

## INVESTIGACION DE RESIDUOS DE « ROGOR » \* EN FORRAJES, CARNE Y GRASA DE BOVINOS

Por HECTOR C. SANTA MARIA <sup>1</sup>, BRUNETTO BAZZI <sup>2</sup>, JANA POGACNICK <sup>3</sup>,  
RICARDO A. AYLLON <sup>4</sup>, GUGLIELMO GALLUZZI <sup>5</sup>, CESAR A. SARLI <sup>6</sup>  
VINICTO NESTI <sup>7</sup> y OLGA D. VEGA <sup>8</sup>

---

**RESUMEN.** — Se investiga la evolución de los residuos del Insecticida Dimetoato (« Rogor ») en pasturas tratadas con 130 g y 390 g de materia activa por hectárea, aplicado bajo la forma de concentrado emulsionable al 40 %,

\* « Rogor », marca registrada de la Montecatini Edison S. p. A. (Milán), corresponde a la N-monometilamida del ácido 0,0 dimetilditiofosforilacético (0,0-dimetil S (N-metilcarbamoilmetil) fosforotiolotionato). Su denominación común es Dimetoato.

<sup>1</sup> Ingeniero Agrónomo, Profesor Titular de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de La Plata.

<sup>2</sup> Del Istituto Richerche Agrarie, Montecatini Edison S. p. A. Milano, Italia.

<sup>3</sup> Del Laboratorio de Residuos de Plaguicidas de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación.

<sup>4</sup> Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de La Plata.

<sup>5</sup> Del Istituto Richerche Agrarie, Montecatini Edison S. p. A. Milano, Italia.

<sup>6</sup> Auxiliar Docente de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de La Plata.

<sup>7</sup> Del Istituto Richerche Agrarie, Montecatini Edison S. p. A. Milano, Italia.

<sup>8</sup> Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de La Plata.

*Nota:* Los autores agradecen la valiosa colaboración prestada en la coordinación y organización general del trabajo por el Ing. Agrón. Juan Carlos Nicolini y Perito Agrónomo Ganadero León Celorrio, de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación y el Ing. Agrón. Gabriel De Falco de Montecatini Edison S. p. A. y, asimismo, a los señores Jorge Bacagianis y Héctor José Llera, alumnos del último año de la Facultad, quienes colaboraron eficazmente en la experimentación de campo.

dispersado con equipo terrestre con botalón de 11 m de franja útil, en un volumen de 344 litros por hectárea. Se describe la técnica de muestreo y la marcha analítica por gas cromatografía para establecer la vida residual del compuesto, con determinaciones inmediatamente después del tratamiento, 24 ; 48 y 72 hs ; 5 ; 7 y 10 días. Se estudia la posible contaminación de las grasas y músculo de bovinos que pastan las pasturas tratadas con 130 g y 390 g de Dimetoato por hectárea, determinándose los residuos en los tejidos de los bovinos por gas cromatografía y la evolución de los residuos con una secuencia de 24 hs ; 3 ; 5 ; 7 y 10 días, sacrificándose 2 bovinos para cada período para la extracción de las muestras por duplicado.

Se concluye que los valores de los residuos en forraje varían de 9,9 ppm a 0,9 ppm, para la dosis de 130 g de Dimetoato por hectárea, entre el depósito inicial y el residuo a los 10 días, respectivamente y entre 26,5 y 1,5 ppm para la dosis de 390 g de Dimetoato por hectárea, en el mismo lapso.

Que los análisis practicados en carnes, grasa y lengua dan valores menores al límite de sensibilidad del método cromatográfico empleado en esta investigación, que es de 0,004 ppm, excepto en una sola de las determinaciones al tercer día, dosis 390 g/ha, en que alcanzó el nivel límite.

De las conclusiones precedentes, se infiere que el empleo de Dimetoato (« Rogor » para el caso que nos ocupa) a las dosis ensayadas 130 y 390 g p. a. por ha, no implica riesgos de contaminación de las carnes, grasas o lengua de bovinos que pasten sobre praderas tratadas para una sensibilidad del método del orden de 0,004 ppm.

Los resultados obtenidos son discutidos con una amplia revisión bibliográfica sobre el tema.

**SUMMARY.** — Determination of « Dimethoato » residue on pastures and in beef meet and fat, by H. C. SANTA MARÍA, et al. — It is investigated the evolution of the insecticide Dimethoato « Rogor » residues on pastures treated with 130 g and 390 g of active material per hectare, applied as concentrate emulsifiable 40 %, spread with spray equipment with boom of 11 m of useful swath, in a volume of 344 liters per hectare. It is described the technique of samples extractions and the analytical process by gas chromatography to establish the residual state of the compound, with determinations made immediately after the treatment, 24 ; 48 and 72 hours ; 5 ; 7 and 10 days. It is studied the possible contamination of the grease and muscle of the bovines that graze the pastures treated with 130 g and 390 g of Dimethoato per hectare, determining the residues on the bovinos tissues by gas chromatography and the residues evolution with a sequence of 24 hours ; 3 ; 5 ; 7 and 10 days, slaughtering 2 bovinos for each period, to extract the samples by duplicate.

It is concluded that the residues values in forage vary from 9,9 ppm to 0,9 ppm for the dose of 390 g of Dimethoato per hectare, within the initial deposit and the residue at 10 days respectively and within 26,5 ppm and 1,5 ppm for the dose 390 g of Dimethoato per hectare, in the same lapse of time.

The analysis carried both on flesh, grease and tongue give minor values than that of the sensibility limit of the chromatographic method employed on this investigation, that is 0,004 ppm, except in only determination at the third day, dose 390 g, per hectare that reached the limit level.

From the aforementioned conclusions it is deduced that the use of Dimethoate (« Rogor » for the present case) in the assayed dosis 130 g and 390 p. a. per hectare, does not implicate contamination risks of the flesh, grease or tongue of the bovines that graze on prairies treated for a sensibility of the method on the order of 0,004 ppm.

The results obtained are discussed with people with an ample bibliographic revision about the subject.

## INTRODUCCION

Probada la eficacia del dimetoato para el control de las distintas especies de "tucuras" existentes en la Región Pampeana y no existiendo antecedentes en el país, acerca de la posible persistencia de sus residuos en forrajes y carnes de bovinos, que pastorean los mismos, la Comisión Permanente sobre Residuos de Plaguicidas, dispuso como requisito previo para su registro, la presentación de pruebas referentes al comportamiento del producto en el sentido indicado.

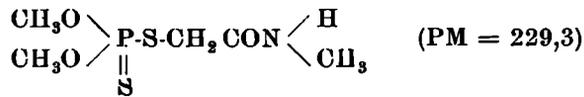
Para la consecución del trabajo, la industria química Montecatini Edison S. p. A. productora del "Rogor" —Dimetoato— solicitó la colaboración de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata y la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación.

El trabajo fue realizado mediante convenio de partes entre las instituciones mencionadas y la firma Montecatini Edison S. p. A. de Milán, Italia, bajo la conducción general del profesor titular de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la F.A.L.P., Ing. Agrón. Héctor C. Santa María y con la intervención de personal técnico especializado de las partes intervinientes (Resolución Ministerial n° 1159. S. E. A. G.)

## ANTECEDENTES DEL COMPUESTO

El dimetoato, nombre común propuesto por la Sociedad Entomológica de EE. UU. de América para la N-mono metil amida de ácido O,O, dimetil ditiofosforil acético, fue introducido como un insecticida experimental en 1950, por Montecatini Edison S. p. A., American Cyanamid Co. y Fisons (1). A partir de dicho año, una vastísima bibliografía informa acerca de las propiedades físico-químicas y biológicas del compuesto.

La fórmula estructural correspondiente al Dimetoato es la siguiente:



Se presenta como un sólido cristalino blanco con punto de fusión 50-51° C; índice de refracción  $n^{50}$  1,5373 y tensión de vapor 0,025 mm Hg (25° C) 0,165 mm Hg (40° C); y 0,540 mm Hg (50° C).

La solubilidad en agua del producto puro es 2,5 g/100 ml a 25° C, mientras que la del producto técnico en los solventes orgánicos a 20° C es la siguiente:

Tetracloruro de carbono..	2 %	Eter de petróleo .....	0,1 %
Cloroformo.....	65 »	Benceno .....	60 »
Cloruro de metilo.....	70 »	Tolueno.....	40 »
Alcohol metílico.....	80 »	Xileno .....	6,5 »
Alcohol butílico .....	50 »	Acetona.....	70 »
Alcohol isobutílico...	40 »	Ciclohexanona .....	65 »
Alcohol amílico.....	45 »	Glicol monoetilénico....	30 »
Alcohol bencílico.....	60 »	Glicol dietilénico.....	48 »
Eter etílico .....	17 »	Glicol propilénico.....	38 »
		Metil cellosolve.....	68 »

La sustancia es hidrolizable en solución alcalina, pero es relativamente estable en solución neutra y débilmente ácida.

En los animales de sangre caliente, el Rogor se comporta como un inhibidor indirecto de la colinesterasa, de relativamente escasa acción tóxica.

Su toxicidad aguda para diversos animales es el que se consigna en el cuadro 1.

La toxicidad oral aguda no es potenciada por ninguno de 17 insecticidas probados (Sanderson y Edson, 1964).

El Dimetoato es un insecticida de amplio espectro de acción, habiéndose probado su eficacia para numerosas especies perjudiciales. En lo que respecta al índice tóxico para distintas especies se transcribe en el cuadro 2 (2).

El índice tóxico para 3º y 4º estadio de "tucuras" (*Dichroplus elongatus*), determinado por Sarli, C. A. (3), es de 4,29 microgramos por insecto y de 28,6 microgramos por gramo de insecto.

**CUADRO 1**

Animal	Vía de suministración	D. L. 50 mg/kg peso corpóreo			Referencias
		puro	grado de laboratorio	técnico	
Rata macho ...	oral	500-600	280-350	180-328	Sanderson y Edson (1964)
Rata hembra ..	oral	570-680	300-356	240-334	»
Rata macho ...	intraper.	—	175-356	—	»
Rata hembra ..	»	—	350	—	»
Rata macho ...	endoven.	—	450	—	»
Ratón hembra.	oral	60	—	60	»
Cobayo .....	oral	550	600	350-400	»
Conejo.....	oral	500	450	aprox. 300	»

**CUADRO 2**

Insectos	DL <sub>50</sub> (µg/g)
Mosca doméstica .....	0,53
Grillos .....	3,1
Cucaracha .....	7,1
Chinches .....	205
Escarabajo de la papa.....	770

**Objetivos del trabajo**

- 1º Determinar cuantitativamente la evolución de los residuos de Rogor p.a. que pudieran permanecer en las carnes provenientes de bovinos alimentados sobre campo tratado con Dimetoato a las dosis necesarias para el control de la plaga.
- 2º En caso de residuos positivos determinar su "tiempo de eliminación".
- 3º Establecer asimismo tenor y evolución de los residuos en y sobre los pastos de la pradera tratada.

PLANEAMIENTO

PRUEBA N° 1 (Parcela A)

- a) Tratamiento de una pradera natural con 130 g de Rogor p.a. por hectárea, con animales presentes al momento de la aplicación.
- b) Sacrificio paulatino de los animales de acuerdo el siguiente plan:

2 a las 24 horas  
2 a los 2 días  
2 a los 3 días  
2 a los 5 días  
2 a los 7 días  
1 a los 10 días \*

- c) Faenamamiento inmediato y extracción de muestras de músculo y grasa. Al animal \* se le extrajo además muestras de lengua.
- d) Extracción de muestras del pasto tratado de acuerdo al siguiente plan:

Día -1 Testigo  
Día 0 (día de la aplicación)  
Día 1  
Día 2  
Día 4  
Día 7  
Día 10

- e) Análisis de las muestras en laboratorio, determinándose residuos de Rogor por el método de cromatografía en fase gaseosa con detector de captura electrónica.

PRUEBA N° 2 (Parcela B)

Se condujo simultáneamente con la anterior y en la misma forma con la siguiente variante: dosis de aplicación de Rogor = 390 g p.a. por hectárea.

La secuencia del sacrificio de los animales fue la siguiente:

2 a las 24 horas

\* Extracción muestra de lengua.

2 a los 3 días  
2 a los 5 días  
2 a los 7 días  
2 a los 10 días \*

## TESTIGOS

En parcela C no tratada, se condujo con la misma metodología una prueba testigo, sacrificándose a tal fin 2 animales.

La extracción de muestras se efectuó como en los casos anteriores sobre músculo, grasa, lengua y pasto de la pradera testigo.

## EJECUCION

### A) TRABAJO DE CAMPO

Lugar: Campo de la Escuela de Policía "Juan Vucetich". Localidad de Pereyra Iraola, partido de Berazategui, provincia de Buenos Aires, República Argentina.

### *Elementos y equipos*

Equipo utilizado: Pulverizadora terrestre para cultivos planos marca "Tuwa", botalón de 10,5 m de longitud, dotado con 27 picos de proyección cónica.

Instrumentos de medición de las condiciones ambientales (Pluviómetro, Higrógrafo, Heliógrafo, Anemómetro, etc.).

Tijera especial para extracción de muestras de forraje.

Animales en ensayo: Novillos raza Aberdeen Angus de dos años de edad, lote parejo y en buen estado sanitario.

Campo en ensayo: Pradera natural con tapiz vegetal de 8 a 12 cm de altura, poblada con las siguientes especies vegetales: *Bromus unioloides* KBK ("cebadilla criolla"), *Lolium multiflorum* Lam. ("raigrás criollo"), *Medicago arabica* (L.) Huds. ("trébol de carretilla"), *Trifolium repens* L. ("trébol blanco"), *Stellaria media* (L.) Cyr. ("capiqui"), con menor frecuencia se encontraban *Poa annua* L. ("poa"), *Rumex crispus* L. ("lengua de vaca"), *Dichondra microcalyx* Fabris, *Silybum marianum* Gaertn. ("cardo asnal"), *Alternanthera paronychioides* St. Hil., *Urtica urens* L. ("ortiga"), *Carduus acanthoides* L. ("cardo platense"), *Centaurea calcitrapa* L. ("abre puño"), *Echium plantagineum* L. ("flor morada"), *Paspalum dilatatum* Poir. ("pasto miel"), *Capsella bursa-pastoris* (L.)

Medic. ("bolsa del pastor"), *Juncus imbricatus* Laharp; *Cyperus* sp., etc.<sup>1</sup>

**DETALLE DEL TRABAJO:**

Se ejecutó el ensayo sobre la pradera elegida determinándose 3 parcelas, alambradas convenientemente:

Parcela A = 5 ha (Prueba Nº 1) animales caravana celeste.

Parcela B = 9 ha Prueba Nº 2) animales caravana roja.

Parcela C = 3 ha (Prueba testigo) animales sin caravana.

El día 24 de septiembre se efectuó el tratamiento con insecticida "Rogor" sobre las parcelas A y B en las dosis planeadas:

Parcela A = 130 g p.a./ha

Parcela B = 390 g p.a./ha

Cabe destacar que la aplicación se realizó con los animales ya distribuidos y pastando dentro de la parcela desde dos días antes al tratamiento.

El equipo pulverizador, calibrado previamente, trabajó sujeto a las siguientes constantes controladas:

Velocidad de trabajo: 4,285 km/h.

Gasto promedio por pico: 1.000 C.C./minuto.

Gasto total: 27 litros/minuto.

Presión de trabajo: 90 libras/pulg<sup>2</sup>.

Ancho de labor: 11 metros.

Volumen dispersado por ha: 344 litros.

Este volumen dispersado fue previsto para asegurar una perfecta y homogénea dispersión del producto.

De acuerdo al mismo, la concentración de aplicación para cada parcela resultó:

Parcela A — 0,094 % (expresado en producto formulado al 40 %)

Parcela B — 0,282 % (expresado en producto formulado al 40 %)

<sup>1</sup> Censo efectuado por el Dr. Decio Piergentili, Jefe División de Botánica de la Dirección de Agricultura del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires.

CUADRO 3

Fecha tratamiento hasta faena	N° de anim. remitidos para faenar			Toma de muestras								
	Días desde tratamiento hasta faena	Prueba 1 Prueba 2 Pr. testigo			Carnes			Pastos				
		Parcela A	Parcela B	Parcela C	Parcela A (N°)	Parcela B (N°)	Parcela testigo (N°)	(N°)	Parcela A	Parcela B	(N°)	
												carne
23....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
24....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
25....	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
26....	2	-	-	1	1	1	-	-	-	-	5	5
27.	2	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
28.	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	5	5
29....	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30....	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-
1....	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2....	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-
3....	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4....	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	5	5
5....	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-
Totales (N°)....	11	10	2	5	5	1	5	5	1	1	35	35

Buenos Aires, 23/10/68. GDF/ro.

Al momento de la aplicación se extrajeron de los envases originales, muestras representativas del producto utilizado, las que previo precintado fueron entregadas para constancia, a los funcionarios de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación, del Departamento de Sanidad Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata y a los representantes de la firma Montecatini S. p. A.

Inmediatamente después de la aplicación del insecticida, se cercaron distribuidas al azar "5 reservas" de 16 m<sup>2</sup> c/una, en parcela A y 5 reservas de igual superficie en parcela B (fig. 2).

Sobre estas "Reservas" se efectuaron las "tomas de muestras" de pastura para su análisis y determinar la "vida residual" del compuesto.

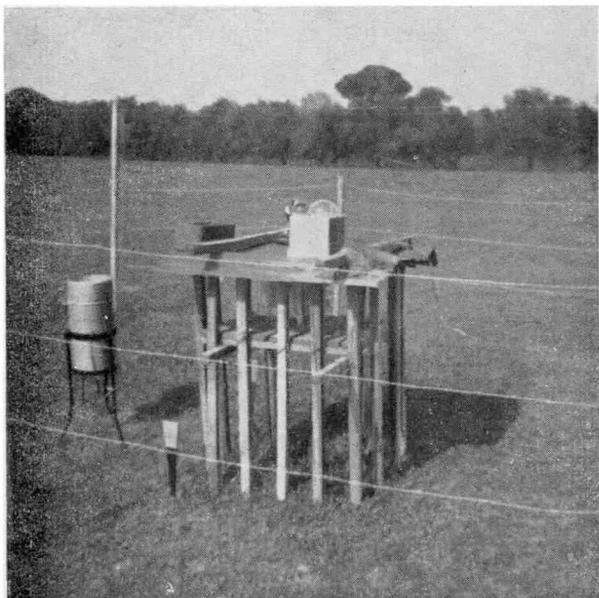
La primera extracción de forraje se efectuó 1 hora después de la aplicación. Es decir una vez asegurada la fijación del "depósito inicial" correspondiente.

Las extracciones de animales de las parcelas para su sacrificio y las tomas de muestras correspondientes y sus detalles se encuentran mencionados en los cuadros 3 y 4.

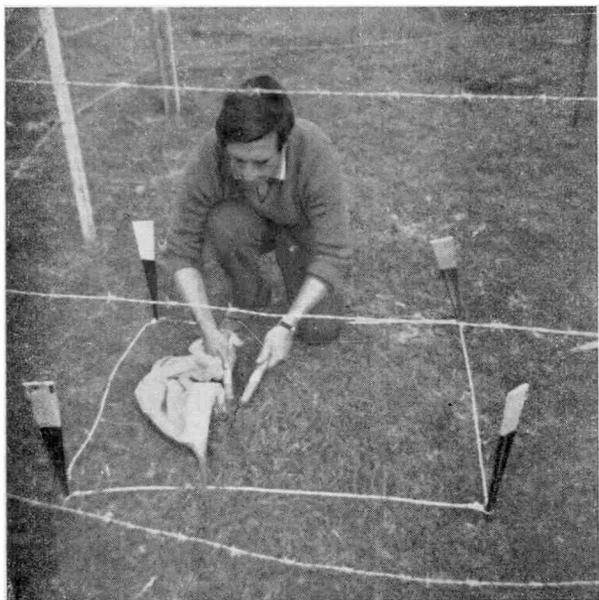
CUADRO 4  
Detalle de la extracción de muestras de pastos

	Parcela A en kilogramos <sup>1</sup>	Parcela B en kilogramos <sup>1</sup>
23-IX-68 testigo.....	0,420	0,290
24-IX-68.....	0,438	0,280
25-IX-68.....	0,378	0,354
26-IX-68.....	0,490	0,410
28-IX-68.....	0,682	0,656
1-X-68.....	0,582	0,514
4-X-68.....	0,570	0,525
Peso promedio en kg m <sup>2</sup> .....	0,5085	0,4327
Peso promedio en kg/ha.....	5,083	4,327

<sup>1</sup> Los pesos consignados corresponden al promedio de 5 extracciones de 1 m<sup>2</sup> expresado en kg de pasto verde por m<sup>2</sup>.



**Fig. 1.** — Vista de la estación meteorológica instalada en el campo



**Fig. 2.** — Técnico procediendo al corte de  $1\text{m}^2$  de pastura dentro de una parcela reserva

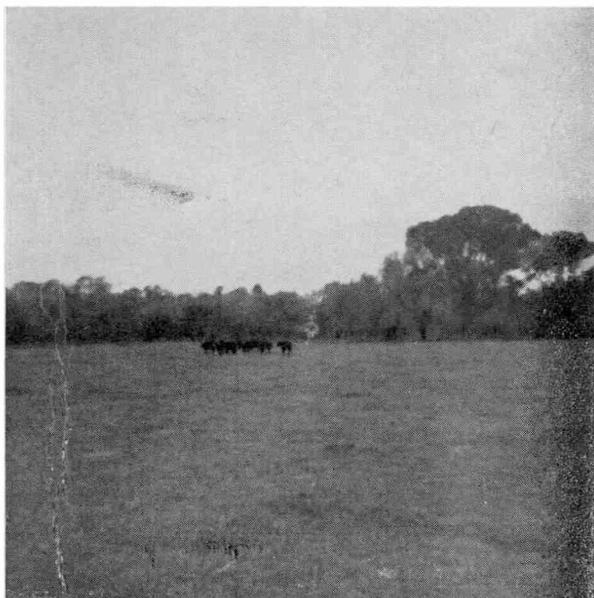


Fig. 3. — Lote de animales pastando en la parcela A

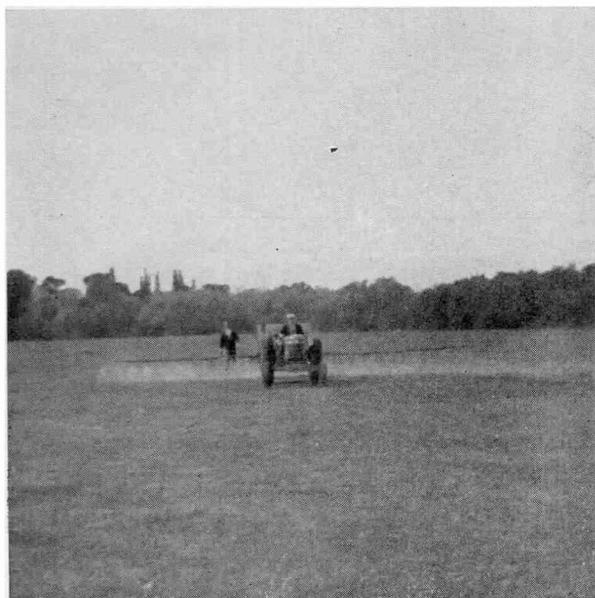


Fig. 4. — Vista frontal del equipo usado en la aplicación del « Rogor »

La remisión de animales a Frigoríficos Argentinos (ex Wilson) para el sacrificio y faenamiento se efectuó en las fechas prefijadas entre las 12 y 13 horas de cada día.

En todos los casos, la hacienda fue recibida en el frigorífico por personal técnico de la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación, que supervisó además el faenamiento y las extracciones de muestras correspondientes. El detalle de los animales remitidos se menciona en el cuadro 5.

**CUADRO 5**  
**Número y peso de los animales faenados**

Fecha	N° de animales	Peso vivo (a la faena)
26-9.....	4	1.160
27-9.....	2	620
28-9.....	4	1.200
30-9.....	4	1.030
2-10.....	5	1.435
5-10.....	4	1.155
	23	6.600

Promedio 287 kg/animal

Las muestras extraídas respondieron en todos los casos al siguiente material:

Músculo.....	zona de nalga y pecho
Grasa.....	región renal y mesentérica
Lengua.....	totalidad de su tejido
Pastos.....	corte al ras de 1 m <sup>2</sup> de pasto de cada una de las reservas

De inmediato a su extracción, las muestras fueron entregadas al Laboratorio de Plaguicidas de la S.E.A.G. para su homogeneización y acondicionamiento a los efectos del análisis correspondiente.

**CUADRO 6**  
**Datos meteorológicos registrados durante la experiencia**

Día	8 horas	14 horas	20 horas	Máxima	Mínima
<b>23-IX :</b>					
T °C .....	—	—	—	—	—
H. R. % .....	—	—	—	—	—
Lluvias (mm).....					
<b>24-IX :</b>					
T °C.....	13,8	18,9	15,8	20,1	12,1
H. R. %.....	94	71	85	100	70
Lluvias (mm) .....					
<b>25-IX :</b>					
T °C.....	16,4	21,0	17,6	21,6	13,3
H. R. %.....	83	69	89	93	68
Lluvias (mm).....					
<b>26-IX :</b>					
T °C.....	15,2	23,6	16,0	24,2	12,9
H. R. %.....	93	54	75	94	51
Lluvias (mm).....	1,4				
<b>27-IX :</b>					
T °C.....	7	10,5	8,7	13,0	6,1
H. R. %.....	89	93	88	92	72
Lluvias (mm).....					
<b>28-IX :</b>					
T °C.....	7,5	10,2	6,0	12,0	8,5
H. R. %.....	97	76	87	98	70
Lluvias (mm) .....	6,3				
<b>29-IX :</b>					
T °C.....	12,5	13,7	5,0	15,8	1,2
H. R. %.....	74	58	98	100	47
Lluvias (mm).....	5,2				

CUADRO 6 (Conc.)

Día	8 horas	14 horas	20 horas	Máxima	Mínima
<b>30-IX :</b>					
T °C.....	14,5	15,2	11,5	19,0	1,8
H. E. %.....	63	56	90	100	55
Lluvias (mm).....					
<b>1-X :</b>					
T °C.....	15,0	19,0	13,7	20,2	10,4
H. R. %.....	75	57	100	100	56
Lluvias (mm).....					
<b>2-X :</b>					
T °C.....	10,6	11,8	8,5	13,2	3,0
H. R. %.....	80	65	79	100	47
Lluvias (mm).....	0,5				
<b>3-X :</b>					
T °C.....	11,8	12,9	14,2	14,8	10,0
H. R. %.....	97	98	97	100	94
Lluvias (mm).....	15,0				
<b>4-X :</b>					
T °C.....	14,9	17,0	14,1	17,8	10,2
H. R. %.....	95	94	96	100	84
Lluvias (mm).....	31				

## TRABAJO DE LABORATORIO

Numerosos métodos han sido puestos a punto para la determinación de los residuos de Dimetoato en los más diversos tipos de sustratos y una amplia reseña de ello ha sido hecha en *Residuos Reviews* (4).

En el presente caso, a fin de evitar interferencias en la elaboración del procedimiento analítico para la valoración del Rogor en los tejidos animales, se ha tenido en cuenta la eventual presencia de

otros pesticidas y se ha previsto su separación, sea en fase de purificación de los extractos, sea en fase de evaluación final por gascromatografía.

Esta última ha sido ejecutada operando con detector de captura electrónica, teniendo presente la gran sensibilidad que esta técnica permite lograr. El inconveniente frecuentemente encontrado también para otros compuestos organofosfóricos insecticidas, de la descomposición de la sustancia activa en la columna, por efecto de la temperatura, ha sido superado con el empleo de vaporizadores y columna de vidrio limitando el largo de esta última, reduciéndose así el apremio térmico del compuesto.

Esto, si bien es cierto ha requerido un más cuidadoso procedimiento de purificación previa ("clean-up"), ha conducido a una más eficiente eliminación de sustancias naturales interferentes. Ello ha significado mayor sensibilidad y especificidad en la valoración del insecticida.

#### *Aparatos*

- a) Homogeneizador para líquidos (licuadora).
- b) Triturador de carnes (picadora).
- c) Plataforma oscilante.
- d) Evaporador rotatorio bajo vacío Pulsor Ascenso S.p.A. - Milano o aparato equivalente.
- e) Centrifuga operante de alineamiento horizontal (90°). Revoluciones mínimas 2.000/minuto. Fuerza centrífuga (a 2.000 revol/minuto), 650 G.
- f) Bomba de vacío.
- g) Probetas para centrifugación, capacidad mínima 100 ml con tapas de vidrio esmerilado.
- h) Balones de 1 litro con cuello esmerilado para la adaptación al evaporador rotante bajo vacío.
- i) Embudos separadores de 500 ml con tapa de vidrio esmerilado y robinete teflón.
- j) Embudos Buchner ( $\varnothing$  10 cm aproximadamente).
- k) Jeringas de 50 ml (para inyección endovenosa) provista de aguja de acero inoxidable, largo 15 cm.
- l) Matraces tipo Erlenmeyer con tapón esmerilado.
- m) Matraces volumétricos de 500 ml con tapón esmerilado.
- n) Tubos de ensayo cónicos graduados de 15 ml con tapa esmerilada.

- o) Tubos de Allihn.
- p) Cromatógrafo en fase gaseosa Varian Aerograph tipo 2100 equipado con detector a captura de electrones.
- q) Pipeta volumétrica calibrada al centésimo.

#### REACTIVOS <sup>1</sup>

- A) Diclorometano.
- B) Acetonitrilo redestilado.
- C) Eter de petróleo P.E. 30-60° C.
- D) N-hexano.
- E) Benceno redestilado.
- F) Sulfato sódico anhidro.
- G) Solución bencénica patrón de dimetoato preparada con sustancia activa purísima.

#### PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

##### *Extracción y purificación* <sup>2</sup>

##### A) FORRAJE

Triturar, por algunos segundos, 50 g de forraje (separado previamente de las malezas no comestibles para los bovinos) en un mezclador de material no atacable por los solventes. Homogeneizar luego por tres minutos en presencia de 200 ml de diclorometano y de 10 g de sulfato de sodio anhidro.

Filtrar en Büchner (papel W 1) por decantación, luego extraer de nuevo con 100 ml de diclorometano.

Lavar con 150 ml de diclorometano. Transferir a un embudo separador; dejar reposar, luego filtrar en tubo de Allihn conteniendo un poco de algodón cubierto con un estrato de 5 g de sulfato de sodio anhidro, recogiendo en un matraz aforado de 500 ml

Llevar a volumen con el mismo solvente. Extraer 10 ml de la solución, transfiriéndolos a la probeta de 100 ml.

<sup>1</sup> Todos los reactivos deben ser de calidad « pura pro-análisis ».

<sup>2</sup> La técnica de extracción y la purificación siguen de cerca a las sugeridas por los Organos de Control Sanitario (USA) (6).

Dada la extrema sensibilidad de este método es indispensable la cuidadosa limpieza del material de vidrio y evitar toda contaminación.

Evaporar el solvente, primero en el evaporador rotatorio hasta un pequeño volumen, no superando la temperatura de 30-35° C; completar luego a temperatura ambiente mediante un leve soplo de aire filtrado.

Retomar el residuo con 50 ml de agua destilada y extraer con 4 x 30 ml de éter de petróleo. Centrifugar y descartar la fase etérea. Extraer la fase acuosa (Rogor) con 6 x 40 ml de benceno.

Concentrar en el evaporador rodante hasta un pequeño volumen (temperatura máxima 40-45° C). Filtrar en Allihn con algodón y 2,5 g de sulfato anhidro, transferir a una probeta cónica de 15 ml, evaporar definitivamente el solvente a temperatura ambiente con un leve soplo de aire y retomar con un volumen conocido de benceno.

#### B) MÚSCULO (carne)

Pasar por el triturador de carne (picadora) una muestra representativa del tejido a analizar (músculo del pecho y de la pierna), pesar 30 g, extraer en matraz Erlenmeyer agitando por 3 minutos, primero con 100 ml de acetonitrilo y luego con 100 ml de diclorometano, filtrando cada vez con papel W 1 y recogiendo los dos extractos en un embudo separador de 500 ml.

Agitar y dejar reposar luego largo tiempo. Separar el agua transfiriendo la fase orgánica en un segundo embudo separador. Agregar 100 ml de diclorometano, agitar, dejar en reposo y luego filtrar en tubo de Allihn conteniendo un poco de algodón cubierto por un extracto de 5 g de sulfato sódico anhidro, recogiendo en un balón de fondo esférico de 1 litro.

Evaporar la mezcla de los solventes en evaporador rodante bajo vacío (temperatura máxima 40° C). Recoger el residuo oleoso con 200 ml de n-hexano y extraer en embudo separador de 250 ml con 3 x 30 ml de acetonitrilo saturado de n-hexano. Separar cuidadosamente el acetonitrilo en evaporador (temperatura máxima 40-45° C). Retomar el residuo con 30 ml de agua destilada, agitando bien para favorecer la disolución del principio activo, transferir a una probeta de centrifuga de 100 ml de capacidad y extraer con 4 x 30 ml de éter de petróleo, lavando cada vez el balón de 1 litro con el solvente etéreo.

Después de cada extracción centrifugar y extraer con jeringa con cuidado la base orgánica superior para descartar. Extraer la fase acuosa (Rogor) con 3 x 50 ml de benceno. Concentrar en el evapo-

rador rotatorio (temperatura máxima 40-45° C) hasta un pequeño volumen, filtrar en un Allihn conteniendo un poco de algodón cubierto de un extracto de 2,5 g de sulfato sódico anhidro recogiendo en una probeta de 15 ml.

Evaporar completamente el solvente a temperatura ambiente con un leve soplo de aire y retomar con un volumen conocido de benceno (0,6 ml), empleando pipeta volumétrica de 1 ml graduada al centésimo.

### C) GRASA

Pasar por el triturador de carne (picadora) una muestra representativa de la grasa a analizar (renal y mesentérica), pesar 20 g; luego extraer en un Erlenmeyer, agitando por 3 minutos, con 200 ml de diclorometano. Filtrar por papel W 1 y lavar recogiendo en un balón esférico de 1000 ml. Concentrar en el evaporador rodante (temperatura máxima 30-35° C).

Diluir el residuo lipídico con 200 ml de n-hexano y extraer en un embudo separador de 250 ml con 3 x 30 ml de acetonitrilo saturado de n-hexano. Continuar de manera totalmente idéntica a la utilizada para el músculo, salvo retomar al final con 0,4 ml de benceno.

### D) LENGUA

Se ha operado idénticamente a lo hecho para el análisis del músculo.

### *Determinación gascromatográfica del Rogor*

Para la determinación ha sido empleado un gascromatógrafo Varian Aerograph Serie 2100 equipado con detector a captura de electrones (fuente radioactiva H<sup>3</sup>), registrador Varian Aerograph modelo 20 y columna en U de vidrio pyrex (∅ ext. 6 mm; ∅ int. 4 mm; largo 70 cm) preparada con Gaschrom Z, 60-80 mesh, al 5 % de QF<sub>1</sub> (trifluoropropilmetilsilicona, Dow Corning).

Para la inyección ha sido usada una jeringa Hamilton de 10 microlitros.

#### *Condiciones operativas :*

Temperatura columna.....	138 °C
Temperatura inyector (en vidrio) ..	200 °C
Temperatura detector.....	195 °C

Flujo del carrier gas (N <sub>2</sub> ).....	60 ml/minuto (a columna caliente)
Amplificador electrométrico.....	EC/10 <sup>-9</sup> amp.
Atenuación.....	x 1
Sensibilidad del registrador..	2 mV fondo escala
Velocidad del papel.....	x 2 (10 pulgadas/hora)

Bajo estas condiciones, el tiempo de retención del Rogor es de 13 min 45 seg, aproximadamente. Linealidad en la respuesta del detector ("linear dynamic range"), ha sido controlado en un intervalo útil 1,2 - 24 ng de principio activo.

Los valores analíticos han sido establecidos por confrontación directa del área de los picos obtenidos para cada muestra en examen con aquella relativa a una cantidad conocida de insecticida disuelta en benceno. Para tener en cuenta las variaciones de sensibilidad del aparato, la inyección de la solución de Rogor, para la calibración se ha efectuado a cada serie de análisis.

Los valores de la recuperación han sido calculados sobre la base la comparación entre el área del pico obtenida, agregando inicialmente al sustrato testigo una cantidad conocida de principio activo y siguiendo todo el procedimiento analítico, y aquella provista de una igual cantidad de sustancia activa disuelta directamente en el solvente.

El nivel hallado (aprox. 80 %) es armónico con los niveles de recuperación normalmente obtenidos con tal tipo de análisis.

El valor del "blanco" ha resultado siempre muy bajo (correspondiente a un tenor aparente de Rogor de aproximadamente 0,001 ppm.

### *Sensibilidad*

A las condiciones operativas sobreindicadas 1,2 µg de Rogor pueden ser reveladas con suficiente exactitud. Esto corresponde a una sensibilidad del método, para los varios sustratos, igual a 0,004 ppm. Niveles inferiores pueden ser establecidos en forma aproximada y solamente con valor indicativo.

### *Resultados y su interpretación*

#### **A) FORRAJE**

La cantidad de Rogor p.a. aplicado sobre el pasto ha sido respectivamente 130 g/ha y 390 g/ha.

**CUADRO 7**  
**Contenido de Rogor en el forraje <sup>1</sup>**

Individualización de la muestra	Fecha análisis	130 g/ha (A) (ppm)	390 g/ha (B) (ppm)
Muestra día —1 (testigo).....	22/9	0,001	0,001
» 0.....	24/9	9,9	26,5
» 1.....	25/9	8,2	24,9
» 2.....	26/9	3,9	18,7
» 4.....	28/9	2,5	8,8
» 7.....	1/10	1,1	4,9
» 10.....	4/10	0,9	1,5

<sup>1</sup> El cuadro indica la evolución de los residuos en forrajes tratados durante los 10 días siguientes a la aplicación de ambas dosis.

Hasta un intervalo de aproximadamente 100 horas del tratamiento, el contenido de Rogor en el área (B) resulta aproximadamente 3 veces más alto que en el área (A), el que aproximadamente refleja la correlación entre las dos dosis empleadas.

Sucesivamente se han obtenido valores que no corresponden más a la sobreindicada correlación.

La curva (A) tiende a devenir asintótica a los ejes de las abscisas mientras la curva (B) tiende a inclinarse más decididamente, posiblemente por la influencia de factores climáticos derivados de la lluvia caída a partir del día 28.

Es sin embargo visible la tendencia de ambas curvas, en particular de la curva (A), a aplastarse y orientarse hacia el lugar de un plafond (ya observado en experiencias precedentes conducidas por la Montecatini Edison S.p.A. en Italia y por diversos investigadores en otros países).

En relación con lo expresado se transcribe la tabla dada por los autores sobre el comportamiento del Dimetoato en papa:

CUADRO 8

Días después del tratamiento	Superficie de las hojas			Interior de los tejidos		
	Dimetoato	Metabolitos análogos oxigenados	Metabolitos solubles en agua	Dimetoato	Metabolitos análogos oxigenados	Metabolitos solubles en agua
2	77,5	0,7	11,1	27,8	1,7	39,7
12 .....	1,3	0,1	6,2	2	0,6	50,2

Los resultados están expresados en microgramos del equivalente de Dimetoato en lugar de ppm, para evitar el error resultante del incremento de peso de las plantas debido a su rápido crecimiento.

Un antecedente de interés sobre la evolución de los residuos del Dimetoato en distintas especies vegetales, es el que proporciona el trabajo de Beck y sus colaboradores (5). Los autores trataron soja, maíz para ensilar y pasturas naturales para determinar persistencia de residuos, empleando dosis de 280 y 560 g y 1120 g por hectárea, dispersadas en un volumen de 236 litros. El tiempo requerido para que el residuo llegue a ser de 0.1 ppm, fue de 7 y 16 días para la soja y maíz respectivamente, mientras que en las pasturas luego de 70 días, aún no se había alcanzado dicho nivel.

La evaluación de los residuos en forrajes verdes para las 3 dosis se indica en cuadro siguiente:

CUADRO 9

Residuo de dimetoato sobre forraje verde para 3 dosis

Intervalo de muestreo (días)	280 g/ha (ppm)	560 g/ha (ppm)	1120 g/ha (ppm)
0	19,72	48,38	91,64
1.....	11,97	28,01	65,19
2.....	6,06	18,70	38,67
4.....	3,10	8,76	14,47
8.....	2,35	5,03	12,57
16.....	0,61	0,86	2,13
—.....	—	—	—
70.....	0,25	0,19	0,37

Dauterman y colaboradores (6) han estudiado la persistencia del Dimetoato y sus metabolitos en aplicaciones de follaje, mediante el uso del compuesto radioactivo, concluyendo que el insecticida aplicado al follaje de maíz, algodón, arveja y papa se absorbe rápidamente, iniciando su metabolización sobre las hojas, probablemente por oxidación no enzimática, lo que prosigue en el interior de los tejidos presumiblemente por un proceso enzimático.

Otro antecedente de interés, referente a estudios de residuos de Rogor en vegetales, lo constituye un trabajo realizado a campo sobre remolacha azucarera (7). En dicha experiencia se utilizó Rogor P<sup>32</sup> a la concentración de 0,04 % sobre plántulas, 15 días después de la emergencia de las mismas. La determinación analítica del total de Rogor y su derivado oxigenado en las hojas, fue la siguiente:

**CUADRO 10**  
**Primer tratamiento**

Rogor	Derivado oxigenado
1 h — 16,13 ppm.....	0,00 ppm
5 h — 10,95 » .....	0,96 »
12 d — 1,09 » .....	0,48 »
21 d — 0,12 » .....	0,07 »

**CUADRO 11**  
**Segundo tratamiento**

Rogor	Derivado oxigenado
6 h — 27,86 ppm.....	0,32 ppm
5 d — 8,23 » .....	0,76 »
13 d — 0,97 » .....	0,38 »
21. d. — 0,24 » .....	0,25 »
29 d — 0,09 » .....	0,11 »

En remolacha forrajera, se hizo la experiencia en laboratorio a la misma cocentración que para el ensayo anterior (0,04 %) sobre plantas de 100 días luego de la emergencia. La evolución en hojas fue la siguiente:

CUADRO 12

	Rogor	Derivado oxigenado
2 h —	20,72 ppm.....	0,00 ppm
2 d —	28,42 » .....	0,00 »
7 d —	23,46 » .....	0,47 »
13 d —	8,95 » .....	0,76 »
20 d —	2,37 » . .....	0,39 »
30 d —	0,75 » .....	trazas

### B) TEJIDOS ANIMALES (músculo, grasa, lengua)

Las determinaciones han sido efectuadas a 1, 2, 3, 5, 7 y 10 días después del tratamiento sobre muestras de músculo, grasa renal y mesentérica y lengua (esta última sólo a los 10 días) representando cada una la muestra término medio de 2 animales extraídos de cada área y sacrificados luego de períodos crecientes de alimentación con el pasto tratado.

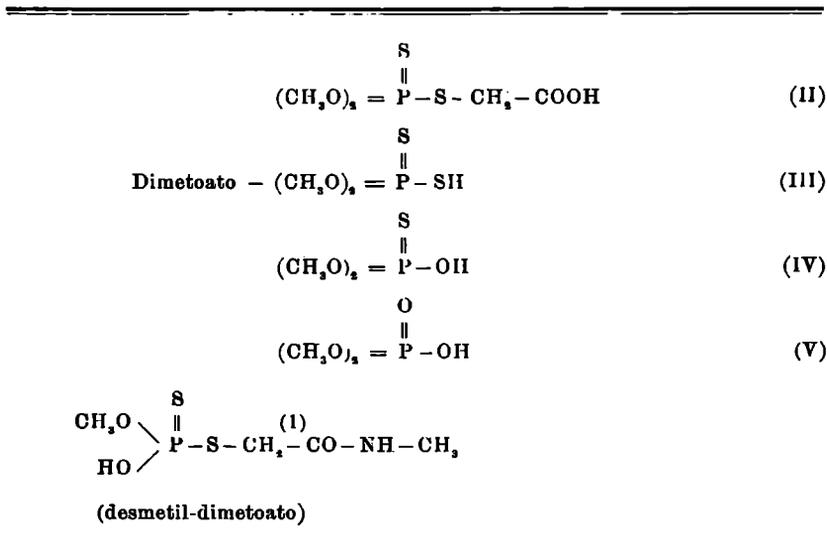
Los datos obtenidos resultan todos netamente inferiores al límite de sensibilidad del método (o sea inferior a 0,004 ppm), salvo en el caso de la muestra de carne, dosis 390 g/ha, a 3 días del tratamiento, donde se ha obtenido un dato que, sin embargo, corresponde al límite antedicho.

Es analíticamente correcto no proveer resultados con datos numéricos expresando una exactitud mayor de aquella consentida por el límite de sensibilidad del método y no alcanzable por las inevitables fluctuaciones del procedimiento experimental a estos bajos niveles; sin embargo, puesto que en el análisis de los residuos de pesticidas un valor triple de aquel del "blanco", es considerado aún significativo, puede admitirse que solamente en dos casos (carne 390 g/ha a 3 y 5 días del tratamiento) hay un residuo de Rogor valuable indicativamente a 0,003 ppm.

En todos los otros casos (comprendidos aquellos relativos a la lengua a 10 días del tratamiento) se cae en el campo de las oscilaciones del control y por lo tanto en el caso de residuos prácticamente nulos —no detectables—. Lo expuesto halla amplia confirmación en los antecedentes bibliográficos de Dauterman *et al.* (10) en su trabajo "Bovine Metabolism of Organophosphorus Insecticides. Metabolism and Residues Associated with Oral Admi-

CUADRO 13

Metabolismo del dimetoato en ratas y vacas lecheras



nistration of Dimethoate to Rats and three Lactating Cows” de 1959, trabajo que puede considerarse fundamental sobre las implicaciones de carácter sanitario relacionadas con el empleo del Rogor, han indagado profundamente, usando Dimetoato P<sup>32</sup>, sobre el metabolismo del insecticida y han propuesto el siguiente esquema (cuadro 13); poniendo en evidencia que el más importante metabolismo hallado en los mamíferos era el tiocarboxi derivado (DL 50 ratas=2500-3000 mg/kg) a su vez sujeto a rápida degradación. En la página 192 del mencionado trabajo el autor se refiere en cuadro III a la concentración (ppm.) de Dimetoato hallada a 144 horas (6 días) y a 288 horas (12 días) en los diversos órganos de vaca tratada oralmente con dosis iguales a 10 mg/kg respectivamente. Los datos relativos a la grasa y a la carne son 0,002; para la dosis 10 mg/kg a 6 días y 0,001 (1); para la dosis 9 mg/kg a 12 días en dimetoato.

Si se considera que el contenido de Rogor hallado en el forraje tratado a la dosis de 390 g/ha, gira inicialmente en torno a las 20 ppm (para luego sucesivamente caer a menos de 10 ppm después de 4 días) y se tiene además en cuenta la ingestión media diaria de pastura (60 kg) de un novillo de 300 kg de peso, se obtiene

que la cantidad ingerida de los animales en prueba, corresponde a una dosis de 4 mg/kg suministrada oralmente, o sea a una dosis de aproximadamente  $\frac{1}{3}$  de la suministrada por Dauterman.

A este punto, es fácil comprender cómo en nuestro caso, fuera imposible encontrar residuos consistentes de p.a., teniendo también en cuenta las posibilidades de acumulación. Estos por lo tanto son improbables, ya sea por la disminución en el tiempo de la concentración del insecticida en el forraje, o por la rápida e intensa degradación del producto en el organismo animal. La consideración vale con más razón para la dosis de 130 g/ha.

Las investigaciones de Dauterman han encontrado sucesivamente la más amplia confirmación en los trabajos de Kaplanis *et al.*<sup>(11)</sup> sobre ganado bovino; de Chamberlain y otros<sup>(12)</sup> sobre ovejas; de Brady y Arthur<sup>(13)</sup> en ratas y de Scherman y Chang en pollos<sup>(14)</sup>.

Todos han puesto de manifiesto la degradación rápida y cuantitativa del producto y la ausencia práctica de residuos en los tejidos. La FAO/OMS ha recogido en síntesis las conclusiones de varios investigadores del modo siguiente, en el documento "Evaluation of the toxicity of pesticide residues in food" (1965): "Various studies carried out with dimethoate labelled with P have shown that there is rapid absorption from the digestive tract. The radioactivity is concentrated in the liver, bile, kidneys and urine. There is no accumulation in the fat depots. Elimination is rapid in the rats and in man. 76-90 % of the radioactivity being found in the urine after 24 hours. In the guinea-pig 25-40 % of the radioactivity is recovered in the faeces".

Al respecto, las dos organizaciones han incluido al Dimetoato entre los 16 ésteres fosfóricos sobre los cuales han tomado posición en virtud de la gran abundancia de datos experimentales a disposición.

Para el Rogor, además, han fijado la toma diaria aceptable para el hombre en 0,004 mg/kg de peso corpóreo dividiendo por 10 (y no por 100 como hacen para otros pesticidas) este nivel no causa efectos tóxicos significativos en base a las pruebas efectuadas sobre el hombre. A propósito, no es inoportuno recordar que recientes estudios efectuados con Rogor Montecatini Edison por Edson, Jones y Watson, operando directamente sobre 36 voluntarios hombres y mujeres, han demostrado claramente que la aceptable ingestión diaria por el hombre puede ser elevada de 0,004 a 0,02 mg/kg en consideración a los favorables resultados de la investigación.

Un comunicado con una breve descripción de las pruebas y con las conclusiones precitadas, han sido ya en vía preliminar, publicado por los autores en el "British Medical Journal" del 2 de diciembre de 1967 (16).

Ninguna preocupación subsiste tampoco en lo que atañe a la leche de vacas alimentadas con forraje tratado con Rogor. Hardey y otros (15); Beck y otros (18); Adkins (19); Adkins y Hair (20) y Cheng y otros (21), han hallado que la leche contenía residuos no revelables de principio activo y mantenía íntegras sus características merceológicas, mientras los animales no acusaban ninguna depresión estadísticamente significativa de la actividad colinesterásica, no mostraban cambios anormales en el peso y no revelaban ningún síntoma de intoxicación.

Un cuadro que recopila la contribución dada por la Organización de la investigación de la Sociedad Montecatini Edison al conocimiento del metabolismo del Rogor y a la evaluación de los residuos de principio activo, ha sido efectuado por B. Bazzi en la "Reunión sobre el problema de los residuos de los insecticidas en alimentos, en Florencia, 24-25 de noviembre de 1962 y en XVIII Simposium Internacional de Fitofarmacia y Fitoiatría, Gonte, 2-3 mayo 1966 (23).

#### CONCLUSIONES

1ª De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de las pasturas, carne, grasa y lengua de los bovinos alimentados, surgen las siguientes conclusiones:

a) El "depósito" obtenido en la pastura con las dosis de 130 g y 390 g de p. a. por Ha es correcto y prácticamente concordante con la relación entre las dosis usadas.

Ello demuestra que la dispersión efectuada fue uniforme, circunstancia que avala las posteriores conclusiones. Los antecedentes bibliográficos sobre "depósitos iniciales" concuerdan con los del ensayo de Beck et al. (5) y Shav F. R. et al. *Journal Economic Entom.* (1): 1303, 1966.

b) La curva representativa de la evolución de los residuos en las pasturas confirma antecedentes de otros trabajos, con la pequeña variación debida a la lluvia ocurrida cuando el valor de los residuos era ya insignificante desde el punto de vista toxicológico (Beck et al.).

- c) Para el máximo valor hallado en pastura —26,5 ppm— la ingestión de Dimetoato, para cada novillo que consumiera 60 kg de forraje en 24 horas, sería de 5,3 mg por kg y el valor máximo para la dosis de 130 g/Ha sería de 1,9 mg/kg.
- d) Los análisis practicados en carnes, grasa y lengua dan valores menores al límite de sensibilidad del método cromatográfico empleado en esta investigación, que es de 0,004 ppm, excepto en una sola de las determinaciones al tercer día dosis 390 g/Ha en que alcanzó el nivel límite.
- e) Los valores de residuos obtenidos en las pasturas a los 10 días y los hallados en productos cárnicos, determinaron que se diera por finalizado el ensayo en tal término.
- f) Los resultados de los análisis concuerdan con los obtenidos por Dauterman et al. (Agricultural Food Chemistry 7 (3): 188-193) que para una ingestión diaria de 10 mg/kg encuentra a los 6 días valores de Dimetoato inferiores a 0,002 ppm en músculo y grasa subcutánea de bovinos. De acuerdo a lo referido en el punto C de estas conclusiones, la ingestión posible en nuestro caso ha sido apreciablemente inferior.
- g) De las conclusiones precedentes, se infiere que el empleo de dimetoato (Rogor para el caso que nos ocupa) a las dosis ensayadas 130 y 390 gr p. a. por ha, no implica riesgos de contaminación de las carnes, grasas o lengua de bovinos que pasten sobre praderas tratadas para una sensibilidad de método del orden de 0,004 ppm.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ZWEIF GUNTHER. *Pesticides, Plant growth regulators, and food additives*. Vol. II, 619 pág., Academic Press. N. York and London, 1964.
2. CHICHESTER, C. O. *Research in Pesticides*. Academic Press. N. York and London, 380 pág., 1965.
3. SARLI, CÉSAR A. *Determinación del índice tóxico (DL 50) de insecticidas para tucuras « Dichroplus spp. Fitosanitarias*, Facultad de Agronomía de La Plata. Año 5, N° 11, Diciembre de 1968.
4. DE PETRI TONELLI, B. BAZZI and R. SANTI. *Rogor (dimethoate) residues in food crops*. Residues Reviews, Vol. II, pág. 60-99 (1965).
5. BECK, E. W. et al. *Dimethoate Residues on Soybean, Corn, and grass Forage*. J. Econ. Entomol. 59, pág. 78 (1966).
6. DAUTERMAN ET AL. *Persistencia del Dimetoato y sus metabolitos en aplicaciones al follaje*. Agron. and Food Chemistry 8 (2) 115-119. 1960.
7. BAZZI BRUNETTO. *Contributto dell'Istituto di Ricerche Agrarie della Soc. Montecatini alla conoscenza del metabolismo degli esteri fosforici insetticidi negli organismi vegetali ed alla valutazione dei residui*. Istituto di Ricerche Agrarie. Montecatini. 23 pág., Milano 1963.

8. BURCHFIELD, H. P. and D. E. JOHNSON. *Guide to the analysis of pesticide residues*. Vol. 1 Public health Service Bureau of State Services (Environmental Health) office of Pesticides, Washington, D. C. (1965).
9. BAZZI, B. e collaboratori. *Determinazione dell'insetticida Rogor (dimethoate), nel prodotto tecnico e nei suoi formulati liquidi*. *Chimica e Industria (Milano)* 50, 8, 902 (1968).
10. DAUTERMAN, W. C. ET AL. *Bovine Metabolism of Organophosphorus Insecticides, Metabolism and Residues Associated with oral administration of dimethoate to Rats and Three Lactating Cows*. *J. Agr. Food Chem.* 7, 188 (1959).
11. KAPLANIS, J. N. ET AL. *The Metabolism of Dimethoate in Cattle*, *J. Econ. Entomol.* 52, 1190 (1959).
12. CHAMBERLAIN, W. F. ET AL. *The Metabolism of P<sup>32</sup> labeled Dimethoate in Sheep*. *J. Econ. Entomol.* 54, 733 (1961).
13. BRADY, U. E. and W. ARTHUR. *Biologica, and Chemical Properties of Dimethoate and Related Derivate*. *J. Econ. Entomol.* 56, 477 (1963).
14. SHERMAN, M. and N. T. Y. CHANG. *Dimethoate Residues in Eggs and Tissues of Laying Hens*, *J. Econ. Entomol.* 60, 1552 (1967).
15. FAO/OMS. *Evaluation of the Toxicity of Pesticide Residues in Food*. (1965).
16. EDSON, E. F., K. H. JONES, and W. A. WATSON. *Safety of Dimethoate Insecticide*. *British Medical Journal Saturday 2 Dicembre 1967*.
17. HARDEE, D. D. ET AL. *Effects of feeding low levels of Dimethoate on Milk and on Whole Blood Cholinesterase Activity of Dairy Cattle*. *J. Dairy Sci.* 46, 510 (1963).
18. BECK, E. W. ET AL. *Effects of Feeding Dimethoate, Its Oxigen Analog, and Dimethoate Treated Silage to Cattle*, *J. Econ. Entomol.* 61, 605 (1968).
19. ADKINS, T. R. *Absence of residues in milk after barn were sprayed with Dimethoate*. *J. Econ. Entomol.*, 56, 119 (1963).
20. ADKINS, T. R. and J. A. HAIR. *Absence of residues in milk after Dimethoate and malathion wer applied with backrubbers to dairy cattle*. *J. Econ. Entomol.* 58, 155 (1965).
21. CHENG, T. H. ET AL. *Fly control in dairy barns sprayed with dimethoate and the determination of dimethoate residues in milk*. *J. Econ. Entomol.* 54, 740 (1961).
22. BAZZI, B. *Problèmes relatifs au Metabolisme et á la Determination dens les produits vegetaux d'un ester phosphorique amide : Le Dimethoate*. Rapporto presentato al XVIII Simposium Internazionale di Fitofarmacia e Fitoiatria, Gonto 2-3 Maggio 1960.
23. — *Contributo dell'Istituto di Ricerche Agrarie della Soc. Montecatini alla conoscenza del metabolismo degli esteri fosforici insetticidi negli organismi vegetali ed alla valutazione dei residui*. Contributo. Istituto Ricerche Agrarie Soc. Montecatini, Vol. VI. pág. 21 (1962,'63).
24. UCHIDA, T. ET AL. *The penetration and Metabolism of H<sup>3</sup> Dimethoate in Insects*. *J. Econ. Entomol.* 58, 831 (1955).
25. PERRY, A. S. *Metabolism of Insecticides by Various Insects Species*. *J. Agr. Food Chem.* 8, 266 (1960).
26. CHILWELL, E. D. and P. T. BECHMAN. *Residues of O-O Dimethyl S-(N-methyl carbamoylmethyl) phosphorothiolothionate (Dimethoate) in Sprayed Crops*, *J. Sci. food Agric.* 11, 400 (1960).