Toxicidad de Abate, aplicado en dosis única.

oral :	LD ₅₀	ratas (m)	8600 mg/kg
		ratas (f)	1300 mg/kg
dermal :	LD ₅₀	ratas (m) = ratas (f)	4000 mg/kg
		conejos	1300 - 1400 mg/kg

Existen algunos estudios sobre toxicidad con dosis repetidas, con ratas, conejos, y cerdos, los cuales han sido realizados por el Organismo Mundial de la Salud (OMS), aunque también varios investigadores han hecho ciertas investigaciones al respecto (35), (24).

Por acuerdo internacional, el LD₅₀ se define como la dosis que ocasiona la muerte del 50 % de una población experimental. Las dimensionales de mg/kg hacen referencia a los mg de pesticida inyectados o administrados, por kg de peso del animal.

APENDICE C (1)

En este apéndice se presentan los datos obtenidos en el análisis cromatográfico de todas las muestras analizadas.

La primera parte se refiere a los análisis de las muestras de la primera aplicación. La segunda parte se refiere a los análisis de las muestras de la segunda aplicación. Y en la tercera parte se presentan los valores obtenidos para las Pruebas de Laboratorio.

PRIMERA APLICACION

							(1)
MUESTRA	μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm	
13/XI/79	#2	2.85	26.05				
			24.30				
			23.60	24.650	1.262		
		2.9	27.60				
			22.75				
			23.50				
			23.65				
		22.70	24.040	2.036			
M 0-1	2.9	24.25					
		32.25	28.250	5.657	7.379	0.085	
		2.95	26.10			6.817	0.077
M 0-2	4.9	20.65					
		25.50					
		25.70					
		25.35	24.293	2.433	6.345	0.043	
M 0-3	4.9	28.85					
		28.35					
		28.30	28.500	0.304	7.444	0.051	
M 0-4	2.9	15.80			4.127	0.047	
		4.9	20.50				
		21.09	20.795	0.417	5.432	0.037	
M 0-5	4.8	29.49					
		32.55	31.020	2.164	8.103	0.056	
		4.9	29.50			7.706	0.052
M 0-6	4.9	32.95					
		33.90	33.425	0.672	8.731	0.059	
		5.0	38.80			10.135	0.068

		MUESTRA	μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm (1)	
13/XI/79	M 1-2	0.6*	53.05				13.857	0.770*	
	M 1-3	2.8	39.55				10.331	0.123	
		2.7	31.60				8.254	0.102	
		1.8	22.20				5.799	0.107	
	M 1-4	2.8	17.60				4.597	0.055	
		2.9	20.75						
			20.65	20.700	0.071		5.467	0.062	
	M 1-5	2.9	8.60				2.246	0.026	
		6.95	8.20				2.142	0.010	
		7.6	23.20				6.060	0.027	
		8.0	11.05				2.886	0.012	
	#2	2.9	21.40						
			24.80						
			25.45	23.883	2.175				
26/XI/79	#2	3.0	55.50						
			46.40	50.950	6.435				
		2.9	51.80						
		2.4	41.85						
	M 2-1	2.35	37.25						
			33.75						
			42.70	37.900	4.510				
		2.9	0						
M 2-2	5.9	0							
	9.5	0				0	0 (2)		
	3.8	30.10				4.158	0.036		
M 2-3	4.2	27.15				3.856	0.031		
	4.3	25.35							
		26.25	25.800	0.636		3.717	0.029		
M 2-3	1.8	87.40				10.037	0.186		
	1.4	81.95				9.477	0.226		
	1.35	86.75				9.970	0.246		

							(1)
MUESTRA	μl	ALTURA	X	S	ng iny	ppm	
26/XI/79	M 2-5	2.75	0.5			1.122	0.014
		8.8	1.0			1.173	0.004
		9.8	1.25			1.199	0.004
M 2-6		3.85	5.45			1.630	0.014
		6.0	8.40				
			9.70	9.050	0.919	1.999	0.011
M 3-1	8.0	0					
		0	0		0	0	
#2		3.0	47.40				
			53.90	50.650	4.596		
		3.05	52.85				
M 3-2		3.0	41.10				
			43.10	42.100	1.414	3.520	0.039
M 3-4		2.95	4.80			0.617	0.007
		6.95	7.80			0.850	0.004
		8.0	8.65				
			8.45	8.550	0.141	0.907	0.004
M 3-5		6.95	1.45			0.356	0.002
		7.0	1.10			0.329	0.002
M 3-6		7.0	0				
			0	0		0	0
M 4-1		7.0	0			0	0
		9.1	0			0	0
M 4-2		8.0	0				
			0	0		0	0
M 4-3		7.0	20.65			1.851	0.009
		8.0	21.10			1.886	0.008
		8.1	20.95			1.874	0.008
M 4-4		8.0	5.10			0.640	0.003
		9.0	5.45				
			5.55	5.50	0.071	0.671	0.002

MUESTRA		μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm (1)	
26/XI/79	M 4-6	9.0	2.25	2.300	0.050	0.422	0.002	
			2.35					
			2.30					
	#2	3.05	59.95	41.275	2.440			
		3.0	60.35					
		2.95	62.90					
		1.7	44.05					
1.6		39.55						
27/XI/79	#2	3.05	44.20	53.325	9.401			
			3.0					51.65
								43.70
								41.15
								58.65
								60.80
	M 5-1	7.0	0	64.00	21.967	1.279		
				44.55				
				22.55				
				22.85				
				20.50				
				19.35				
M 5-1	8.05	5.05		5.125	1.662	0	0	
			8.0			6.30	1.826	0.008
						3.95	1.835	0.008
M 5-2	8.0	0	0	0		0	0	
			0					
			0					
M 5-3	8.0	1.45		1.975	0.742	0	0	
						2.50	1.494	0.006
						9.0	1.491	0.006
M 5-4	8.0	6.15		6.000	0.132	0	0	
						5.95	1.929	0.008
						5.90		

	MUESTRA	μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm (1)	
27/XI/79	M 5-5	4.0	53.80					
			57.75					
			58.95	56.833	2.695	7.430	0.062	
	M 5-6	8.0	9.20					
			10.25					
			9.00	9.483	0.671	2.306	0.010	
	M 6-1	8.0	0			0	0	
		9.0	0			0	0	
	M 6-2	7.0	37.40					
			35.90					
			35.10	36.133	1.168	5.190	0.025	
	M 6-3	1.55	73.00			9.179	0.197	
		0.90	42.90			5.922	0.219	
	M 6-4	2.6	40.00					
			41.45	40.725	1.025	5.687	0.073	
			2.65	42.80			5.911	0.074
	M 6-5	8.0	2.25			1.523	0.006	
			9.0	2.20				
			2.60	2.400	0.283	1.540	0.006	
	M 6-6	9.0	0			0	0	
		10.0	0			0	0	
	M 7-2	9.0	0					
			0	0			0	0
	ST. 1	6.95	38.75			5.473		
			7.0	45.30			6.182	
			7.05	43.05			5.938	
	S-S-2	9.0	0			0	0	
		10.0	0			0	0	
	S-S-3	9.0	0					
			0	0			0	0
	S-S-4	9.0	0					
			9.05	0			0	0

	MUESTRA	μl	ALTURA	ng iny	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	X	S
27/XI/79	A-0-0	10.0	1.35				
			1.60				
			1.85	0.959	0.925	1.049	0.175
	A-0-2	10.0	6.00				
			6.85				
			5.40	1.216	1.173		
	A-1-1	9.0	4.45				
			4.65				
			4.90	1.134	1.216		
	A-2-1	9.0	9.35	1.404	1.505		
			9.05	7.40			
			5.90	1.248	1.331	1.418	0.123
	A3-1	9.0	2.95	1.037	1.112		
			10.0	3.40			
			2.80	1.045	1.008	1.060	0.074
A-4-1	10.0	0		0*			
A-4-2	9.0	1.20	0.935	1.003			
		9.7	0.95	0.920	0.915		
		9.85	1.05	0.927	0.908	0.942	0.053
# 3	9.0	0.80					
		1.35	3.966				
# 2	2.75	86.05					
		2.8	90.70				

(1) ppm = $\mu\text{g Abate}/\text{ml solución}$

(2) concentración = 0 \Rightarrow menor que concentración mínima detectable.

* inyección única

SEGUNDA APLICACION

MUESTRA	μl	ALTURA	X	S	ng iny	ppm
26/XII/79 #2	2.0	33.35				
		33.25	33.300	0.071		
	3.05	51.65				
		57.45	54.550	4.101		
	4.0	87.75				
		82.00	84.875	4.066		
K 0-1	4.05	81.00				
	0.15	46.70			5.617	1.248
	0.10	0			0	0
	0.20	1.30			1.804	0.311
K 0-2	0.11	19.50			3.369	1.021
	1.8	0			0	0
	3.1	0			0	0
K 0-3	6.0	1.4			1.872	0.010
	5.8	1.7			1.897	0.013
	6.0	4.3			2.112	0.014
K 1-1	6.1	0.4			1.790	0.012
	4.0	0.8			1.823	0.015
	7.0	1.25			1.860	0.009
K 1-3	6.9	2.80			1.988	0.010
	7.0	2.90				
		1.80	2.350	0.778	1.951	0.009
K 1-6	6.8*	0			0	0* (2)
K 2-1	6.9	4.15			2.100	0.010
	7.0	2.50				
		3.50	3.000	0.707	2.005	0.010
K 2-5	6.4	0*			0	0* (3)
#1	3.0	100				
	1.1	37.15			4.828*	

MUESTRA	μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm		
26/XII/79	K 3-2	7.0	4.20			2.104	0.010	
		7.05	5.25			2.191	0.010	
		7.1	5.05			2.174	0.010	
	#2	3.0	61.25					
			81.20	71.225	14.107			
27/XII/79	#1	1.3	31.10					
			36.20					
			28.60	31.967	3.873			
	#2	3.0	42.40					
			62.10					
			57.75					
			72.00					
			84.50	63.750	15.757			
	#1	1.3	37.70					
	K 4-1	6.95	0.6			11.817	0.057	
			4.0	0		0	0	
K 4-2	7.1	0.50*			11.765	0.055*		
K 4-3	7.1	0*			0	0*		
28/XII/79	#1	1.3	15.20					
			18.35	16.775	2.227			
	#2	3.0	62.00					
			60.45					
			76.90					
		69.50	67.213	7.571				
#1	1.5	33.85						
		36.40						
		50.05						
			35.30	38.900	7.506			
	2.3		56.90					
			67.00					
		57.75	60.550	5.602				

	MUESTRA	μl	ALTURA	X	S	ng iny	ppm
28/XII/79	K 4-4	7.0	0				
			0	0		0	0
	K 4-5	7.0	0				
			0	0		0	0
	K 4-6	7.0	0*				
			0*			0	0*
	K 5-4	7.0	0*				
			0*			0	0*
	K-A-0	7.0	0				
			0	0		0	0 (3)
K-A-1	7.0	0*					
		0*			0	0*	
K-A-B	7.0	0*					
		0*			0	0*	
K 1-2	5.8	68.10				55.706	0.320
		6.0	82.40			67.120	0.373
		6.1	66.10			54.110	0.296
		7.1	71.38			58.324	0.274
K 1-4	6.9	0				0	0 (3)
		7.1	0			0	0 (3)
K 1-5	7.0	0*				0	0* (3)
		0*				0	0* (3)
K 2-2	6.9	2.30				3.188	0.015
		7.05	1.60			2.629	0.012
K 2-6	7.1	0*				0	0*
		0*				0	0*
#1	2.3	42.60					
		44.50	43.550		1.344		
2/I/80	#1	1.5	32.60				
			43.95				
			35.45				
			35.30				
			37.75	37.010		4.287	
			1.55	34.75			
1.9	48.90	48.90					
		48.95	48.925		0.035		

	MUESTRA	μ l	ALTURA	X	S	ng iny	ppm
2/I/80	#1	2.3	58.55 68.80 61.50	62.283	4.180		
	K 2-3	7.0	0*			0	0*
	K 2-4	7.2	0 0	0		0	0
	K 3-1	7.0	0.65*			7.740	0.037*
	K 3-3	7.0	0*			0	0*
	K 3-4	7.0	0*			0	0*
	K 3-5	7.0	0*			0	0*
	K 3-6	7.1	0			0	0
		7.3	0			0	0
	K 5-1	7.0	0			0	0
		7.1	0			0	0
	K 5-2	7.0	0*			0	0*
	K 5-3	7.0	0*			0	0*
	K 5-5	7.1	1.0			7.979	0.037
		7.3	0.8			7.843	0.036
	K 5-6	7.1	0*			0	0*
	M 5-5	6.1	6.15			11.497	0.063
		6.15	7.95			12.726	0.069
	#1	2.3	48.50 42.45 47.85 38.30 49.20	45.260	4.719		

(1) ppm = μ g Abate/ ml solución

(2) Concentración = 0 \implies menor que concentración mínima detectable

(3) Muestra evaporada llevada a volumen inicial

* Inyección única

PRUEBAS DE LABORATORIO

	MUESTRA	μl	ALTURA	X	S	ng iny	ppm (1)	
20/II/80	#1	1.4	43.80					
		1.5	41.50					
			25.90	33.700	11.031			
	#2 N	1.8	1.95 *			16.866	9.370 *	
	#1 N	1.6	82.15 *			51.402	32.126 *	
	# 1	1.9	58.10					
			55.50	56.800	1.838			
		1.1	13.30					
			20.60	16.950	5.162			
		1.05	16.45					
jeringa nueva	1.8	68.40						
		68.11						
		47.00						
		86.35	67.465	16.091				
	1.15	37.90						
		37.65	37.775	0.177				
0.085/1	4.1	0				0	0 (2)	
	5.1	0				0	0	
0.085/2	5.1	0				0	0	
	6.4	0				0	0	
0.197	6.1	1.10						
		0.55	0.825	0.389	7.495	0.040		
K 1-5	5.2	0 *				0	0 *	
K 1-4	4.1	0 *				0	0 *	
M 2-3	4.1	68.35				39.565	0.322	
	4.15	70.95				40.800	0.328	
#1	2.1	50.50						
		63.55	57.025	9.228				
	1.55	66.10						
		40.10						
		57.45	54.550	13.240				

MUESTRA	μ l	ALTURA	ng iny	μ g Abate	
27/II/80	#1	1.7	80.45		
		1.75	84.30		
		1.8	87.48		
		1.15	41.45		
	0.985 g CT	5.15	1.10	12.569	24.404
		6.15	1.20	12.599	20.486
	0.985 g ST	5.1	1.85	12.797	25.092
		5.2	1.20	12.599	24.229
	0.985 f CT	5.2	1.53	12.698	24.419
	0.985 f ST	5.1	1.83	12.789	25.076
	agua g ST	5.1	26.15	20.186	0.128 ⁽³⁾
		5.2	28.90	21.022	0.130
	agua f CT	5.1	25.10	19.867	0.126 ⁽³⁾
		5.15	26.85	20.399	0.128
19.7	5.1	12.350	15.990	0.105 ⁽³⁾	
21.2	5.2	16.65	17.297	0.111 ⁽³⁾	
27/II/80	#1	1.15	27.517		
		1.75	64.20		
		1.8	61.85		
	#2 N	4.1	7.95	17.520	4.273 ⁽³⁾
	#1 N	0.95	37.55	28.692	30.202 ⁽³⁾
		0.90	28.45	25.257	28.064
	0.197				
	agua	5.2	0.45		
			0.90	14.774	0.219 ⁽³⁾

(1) ppm = μ g Abate/ml solución

(2) concentración = 0 \Rightarrow menor que concentración mínima detectable

(3) valores dados en ppm

* inyección única.

PRIMERA APLICACION (Datos de E.E.U.U.) (1)

MUESTRA	ppm	MUESTRA	ppm	MUESTRA	ppm
M 0-1	0.020	M 3-1	0	M 6-1	0.001
M 0-2	0.003	M 3-2	0.065	M 6-2	0.034
M 0-3	0.036	M 3-3	0.085	M 6-3	0.145
M 0-4	0.010	M 3-4	0.020	M 6-4	0.006
M 0-5	0.014	M 3-5	0.005	M 6-5	0.005
M 0-6	0	M 3-6	0.005	M 6-6	0.003
M 1-1	0.002	M 4-1	0.002		
M 1-2	0.896	M 4-2	0.002		
M 1-3	0.022	M 4-3	0.044		
M 1-4	0.001	M 4-4	0.025		
M 1-5	0	M 4-5	0.004		
M 1-6	0	M 4-6	0.003		
M 2-1	0	M 5-1	0		
M 2-2	0.017	M 5-2	0		
M 2-3	0.213	M 5-3	0		
M 2-4	0.002	M 5-4	0.003		
M 2-5	0.001	M 5-5	0.021		
M 2-6	0	M 5-6	0.010		

(1) Datos recibidos de Atlanta, Georgia, por parte del Dr. J. Miles, en carta fechada el 15 de abril de 1980.

APENDICE D

Ejemplo del cálculo realizado para obtener el valor de Concentración .

Para ejemplificar el procedimiento empleado en la obtención de las concentraciones de las muestras (dadas en el Apéndice C), se presenta el caso para la muestra M 1-2.

Se inyectaron $0.6 \mu\text{l} \pm 0.025$ de la muestra extraída.

La respuesta obtenida fue de 53.05 ± 0.05 unidades.

En la curva de calibración correspondiente (a1) se calcula la cantidad inyectada, en ng.

13.86 ng , lo cual implica que se inyectaron

23.10 ng Abate / μl inyección

La extracción se llevó a cabo con 10 ml de n-hexano, y el volumen final de la muestra fue de 300 ml. Por lo tanto podemos calcular la cantidad de Abate en la solución total :

$$23.10 \frac{\text{ng Ab}}{\mu\text{l iny}} \times \frac{10 \text{ ml solv}}{300 \text{ ml solu.}} = 0.770 \text{ ng Abate / ml solución}$$

La propagación de errores se presenta en el Apéndice E.

APENDICE E

PROPAGACION DE ERRORES

MUESTRA	$\mu l_m (\pm .025)$	INCERTIDUMBRES (%)		DA.UN.	TOTAL
		ALTURA _m	$\mu l_s + ALT_s$		
M 1-2	1.5	0.09	4.67	3.1	9.36
M 2-3	1.79	9.77	6.48	3.1	21.14
M 3-2	0.83	2.38	3.74	3.1	6.95
M 4-3	0.31	1.94	3.74	3.1	5.99
M 5-5	0.63	5.33	3.70	3.1	9.66
M 6-3	1.61	12.10	3.70	3.1	17.41
					X = 11.75
					S = 6.11
M 1-5	0.36	9.76	4.67	3.1	14.79
M 2-5	0.28	12.00	6.48	3.1	18.76
M 3-5	0.36	24.80	3.74	3.1	28.93
M 4-6	0.28	2.17	3.74	3.1	6.19
M 5-4	0.28	11.70	3.70	3.1	15.68
M 6-5	0.31	2.20	3.70	3.1	6.21
					X = 15.0
					S = 8.5

Los subíndices m significan datos de muestra

Los subíndices s significan datos de estadares

DA.UN. significa dato promedio para el volumen de afore, la extracción, y para la preparación del estandar.

APENDICE F

Tiempos de retención de las diferentes columnas empleadas.

	2"		22.5"		21.0"	
	(min)		(min)		(min)	
	sol.	Ab.	sol.	Ab.	sol.	Ab.
	0.11	0.53	0.07	2.11	0.08	2.17
	0.11	0.52	0.07	2.11	0.10	2.36
	0.11	0.56	0.07	1.96	0.10	2.33
	0.10	0.57			0.10	2.33
	0.11	0.57			0.10	2.33
X	0.11	0.55	0.07	2.06	0.10	2.30
S	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.08

sol. = solvente

Ab. = Abate

X = promedio

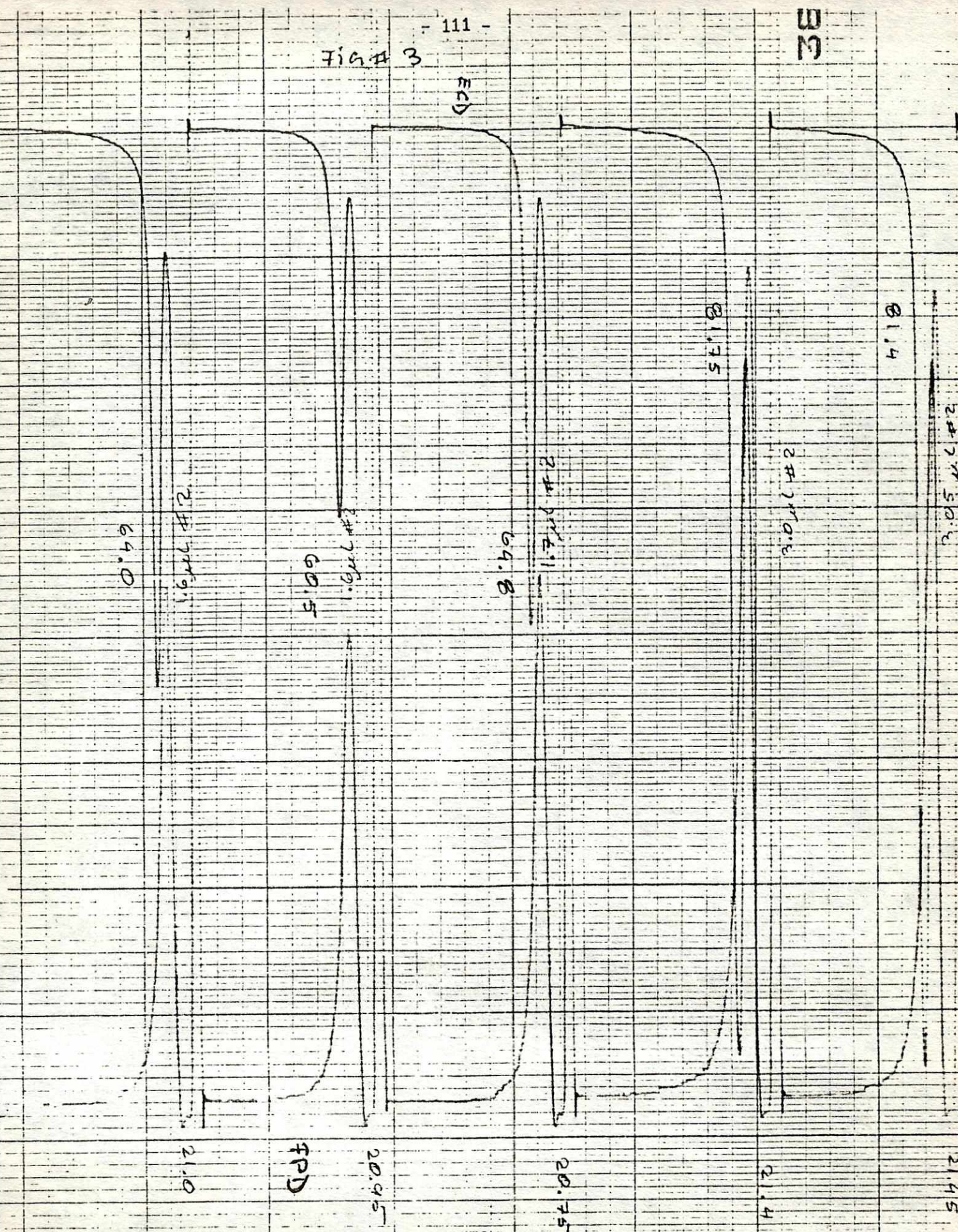
S = desviación estandar.

Los datos anteriores se refieren a promedios obtenidos en los diferentes análisis, y proceden del integrador HP 3380 A.

BE

Fig 3

ECD



FPD

21.45

21.4

20.75

20.95

21.0

2# 21.50

81.4

2# 21.0

51.75

2# 21.1

64.8

2# 21.9

60.5

2# 21.9

64.0

FIG # 4

EAD

2.0 1.7 0.2

2# 1102

43.8

2# 1102

44.05

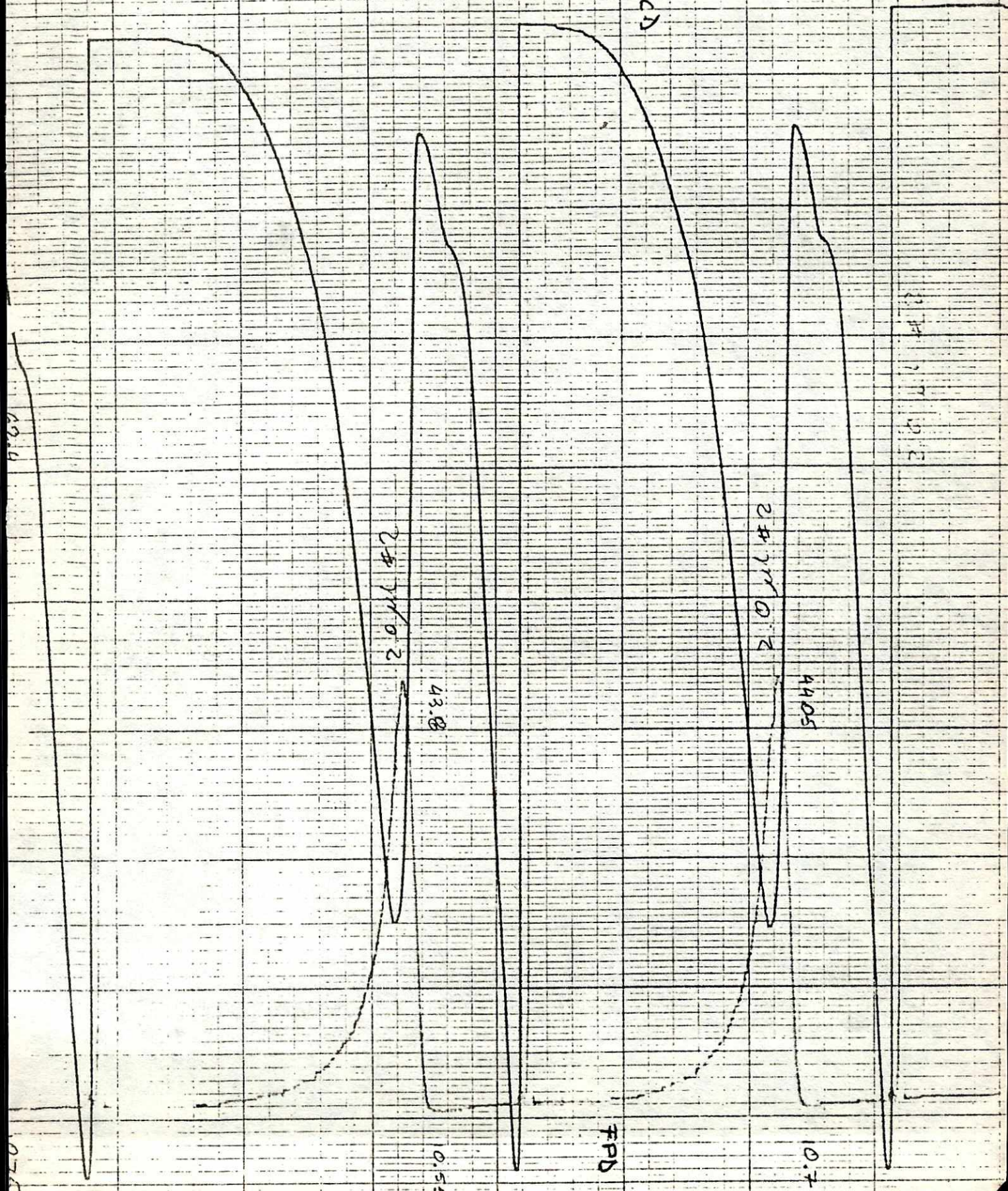
FAD

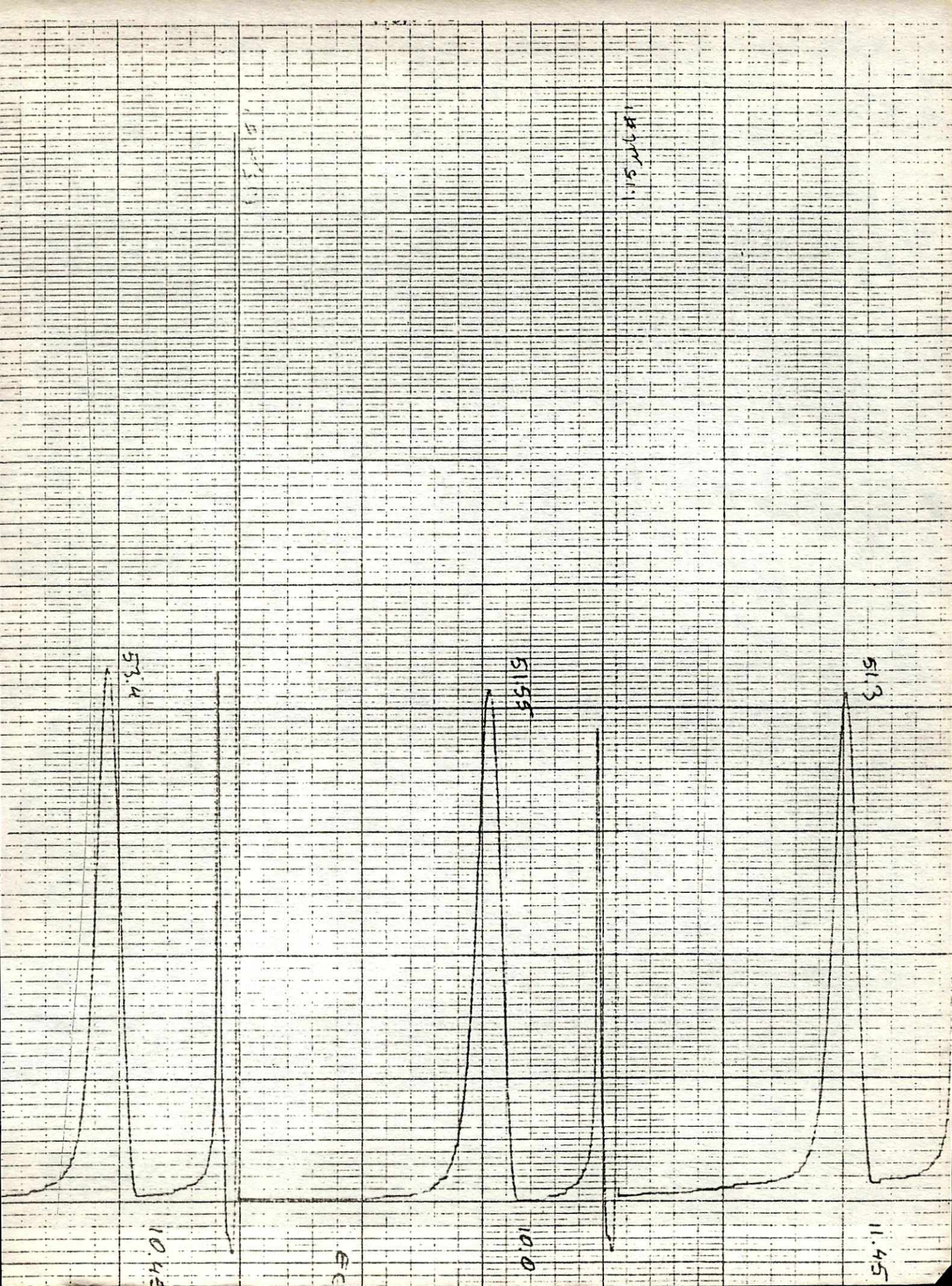
0.55

0.7

0.2

0.2





X. BIBLIOGRAFIA

- 1) Enfermedad de Robles;(1963). Academia de Ciencias Médicas, Físicas y Naturales. Ed. Universitaria, Guatemala.
- 2) Dr. E. Figueroa, según comunicación personal del Dr. R. Collins
- 3) DALE, W.E & MILES, J.W. (1969). Gas Chromatographic Determination of Abate using FPD and ECD; J.AGR.FOOD CHEM.;Vol.17, No.1, pp 60-62.
- 4) COLLINS, R. (1979). Comunicación personal. Datos no publicados.
- 5) MILES, J.W. & DALE, W.E. (1974). Field Extraction and Laboratory Analysis of Residues of Abate; 3rd. International Congress of Pesticide Chemistry, IUPAC, Helsinki.
- 6) Misión Japonesa para la Investigación y Control de la Oncocercosis en Guatemala;(1979). Resumen de los primeros tres años de trabajo .
- 7) DALE, W.E. & MILES, J.W. (1969). op. cit.
- 8) DALE, W.E.; MILES, J.W. & GUERRANT, G.O. (1973). Monitoring of Residues of Abate in Streams treated for Simulium Control. 3rd. International Congress of Pesticide Chemistry, IUPAC, Helsinki.
- 9) JAMNBACK, H. & FREMPONG-BOADU, J. (1966). Testing Blackfly larvicides in the Laboratory and in Streams. Bull. Wld. Hlth. Org.; 34, 405 - 421.
- 10) WALLACE, R.R.; WEST, A.S.; DOWNE, A.E.R. & HYNES, H.B.N. (1973). The Effects of Experimental Blackfly Larviciding with Abate, Dursban and Methoxychlor; The Can.Entom., Vol.105, No.6, 817 - 831.
- 11) FREEDEN, F.J.H. (1970). A Constant-rate liquid Dispenser for use in Blackfly Larviciding. MOSQUITO NEWS, Vol.30, No.3, 402 - 405.
- 12) WALLACE, R.R.; HYNES, H.B.N. & MERRIT, W.F. (1976). Laboratory and Field Experiments with Methoxychlor as a Larvicide for Simuliidae.; ENVIRON. POLLUT., Vol.10, 251 - 269.
- 13) WALLACE, R.R., et al. (1973). op.cit.
- 14) JAMNBACK, H. & FREMPONG-BOADU, J. (1966). op. cit.
- 15) DALE, W.E. et al. (1973). op. cit.
- 16) Epidemiology of Onchocerciasis, (1976). Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series No. 597, Geneva.
- 17) DAVIES, J.B.; LE BERRE, R.; WALSH, J.F. & CLIFF, B. (1978). Onchocerciasis and Simulium Control in the Volta River Basin; MOSQ. NEWS, Vol.38, No.4, 466 - 472.
- 18) GARMS, R. ; WALSH, J.F. & DAVIES, J.B. (1979). Studies on the Re-invasion of the Onchocerciasis vector (Simulium), Tropenmed. Parasit., Vol.30, No.3, 345 - 362.

- 19) WALSH, J.F.; DAVIES, J.B. & LE BERRE, R. (1979). Entomological Aspects of the First 5 Years of the OCP, Tropenmed. Parasit., Vol. 30, 328 - 344.
- 20) Misión Japonesa para La Investigación y Control de la Oncocercosis en Guatemala, op. cit.
- 21) DALE, W.E. & MILES, J.W. (1969). op. cit.
- 22) Data Sheets on Pesticides, TEMEPHOS; No.8, 1975, edited by W.H.O.
- 23) DARSIE, R. (1979). Comunicación personal; datos no publicados.
- 24) WRIGHT, F.C.; GILBERT, B.N. & RINER, J.C. (1967). Gas Chromatographic Determination of Abate Residues in Water; J.AGR.FOOD CHEM., Vol.15, No.6, 1038 - 1039.
- 25) DALE, W.E et. al. (1973). op. cit.
- 26) MILES, J.W. & DALE, W.E. (1974). op. cit., p 103.
- 27) CHIOU, C.T.; PETERS, L.J. & FREED, V.H. (1979). SCIENCE, vol.206, No.4426, pp 831 - 832.
- 28) Mc CRAY, E. (1979). Comunicación personal, no publicado.
- 29) MILES, J.W. et al., Arch. Environ. Contam. Toxicol., Vol.5, pp 29 -41, 1976.
- 30) MILES, J.W. & DALE, W.E. (1974). op. cit.
- 31) JONES, L.R. & REDDICK, J.A. (1952). ANAL.CHEM., Vol.24, pp 569-571.
- 32) DALE, W.E. & MILES, J.W. (1976). Partition Chromatographic Separation of Pesticide Residues from Fats; JAOAC, Vol.59, No.1, p 167.
- 33) BOWMAN, M.C. & BEROZA, M. (1965).; JAOAC, Vol.48, pp 943 - 952.
- 34) BLINN, R.C. & PASARELA, N.R. (1966). Colorimetric Determination of Abate Residues from several Environmental Conditions; J.AGR.FOOD CHEM., Vol.14, No.2, pp 152 - 156.
- 35) DALE, W.E. & MILES, J.W. (1969). op. cit., p 60.
- 36) MILES, J.W. & DALE, W.E. (1974), op. cit. , p 100.
- 37) MILES, J.W. (1980). carta enviada al Dr. R. Collins, abr/15/80.
- 38) PASARELA, N.R. & ORLOSKI, E.J. (1973). Abate Residues Analysis; Analytical Methods for Pesticides & Plant Growth Regulators, Vol. VII, Academic Press, N.Y., pp 112 - 146.
- 39) GRICE, H.W.; YATES, M.L. & DAVID, D.J. (1970). Response Characteristics of the Melpar FPD; J.CHROM.SCIENCE, Vol.8, pp 90 - 94.
- 40) SHOEMAKER, P.P; GARLAND, C.W. & STERNFELD, J.I. (1974). Experiments in Physical Chemistry, 3rd. Edition, Springer Verlag.
- 41) SEVCIK, J. (1976). Detectors in Gas Chromatography; J.of Chromatography Library, Vol.4, Elsevier Scientific Publishing, Netherlands, pp 145 - 164.

- 42) ATTAR, A.; FORGEY, R.; HORN, J. & CORCORAN, W.H. (1977). Quantitative Evaluation of Chromatographic Data from Nonlinear Detectors and the Sulfur Flame-Photometric Detector, J.of CHROM.SCIENCE, Vol.15, pp 222 - 229.
- 43) MONROY, M.C. (1979). Informe final de EPS realizado en el Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM), USAC.
- 44) MONROY, M.C. (1979). Tesis. Infección experimental de Simulium ochraceum con microfilarias de Onchocerca volvulus; USAC.
- 45) PORTER, (1980). Comunicación personal, datos no publicados.
- 46) O BRIEN, R.D. (1976). Acetylcholinesterase and its Inhibition, (in) Insecticide Biochemistry and Physiology, by C.F.WILKINSON, Plenum Press, U.S.A., pp 271 - 293.
- 47) O BRIEN, R.D. (1967). INSECTICIDES: Action & Metabolism, Academic Press, New York.