

Tesis de Maestría

Argentina: evaluación de los principales residuos de pesticidas presentes en granos de maíz

Rojas, Dante Emanuel

2011

Tesis presentada para obtener el grado de Magíster de la Universidad de Buenos Aires en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Master's and Doctoral Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Rojas, Dante Emanuel. (2011). Argentina: evaluación de los principales residuos de pesticidas presentes en granos de maíz. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4989_Rojas

Cita tipo Chicago:

Rojas, Dante Emanuel. "Argentina: evaluación de los principales residuos de pesticidas presentes en granos de maíz". Tesis de Magíster. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4989_Rojas

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias exactas y Naturales

“Argentina: Evaluación de los Principales Residuos de Pesticidas presentes en granos de maíz”

Tesis presentada para optar al título de Magister en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos de la Universidad de Buenos Aires

Bioq. Dante Emanuel Rojas

8 1 538

Directora de Tesis
Dra. Alejandra Patricia Ricca

Co-Directora de Tesis
Msc. Lic. Mariana Galicio

Lugar de Trabajo: Instituto Tecnología de los Alimentos. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Castelar Pcia. Buenos Aires

ÍNDICE

<i>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</i>	Pág.
1.1. Introducción General	1
1.2. Pesticidas	3
1.2.1. Generalidades	3
1.2.2. Reseña Histórica	4
1.2.3. Importancia Económica de Plaguicidas	6
1.2.4. Problemática de Plaguicidas	6
1.2.4.1. Contaminación Ambiental por Plaguicidas	8
1.2.4.2. Impacto de Plaguicidas en la Salud del Hombre	9
1.2.4.3. Consecuencias Económicas y Sanitarias	11
1.2.5. Normativas sobre Residuos de Plaguicidas	12
1.2.5.1. Límites Máximos de Residuos	12
1.2.5.2. Normas Internacionales para Residuos de Plaguicidas	14
1.2.5.3. Residuos de Pesticidas en Argentina	16
1.2.6. Clasificaciones de Plaguicidas	18
1.3. Maíz. Producción y Comercio	21
1.3.1. Importancia de la Producción y Comercio del Maíz	21
1.3.2. El Maíz Argentino	23
1.3.2.1. Zonas Productoras	23
1.3.2.2. Destinos de la Producción Argentina	25
1.3.3. Potencialidad del Crecimiento	29
1.4. Residuos de Pesticidas en Maíz	31
1.4.1. Propiedades físico-químicas	32
1.4.2. Organofosforados	34

1.4.3. Organoclorados	39
1.4.4. Piretroides	42
1.5. Análisis de Pesticidas	46
1.5.1. Metodología QuEChERS	46
1.6. Cromatografía de Gases	49
1.7. Espectrometría de Masas	53
1.7.1. Fuentes de ionización	55
1.7.2. Analizadores de masas	57
1.8. Acoplamiento GC-MS	60
1.9. Calidad en los laboratorios de análisis de residuos de plaguicidas	61
1.9.1. Norma ISO/IEC 17025:2005	61
1.10. Objetivos del trabajo	63

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales	66
2.1.1. Drogas y solventes	66
2.1.2. Reactivos	67
2.1.3. Preparación de Patrones	67
2.1.3.1. Patrones	67
2.1.3.2. Preparación de Soluciones Patrón	68
2.1.3.2.1. Soluciones Patrón de Reserva de 1 mg/mL	68
2.1.3.2.2. Solución de Reserva de HCB de 2 mg/mL	69
2.1.3.2.3. Solución de Reserva de TPP de 2 mg/mL	69
2.1.3.2.4. Solución Mezcla de Patrones de Pesticidas	69
2.1.3.2.5. Solución de Trabajo HCB de 20 µg/mL	69
2.1.3.2.6. Solución de Trabajo de TPP de 2 µg/mL	69
2.1.3.2.7. Soluciones Mezcla de Patrones para Calibración	70

2.1.3.2.8. Soluciones Mezcla de Patrones para Fortificación	70
2.2. Obtención de Muestras	71
2.3. Método Analítico	73
2.3.1. Acondicionamiento de las Muestras	73
2.3.2. Extracción y limpieza	73
2.3.3. Cromatógrafo	76
2.3.4. Método Cromatográfico	77
2.4. Análisis de datos	79
2.4.1. Parámetros analíticos	80
 <i>CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	
3.1. Evaluación de Linealidad con Patrones	87
3.2. Efecto Matriz	90
3.3. Selectividad y especificidad	94
3.4. Curva de Calibración	101
3.5. Ensayo de Recuperación	106
3.5.1. Exactitud	107
3.5.2. Precisión	113
3.5.3. Incertidumbre	115
3.5.4. Sensibilidad	118
3.6. Discusión General	119
3.7. Muestras analizadas	124
<i>CONCLUSIONES</i>	130
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	131
<i>ANEXO A</i>	150
<i>ABREVIATURAS</i>	151

AGRADECIMIENTOS

A quienes marcaron el camino de este trabajo Dra. Alejandra Ricca y Msc. Lic. Mariana Galicio.

A mis compañeros del Instituto Tecnología de los Alimentos (INTA – Castelar). En especial con quienes siempre puedo contar Ana Sancho; Elba Lladó; Vanesa Sforzin; Alba Castro; Susana Rojas; Marta Ledesma; Juan Codoni; Claudio Sanow; Paula Ormando; María Ramazoti; Claudia Lamberto; Gustavo Polenta; Juan Carlos Fernández; Guillermo Kociubinski y Leandro Langman.

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por convocar a jóvenes profesionales a los programas de beca.

A mis compañeros y profesores de la Maestría de Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos de la Universidad de Buenos Aires.

A mi familia por su incansable apoyo y confianza.

A Vivi por compartirlo todo conmigo y por su incalculable ayuda en este trabajo.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Durante las décadas de los 60 y 70, el desarrollo, mejoramiento y aplicación de nuevas tecnologías produjo un gran aumento de los rendimientos de los grandes cultivos alimenticios (especialmente arroz, trigo y maíz). En esa época, la utilización de plaguicidas, fertilizantes y el reemplazo de mano de obra por maquinaria agrícola contribuyeron a solucionar el abastecimiento alimenticio de una población mundial en crecimiento (FAO, 1996(a); FAO, 2004).

Sin embargo, los plaguicidas son sustancias tóxicas para el hombre y su empleo no racional en la producción agraria tiene efectos nocivos para salud humana y el medio ambiente (ONU, 1992; PNUMA, 2000; PNUMA, 2001; WHO, 2009). En la actualidad, y pese a sus efectos negativos, estos productos químicos siguen siendo usados para lograr mayor rendimiento en la producción (Coscolla, 1993; Clark y col., 1998).

Para minimizar el riesgo del empleo de los plaguicidas existe legislación en los diferentes países (Reglamento (CE) N° 396/2005; Resolución 507/2008 – SAGPyA; etc.), que tienen sus bases en recomendaciones de organismos científico/técnicos internacionales (IPCS, OIT; PNUMA, Codex Alimentarius, Organización Mundial del Comercio, etc.), regionales (EFSA, etc.) y/o de cada nación (USDA, EPA, INTA, SENASA). Tales recomendaciones están respaldadas por investigaciones científicas referente a datos toxicológicos (JMPR, 2001; WHO, 2009) y al empleo correcto de estas sustancias (FAO, 1988(a); FAO, 1988(b); FAO, 1990; FAO, 1995; FAO, 1996(b); FAO, 2001(a); FAO, 2001(b); FAO, 2001(c); FAO, 2001(d); FAO, 2001(d); FAO, 2002(a); FAO, 2002(b)). Este marco normativo tiene como objetivo minimizar los riesgos para la alimentación humana y animal, garantizar la salud y calidad de los cultivos, cuidar el medio ambiente y favorecer el comercio internacional (FAO, 2006; FAO-PNUMA, 1998).

La legislación de cada país reglamenta los productos comerciales, los niveles de residuos de plaguicidas y la protección de la salud de plantas (Coscolla, 1993). Los gobiernos implementan un conjunto de medidas, como por ejemplo, capacitaciones para los sectores involucrados en la manipulación, información para los consumidores y aplicación de controles de contaminación de alimentos.

En la actualidad, el análisis químico de plaguicidas en matrices medioambientales y alimenticias tiene una posición destacada para llevar a cabo controles. Los laboratorios analíticos deben ofrecer servicios con validez técnica internacional y de aquí la importancia de dar cumplimiento a los requisitos de la Norma ISO/IEC 17025:2005 (Disposición 125/2006 – SENASA).

1.2. PESTICIDAS

1.2.1. Generalidades

Según la Real Academia Española (R.A.E.), el vocablo *pesticida* es sinónimo de *plaguicida*.

Para el Codex Alimentarius: “Por *Plaguicida* se entiende cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, desfoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes, nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos veterinarios” (Comisión del Codex Alimentarius, 2006).

Por *residuo de plaguicida* el Codex Alimentarius entiende “cualquier sustancia presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye cualquier derivado de un plaguicida, como productos de conversión, metabolitos y productos de reacción, y las impurezas consideradas de importancia toxicológica” (Comisión del Codex Alimentarius, 2006).

El Codex Alimentarius entiende por “buenas prácticas agrícolas en el uso de plaguicidas (BPA), los usos inocuos autorizados a nivel nacional, en las condiciones existentes, de los plaguicidas necesarios para un control eficaz y fiable de las plagas. Comprende una gama de niveles de aplicaciones de plaguicidas hasta la concentración de uso autorizado más elevada, de forma que quede la concentración mínima posible del residuo...” “...Los usos inocuos autorizados se determinan a nivel nacional y prevén usos registrados o recomendados en el país que tienen en cuenta las consideraciones de salud pública

y profesional, y la seguridad del medio ambiente...” “...Las condiciones existentes comprenden cualquier fase de la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos para consumo humano y piensos” (Comisión del Codex Alimentarius, 2006).

1.2.2. *Reseña Histórica*

Desde los comienzos de la agricultura, existe la amenaza constante de pérdida de cosechas en el campo o durante el almacenamiento. Los responsables son insectos, roedores, enfermedades de las plantas y las malezas. Esta situación derivó en actividades para favorecer la producción (Arata, 1986).

En un principio, el desmalezado se realizaba únicamente a mano, luego se utilizaron azadones y segadores. Desde la antigüedad, se hace uso de la acción plaguicida de algunas sales inorgánicas del azufre, cobre, arsénico y fósforo. Otras prácticas incluían aceites o ungüentos preparados con semillas y raíces, a veces mezclados con cenizas.

La revolución industrial y el desarrollo de la química como ciencia contribuyeron a la mejora de la agricultura. La agricultura que hasta ese momento se utilizaba para la subsistencia adquirió características de actividad extensiva junto con el crecimiento de la población mundial. Se produjo un incremento del monocultivo, también aumentó la necesidad de proteger la producción durante el almacenamiento y transporte para la comercialización.

La última mitad del siglo XIX y la primera parte del XX marcaron una época de avances en el control de plagas. Los científicos empezaron a descubrir la base biológica para el control de éstas, porque no había alternativas químicas efectivas. Al finalizar el siglo XIX, se establecieron cinco formas para controlar las plagas: control biológico, control físico y mecánico, control cultural, control químico y variedades resistentes.

El primer control químico de malezas se realizó en 1896 cuando se descubrió el sulfato de hierro, que se empleó en amplios campos de cultivos de cereales.

A partir de 1921, aumentó el control químico por la aplicación de las sustancias desde aeroplanos. Sin embargo, los problemas empezaron a aparecer debido a que los pesticidas inorgánicos tenían alta toxicidad y persistencia en el medio. Además, varios pesticidas, que habían sido efectivos, fallaron pronto en el control de ciertas plagas. Algunos científicos encontraron que mientras el pesticida destruía la mayor parte de la población de una plaga particular, unos pocos sobrevivían cada vez. Estos pocos se reproducían y pasaban las cualidades de supervivencia a la siguiente generación. Esta nueva generación era resistente al pesticida y crecía sin ningún tipo de control.

Los progresos de la segunda mitad del siglo XIX fueron la base de los descubrimientos de pesticidas orgánicos de síntesis. La generalización en el uso de sustancias orgánicas de síntesis en la agricultura ocurrió después de la Segunda Guerra Mundial. En EE.UU. y Europa se probaron cientos de productos químicos como insecticidas. Uno de estos, el diclorodifeniltricloroetano (DDT), se mostró, en cuanto a efectividad, superior a todos. La producción comercial comenzó en 1.943, y el DDT efectuó su primera acción en octubre de ese año, cuando alrededor de 1.300.000 personas fueron rociadas en Nápoles, Italia, para prevenir una epidemia de tifus. Después de la guerra, el DDT se utilizó no sólo para controlar vectores, sino como un insecticida de amplio espectro y para múltiples aplicaciones en agricultura. El aumento de pesticidas coincidió con un cambio fundamental en la actitud hacia el control de las plagas enfocándose en soluciones químicas o de ingeniería.

A partir de 1950 se produce la aplicación masiva de pesticidas orgánicos de síntesis. Entre los factores que explican esta práctica se encuentran los siguientes: necesidad de resurgimiento económico, evolución en la estructura de producción agrícola, escasez de mano de obra y la presión de una potente industria química.

Sin embargo, durante los pasados 30 ó 40 años ha habido una tendencia general hacia la introducción de productos con menores dosis de aplicación, de baja persistencia medioambiental y menor toxicidad para el hombre (Racke, 2003).

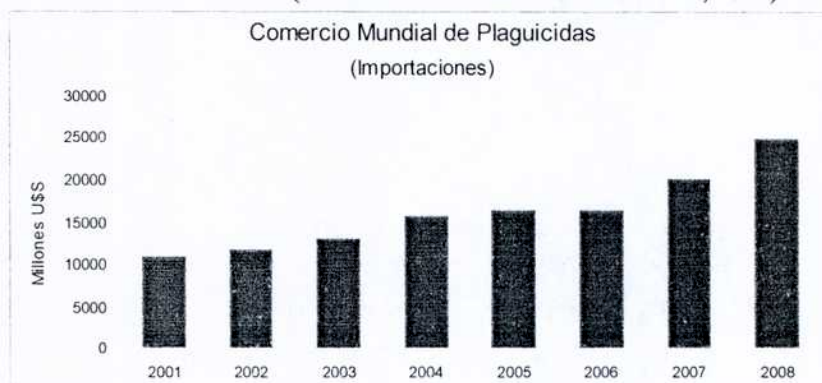
1.2.3. Importancia Económica de Plaguicidas

El consumo de los plaguicidas tiene como principal destino la producción agrícola y ejerce gran preponderancia en el rendimiento de esta actividad (Arata, 1986). En 2006, el consumo mundial alcanzó las 3.224.646 toneladas.

Los agricultores aplican estas sustancias para evitar las pérdidas por el ataque de plagas y son alentados por los distribuidores de agroquímicos o para alcanzar mercados con elevados estándares estéticos (Clark y col., 1998). Sin embargo, existen estimaciones que indican que el uso no agrícola de plaguicidas en los Estados Unidos, representa cerca del 25 % del total utilizado (Racke, 2003).

Según datos oficiales de FAO, el comercio mundial de plaguicidas aumentó progresivamente a través de los años. En el período 2001 – 2008 el comercio mundial de pesticidas creció más del doble marcando la importancia económica de esta industria (Gráfico 1.A).

Gráfico 1.A: Crecimiento de las importaciones mundiales de plaguicidas en millones de dólares 2001 – 2008 (construido con datos de FAOSTAT, 2010).



1.2.4. Problemáticas de Plaguicidas

El empleo de plaguicidas en la producción agrícola, ha tomado marcada importancia para muchos sectores de la sociedad. Los productores agropecuarios necesitan realizar un tratamiento fitoterapéutico efectivo y la utilización de estos agroquímicos es una alternativa rentable. Sin embargo, la toxicidad de estas sustancias presenta un riesgo para la salud humana durante su fabricación y empleo (Coscolla, 1993; JMPR, 2001).

El sector poblacional de mayor riesgo está formado por manipuladores de plaguicidas, quienes sufren una importante exposición a largo plazo si no se toman las medidas de protección adecuadas. En este grupo se incluyen los trabajadores de la industria que manufactura estos productos, los aplicadores de plaguicidas, los trabajadores agrícolas y los ganaderos que utilizan insecticidas para combatir los parásitos del ganado (Coscolla, 1993).

No obstante, diferentes grupos y sectores de la población general están expuestos a ellos, aunque en diferente grado. La presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos como consecuencia de los tratamientos fitosanitarios y por la presencia de contaminantes ambientales suponen un riesgo para la salud de los consumidores. Es por ello que se establecen plazos que deben transcurrir entre el tratamiento fitosanitario y la recolección de los productos para el consumo.

Existe otro grupo de consecuencias menos difundidas pero de gran impacto como son el resurgimiento de la plaga que interesa controlar, destrucción de especies benéficas, liberación de plagas secundarias consecuencia de la restricción de sus enemigos naturales (efecto conocido como “plagas emergentes”), fototoxicidad, alteraciones fenológicas de la planta huésped y selección de variedades resistentes al pesticida o cambio en las poblaciones de especies (Coscolla, 1993; PNUMA, 1992).

A pesar de los efectos negativos, difícilmente podamos prescindir de los agroquímicos en la lucha contra las plagas, ya que en el estado actual de desarrollo de la agricultura el control químico presenta ventajas en cuanto a eficacia, rapidez de acción, seguridad y rentabilidad (Coscolla, 1993).

Por último, existen exposiciones accidentales o intencionales. Según datos de la OMS se producen anualmente en el mundo alrededor de 1.000.000 de intoxicaciones agudas, graves y accidentales entre los aplicadores de plaguicidas.

En 1992 la OMS ha estimado que cerca del 25 % del consumo de plaguicidas corresponde a países en desarrollo. Los problemas más graves de intoxicación y contaminación ambiental son más frecuentes en estos países, donde hay deficiencias en los sistemas de regulación, de sanidad y de educación (García, 1998).

1.2.4.1. Contaminación Ambiental por Plaguicidas

La contaminación ambiental por plaguicidas puede comprometer aire, suelo y agua. La contaminación en el aire se produce cuando las aplicaciones se realizan por medios aéreos, como los tratamientos extensivos por avión. Las partículas más livianas pueden ser arrastradas a zonas lejanas del punto de tratamiento, afectando la salud humana, otros cultivos y la fauna presente (Clark y col., 1998).

La contaminación del suelo, se debe tanto a tratamientos específicos (insecticidas del suelo, desinfectantes, tratamientos de surco o de semillas, y de modo especial herbicidas), como también por contaminación proveniente de otros tratamientos, como los aéreos, cuando los residuos volátiles caen al suelo o son arrastrados por la lluvia (Clark y col., 1998).

Muchos plaguicidas (la mayoría de ellos herbicidas polares, derivados fosfóricos y carbámicos, etc.) se degradan rápidamente en el suelo. Sin embargo, los plaguicidas clorados tienen una elevada persistencia en el medio ambiente (FAO, 1989). Debido esta característica, las legislaciones actuales de muchos países consideran que el uso de tales derivados clorados está prohibido o sujeto a restricciones (PNUMA, 2001).

El agua es una vía muy importante a través de la cual los plaguicidas se extienden por el medio ambiente. Los pesticidas llegan a las aguas por la aplicación directa (por ejemplo la lucha contra larvas de mosquitos en aguas estancadas) o indirectamente por la movilización de contaminaciones de aire y suelos (por ejemplo, arrastres por agua de lluvia) (Racke, 2003). El plaguicida disuelto en el agua puede ser desplazado en la superficie o a través del suelo pudiendo alcanzar el agua subterránea. Durante su paso a través del suelo, el plaguicida puede quedar adsorbido, y/o sufrir transformaciones químicas o microbianas (dependiendo de la reactividad química) así como degradación, proceso que reduce o elimina la presencia del plaguicida en el medio ambiente.

1.2.4.2. Impacto de los Plaguicidas en la Salud del Hombre

Los plaguicidas son tóxicos para los mamíferos, en mayor o menor medida (Arata, 1986). La peligrosidad de los pesticidas está determinada por diversos factores. Los más destacados son:

a) Toxicidad propia de la molécula

Considera la capacidad del principio activo y/o sus metabolitos de producir efecto nocivo en la salud. Se pueden diferenciar la toxicidad aguda y crónica. También se distingue toxicidad oral, dérmica o respiratoria (Coscolla, 1993).

Toxicidad oral aguda. Se refiere a la ingestión “de una sola vez” de un producto tóxico. Se expresa en términos “dosis letal media” (DL_{50}) que significa la cantidad de tóxico que es necesario ingerir de una sola vez para producir la muerte del 50 % de los animales en ensayo. La DL_{50} aguda da una idea relativa de la toxicidad de los distintos plaguicidas y se expresa en miligramos/kilogramo de peso. Los valores de DL_{50} para seres humanos se obtienen extrapolando los resultados de animales, aunque la extrapolación sea puramente orientativa (Coscolla, 1993).

Toxicidad dérmica. Se refiere al contacto y absorción del plaguicida por la piel. Al igual que la anterior se expresa en términos de DL_{50} (Coscolla, 1993).

Toxicidad respiratoria. Considera la inhalación en una atmósfera contaminada, en el caso de fumigantes, espolvoreo, nebulizaciones, etc. Se mide por la Concentración letal del 50 % (CL_{50}) que se expresa en mg/m^3 de aire (Coscolla, 1993).

La toxicidad respiratoria y la dérmica son las más frecuentes en personas que manipulan plaguicidas (Texeira y col., 2004).

La toxicidad a mediano (toxicidad subaguda) y largo plazo (toxicidad crónica) son las más importantes para los residuos de plaguicidas (Coscolla, 1993).

Toxicidad subaguda. Se refiere a exposiciones repetidas durante un mes o menos. Puesto que las dosis administradas son más bajas que en la exposición aguda, los efectos son menos marcados y se registran todas las alteraciones producidas en los tejidos y fluidos corporales (Coscolla, 1993).

Esta toxicidad se estudia a través de ensayos que permiten obtener el llamado NOEL (Non observed effect level) o NOAEL (Non observed Adverse effect level). NOEL es la dosis máxima a la que ningún animal muestra efectos tóxicos y representa una medida cuantitativa de la toxicidad de un compuesto. Teóricamente, el NOEL hallado experimentalmente en animales permite obtener una estimación de los niveles a los que la sustancia ensayada será tóxica para el hombre (Coscolla, 1993).

Toxicidad crónica. Está provocada por la acción prolongada de dosis pequeñas. Se expresa como partes por millón de tóxico presente en la dieta alimenticia, durante los días que se especifiquen (siempre en un período largo de tiempo), y que produce los efectos que se señalen. Se establece incorporando el producto estudiado a la dieta de varios lotes de animales, en una proporción determinada; después se observan los efectos producidos (mortalidad, alteraciones metabólicas o en el desarrollo, etc.) en espacios de tiempo determinados (Coscolla, 1993).

b) Características del producto técnico o la formulación comercial

Los riesgos tóxicos de los plaguicidas no dependen solamente de la clase, dosis y forma de la exposición al principio activo. También hay que considerar la naturaleza de las sustancias presentes en las formulaciones comerciales, que son incluidas para facilitar la función o aplicación del principio activo (coadyuvantes, por ejemplo disolventes) (Racke, 2003; Coscolla, 1993).

c) Transformaciones metabólicas.

Considera la biotransformación del principio activo, es decir, las modificaciones químicas que tienen lugar dentro de un organismo. Estos cambios, pueden tener como consecuencia la exacerbación o reducción de la toxicidad (Coscolla, 1993).

d) Potenciación por asociación con otras sustancias.

Refiere al efecto sinérgico que puede producir el principio activo al asociarse con otras sustancias (coadyuvantes, otro plaguicidas o sustancias naturales) (Coscolla, 1993).

e) Acumulación a través de la cadena alimentaria.

Representa la bioacumulación progresiva de residuos de plaguicidas a través de la cadena alimentaria, cuyo eslabón final es el hombre (Coscolla, 1993).

f) Grado de exposición del ser humano a los residuos.

Considera que el tratamiento agrícola (tipo, frecuencia, dosis, tiempo hasta su recolección, etc.) y el procesamiento que recibe un producto tras su recolección modifican la cantidad de plaguicida ingerida por el hombre. También, la composición de la dieta es un factor determinante en el análisis de la exposición (Coscolla, 1993).

Aparte de estas toxicidades que deben considerarse básicas, hay que tener en cuenta otros riesgos como son las reacciones inesperadas de hipersensibilidad o alergia, cuya intensidad no depende de la dosis del producto estudiado (Coscolla, 1993; Krieger, 2010).

1.2.4.3. Consecuencias Económicas y Sanitarias

En 1990, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que cada año se producen 25 millones de casos de envenenamiento a causa de plaguicidas, lo cual evidencia una marcada tendencia al aumento en el tiempo, comparado con los 500 mil casos por año estimados en el año 1972 (Teixeira y col., 2004).

Según datos oficiales publicados por el Ministerio de Salud de la Nación, en los Centros de Información, Asesoramiento y Asistencia Toxicológica (CIAATs) en Argentina, entre los años 2000 y 2002 se registraron más de 42 mil consultas que involucraban a los plaguicidas como agentes tóxicos (Ministerio de Salud de la Nación, 2002).

A principio de la década del noventa, en Estados Unidos los costos económicos anuales atribuibles al envenenamiento humano por plaguicidas se calcularon en alrededor de U\$S 79,5 millones (García, 1998). En Ecuador, se estimó que estos gastos eran once veces mayores que el jornal agrícola (Cole y col., 2003).

1.2.5. Normativas sobre Residuos de Plaguicidas

Los residuos de plaguicidas afectan a toda la población, de forma indirecta como consumidores de alimentos y directamente por la contaminación ambiental. Sin embargo, la capacidad de los individuos para evitar su exposición es muy limitada. Como consecuencia, las autoridades nacionales redactan legislaciones con el fin de generar conductas que disminuyan el riesgo para la salud y favorezcan la producción cuidando el medio ambiente (FAO, 2006; OMS, 1997).

1.2.5.1. Límites Máximos de Residuos

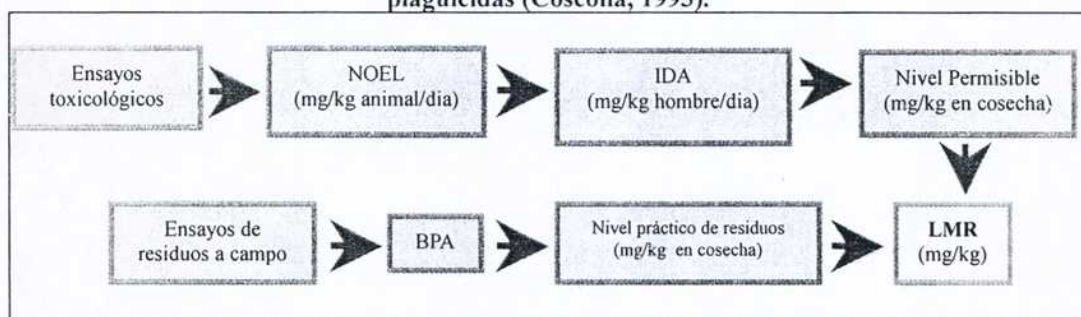
Algunos plaguicidas están totalmente prohibidos y otros restringidos debido a su elevada toxicidad, persistencia o efectos acumulativos (PNUMA, 2001; Krieger, 2010). El resto de los plaguicidas están autorizados para el empleo en la producción agropecuaria. No obstante, la presencia de residuos de este último grupo de pesticidas en cultivos y alimentos, tiene fijado un Límite Máximo de Residuo (LMR) (Coscolla, 1993).

El LMR es la “...la concentración máxima de residuos de un plaguicida (expresada en mg/kg)... para que se permita legalmente su uso en la superficie o la parte interna de productos alimenticios para consumo humano y de piensos...” (Comisión del Codex Alimentarius, 2006). Es un concepto legal y no constituye un límite de seguridad. Normalmente se fijan muy por debajo de los límites de seguridad para que la exposición a residuos inmediatamente por encima de los LMR no implique un riesgo para la salud (MacLachlan y col., 2010).

Brevemente puede explicarse que la fijación de los LMR tiene en cuenta un concepto toxicológico y otro agronómico (Figura 1.I). El nivel permitido de residuos es tal que no provoca efectos nocivos (criterio toxicológico). Este concepto se fija a partir del NOEL de la sustancia en cuestión, luego se extrapola al hombre estableciendo la Ingestión Diaria Admisible (IDA) y por último se añade un factor alimentario (que contempla la participación del alimento en la dieta). Por otra parte, el plaguicida debe ser utilizado en una cantidad mínima pero suficiente para lograr una eficacia adecuada sobre la plaga (criterio agronómico). Este criterio se implementa a través de datos obtenidos de diferentes ensayos a campo. De esta información empírica deriva el conocimiento del nivel práctico o

real de residuo que queda en los alimentos cuando son tratados y los tiempos mínimos que deben transcurrir entre la aplicación del plaguicida y la recolección de la cosecha. Así se establecen pautas de buenas prácticas agrícolas para el uso de los plaguicidas (PNUMA/OMS/FAO, 1999; Coscolla, 1993; FAO/OMS, 2005(a); FAO/OMS, 2005(b)).

Figura 1.1: Pasos esquemáticos para establecer de Límites Máximos de Residuos de plaguicidas (Coscolla, 1993).



Las BPA pueden variar de un país a otro debido a diferencias en los tipos y severidad de las plagas, variedad de cultivo, etc. De una forma similar puede variar el Factor Alimentario antes mencionado. Estos dos últimos conceptos, dejan un gran margen de discrecionalidad a las autoridades nacionales que fijan los LMR, con el riesgo de que puedan actuar con fines proteccionistas, meramente económicos o ser sensibles a la influencia de determinados sectores (FAO/OMS, 2005(a); FAO/OMS, 2005(b); Coscolla, 1993).

Por otra parte, existen críticas que refieren a aspectos toxicológicos utilizados en la determinación de los LMRs. Algunas razones son: la utilización de animales para definir el NOEL; la variación del IDA para una misma sustancia a través del tiempo (dada por el aumento de la información); no presta atención a la combinación de residuos; solo se ha estudiado exhaustivamente la toxicidad de algunas de las sustancias inertes que acompañan a los plaguicidas en las formulaciones comerciales; el *factor alimentario* considera al “consumidor medio” y no los extremos (Kroes y col., 2002). Sin embargo, el motivo que genera mayor desconfianza e incertidumbre son los efectos a muy largo plazo, como el potencial desarrollo de cáncer relacionado a la exposición recurrente, a lo largo del tiempo, de pequeñas cantidades de residuos en los alimentos (< LMR) (Coscolla, 1993; WHO/UNEP/ILO, 2009; JMPR, 2001; FAO/OMS, 2005(a); FAO/OMS, 2005(b)).

No obstante, hay que tener en cuenta que la fijación de los LMR se realiza con datos científicos, personas altamente especializadas y se emplean factores o coeficientes de seguridad para disminuir las incertidumbres, por ejemplo, en la extrapolación de datos toxicológicos de animales al hombre (MacLachlan y col., 2010; Coscolla, 1993; JMPR, 2001; FAO/OMS, 2005(a); FAO/OMS, 2005(b)).

1.2.5.2. Normas Internacionales para los Residuos de Plaguicidas

Los Límite Máximo de Residuos (LMR) son fijados por las autoridades de cada país y tienen importancia en el mercado mundial debido a que pueden constituir barreras para el comercio. Por este motivo, organismos internacionales trabajan en la redacción de recomendaciones con el fin de armonizar los LMR para beneficiar el comercio alimentario y proteger a los consumidores (FAO, 1985; FAO, 1988(c); FAO, 1991).

Codex Alimentarius

La Comisión del Codex Alimentarius fue creada por dos organizaciones de las Naciones Unidas: la FAO y la OMS. Desde 1963, fija criterios normativos para todas las naciones miembros. Está formada por comités encargados de diferentes aspectos alimentarios.

El Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR) se encarga de:

- a) Establecer límites máximos para residuos de plaguicidas en determinados alimentos o grupos de alimentos; b) establecer límites máximos para residuos de plaguicidas en algunos productos forrajeros que se distribuyen en el comercio internacional, cuando ello esté justificado por razones de protección de la salud humana; c) preparar listas de prioridades de plaguicidas para su evaluación por la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas (JMPR); d) examinar métodos de muestreo y análisis para la determinación de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos; e) examinar otros asuntos relacionados con la inocuidad de los alimentos y piensos que contienen residuos de plaguicidas; y f) establecer límites máximos para contaminantes ambientales e industriales, que tienen características químicas o de otra índole análogas a las de los plaguicidas, en determinados alimentos o grupos de alimentos (WHO/UNEP/ILO, 2009).

Este comité del Codex basa sus tareas en las pruebas científicas del grupo de expertos independientes: la Conferencia Mixta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, JMPR).

Acuerdos Internacionales para el Comercio

Desde 1995 la Organización Mundial del Comercio (OMC), permite a los gobiernos intervenir en el comercio con el fin de proteger la salud humana, animal o vegetal, siempre que no sean discriminatorias ni se utilicen como un proteccionismo encubierto. Este concepto se implementa a través de dos acuerdos internacionales:

- Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (*Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures*, MSF) autoriza la adopción temporal del “principio de precaución”. Presenta un enfoque en el que se garantiza la máxima prioridad a la inocuidad frente a la incertidumbre científica de toxicidad de una sustancia (OMC, 1995(a)).
- Acuerdo sobre Obstáculos Técnicos al Comercio (*Agreement on Technical Barriers to Trade*, OTC) trata de asegurar que los reglamentos, las normas y los procedimientos de prueba y certificación no creen obstáculos innecesarios. Sin embargo, se reconoce el derecho de los países a adoptar las normas que consideren apropiadas; por ejemplo, para la protección de la salud de personas, animales, vegetales, medio ambiente y en defensa de otros intereses de los consumidores (OMC, 1995(b)).

De esta manera, se vinculan el Acuerdo MFS y el Acuerdo OTC con el CCPR trabajando en la armonización internacional de las normas alimentarias con el fin de minimizar barreras comerciales.

1.2.5.3. Residuos de Pesticidas en Argentina

Legislación

El abordaje legal de los pesticidas en Argentina cuenta con numerosas reglamentaciones dictadas por diferentes organismos del estado, que dan marco a la temática y consideran los distintos usos. Se mencionarán brevemente algunas normativas relacionadas con la producción agropecuaria:

- La *Resolución 125/1998 SAGPyA*, refiere al criterio integral respecto a los controles a realizarse en tejidos, fluidos, excreciones de animales, productos, subproductos y derivados de origen animal para detectar la presencia de residuos de sustancias químicas sintéticas y naturales, ya sea que dichos productos fueren de origen nacional o de importación, destinados al consumo interno o la exportación. Además, fija los procedimientos que se adoptarán para los casos en que se compruebe fehacientemente el incumplimiento de las normativas vigentes, y establece las bases para los procedimientos legales a seguir en caso de encontrar residuos químicos en niveles prohibidos.

- El *Decreto 831/1993 Poder Ejecutivo Nacional; (Reglamentación de la Ley 24051 Residuos Peligrosos)*, establece desde un punto de vista legal, las definiciones básicas y conceptos generales relacionados a las actividades de generación, manipulación, transporte, tratamiento y disposición final de residuos peligrosos.

- Las *Resolución 507/2008 SAGPyA y Resolución 512/2004 SENASA*, legislan en cuanto al uso de sustancias químicas en el ámbito de la producción agropecuaria nacional e importada, prohibiendo, restringiendo o estableciendo los niveles de tolerancias para dichas sustancias. Además, establecen que se aplicarán los criterios del Codex Alimentarius cuando una sustancia no se encuentre contenida en la legislación nacional.

- La *Resolución 456/2009 del Ministerio de Salud*, complementa y actualiza otras reglamentaciones nacionales refiriéndose a prohibiciones, requisitos y exigencias de sustancias activas para la producción, comercialización, tráfico y el uso agropecuario o domiciliario y lo referente a la salud humana, a los efectos de garantizar niveles de calidad y seguridad.

- El Código Alimentario Argentino se unifica al MERCOSUR adoptando “...las normas del Codex Alimentarius FAO/OMS, SOBRE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS PARA EL COMERCIO DE PRODUCTOS AGRICOLAS...” (Código Alimentario Argentino, 2005).

Comisión Nacional de Investigación sobre Agroquímicos

La Comisión Nacional de Investigación sobre Agroquímicos (CNIA) fue creada a partir del decreto presidencial 21/2009. Está presidida por el Ministro de Salud e integrada por representantes del Ministerio de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca (MAGyP), la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SAyDS), el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) y el Instituto Nacional de Alimentos (INAL).

También participan de esta comisión el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT), el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), el Ministerio del Trabajo el Empleo y la Seguridad Social (MTEySS), la Superintendencia de Riesgos del Trabajo (SRT), los Consejos Federales de Ambiente y de Salud, COFEMA y COFESA, la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) y representantes del Poder Legislativo Nacional (Comisiones de Salud de la Cámara de Diputados y de la Cámara de Senadores).

Constituyen los objetivos de la CNIA:

1. Investigar los hechos denunciados, sus causas y efectos.
2. Efectuar recomendaciones, proponer acciones, planes y programas.
3. Delinear pautas para contribuir al uso racional de químicos y agroquímicos.
4. Proponer herramientas de información adecuadas para su utilización en los medios de comunicación.
5. Identificar los problemas generales en la atención sanitaria de la población afectada.
6. Desarrollar estrategias de atención para promover el uso racional de los productos o bien su eliminación.

7. Reunir información estadística e indicadores de impacto.
8. Propiciar la normativa pertinente y proponer las acciones directas a implementar.
9. Proponer campañas de concientización y educación sobre el uso, manipulación de químicos y agroquímicos.
10. Implementar, ejecutar o coordinar acciones, planes, proyectos y programas.

1.2.6. Clasificaciones de Plaguicidas

Se han propuesto numerosos modelos de clasificación atendiendo a distintas característica de los plaguicidas. A continuación se describen las basadas en la *acción; naturaleza química y peligrosidad*.

Los principales grupos de plaguicidas, según el objeto de su acción, son:

- Insecticidas, contra insectos (pulgones, minadores, taladradores, cochinillas, etc.)
- Acaricidas, combaten la araña roja, ácaros, etc.
- Rodenticidas, contra ratas, ratones y topos.
- Fungicidas o anticriptogámicos, que actúan contra hongos parásitos causantes de enfermedades en los cultivos (mildium, moteado, oidium, royas, etc).
- Herbicidas, que luchan contra la maleza.

La toxicidad es otro parámetro para clasificar a los plaguicidas. Estas clasificaciones son prácticas para el manejo y el seguimiento de las intoxicaciones. La OMS recomienda una clasificación según la peligrosidad, dada por su capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto (WHO, 2009). Se basa en la DL_{50} , por vía oral o dérmica de las ratas (Tabla 1.1). Sin embargo; un producto con un baja DL_{50} puede causar efectos crónicos por exposición prolongada.

Tabla 1.1: Clasificación de plaguicidas recomendada por la OMS según la peligrosidad.

	Clase	Oral (DL ₅₀)	Dérmica (DL ₅₀)
Ia	Extremadamente peligroso	5 o menos	50 ó menos
Ib	Altamente peligroso	5 a 50	50 a 200
II	Moderadamente peligroso	50 - 2000	200 - 2000
III	Ligeramente peligroso	Más de 2000	Más de 2000
U	Poco probable riesgo agudo	5000 o mas	

* LD₅₀: (mg/kg de peso corporal)

Fuente: "THE WHO RECOMMENDED CLASSIFICATION OF PESTICIDES BY HAZARD and GUIDELINES TO CLASSIFICATION 2009"

La naturaleza química del plaguicida es un aspecto muy importante para su categorización, existen muchos y muy diversos grupos. En la Tabla 1.2 se muestra esta clasificación indicando el tipo de acción más frecuente (Krieger, 2010).

Tabla 1.2: Principales grupos químicos que constituyen los plaguicidas más importantes y su tipo de acción.

TIPO DE COMPUESTO QUÍMICO		TIPO DE ACCIÓN
COMPUESTOS INORGÁNICOS Y ORGANOMETÁLICOS		Insecticida (Zn, Hg, Pb, Sn, Sb, Bi, As, P, Se, F) Acaricida (S) Rodenticida (Ba, Zn, Tl, Sb, As, F) Fungicida (Cu, Hg, Sn, Bi, S, P) Herbicida (As, F, Cl)
ACEITES MINERALES	PARAFINAS OLEFINAS NAFTAS ACEITES + ORGANOFOSF.	Insecticida
CARBAMATOS Y DERIVADOS	CARBAMATOS	Insecticida Herbicida Nematicida
	TIOCARBAMATOS	Herbicida
	DITIOCARBAMATOS	Fungicida
FENOLES Y DERIVADOS FENÓLICOS	FENOLES (SUSTITUÍDOS)	Herbicida Fungicida
	ÉSTERES FENÓLICOS	Fungicida
	NITROFENOLES Y HALOFENOLES	Herbicida Fungicida Insecticida Acaricida Molusquicida
UREA Y DERIVADOS	UREAS SUSTITUÍDAS	Rodenticida Herbicida Insecticida
	TIOUREAS	Rodenticida
	GUANIDINAS	Herbicida
ANILINA Y DERIVADOS	ANILINA	Fungicida
	NITROANILINAS	Fungicida Herbicida

Continuación de Tabla 1.2.

TIPO DE COMPUESTO QUÍMICO		TIPO DE ACCIÓN
HIDROCARBUROS	ALIFÁTICOS	Herbicida Fungicida
	ALICÍCLICOS	Fungicida
	AROMÁTICOS	Fungicida
	CLORADOS	Insecticida Nematicida
HETEROCICLOS		Herbicida Fungicida Insecticida
AMIDAS, ÁCIDOS ORGÁNICOS Y DERIVADOS		Herbicida Fungicida
ÁC. FLUOROACÉTICO Y DERIVADOS		Rodenticida Insecticida Acaricida
DIFENILÉTERES		Herbicida
NITRILOS		Herbicida
COMPUESTOS DE NITRÓGENO CUATERNARIO		Herbicida Fungicida
COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS		Insecticida Herbicida Fungicida Nematicida Acaricida
TRIAZOLAS Y TRIAZOLES		Herbicida Fungicida
HIDRACINAS, HIDRAZOLES Y DIAZOCOMPUESTOS		Fungicida
QUINONAS Y DERIVADOS		Fungicida
DERIVADOS DE PLANTAS Y OTROS ORGANISMOS	NATURALES [PIRETROIDES (VEG.)] [NEREISTOXINA (ANIM.)]	Insecticida
	SINTÉTICOS	Molusquicida Repelente Esterilizante

1.3. MAÍZ. PRODUCCIÓN Y COMERCIO.

1.3.1. Importancia de la Producción y Comercio del Maíz

La producción mundial de maíz ocupa el primer lugar en el grupo de los granos forrajeros, con una participación cercana al 60 %. Este grupo de productos representa un 45 % del total de los granos producidos en el mundo, incluyendo granos oleaginosos (Pouiller, 2005 y Ricca, 2006).

El Consejo Internacional de Granos (International Grains Council, IGC) prevé para la campaña 2010/2011, un incremento del 46 % del total mundial de grano de maíz producido, respecto del 2009 (Tabla 1.3). Con un aumento de la superficie sembrada en Estados Unidos, América del Sur y China (Grain Market Report N° 399, 2010).

Tabla 1.3: Valores históricos de Maíz (2006-10), correspondientes a las últimas campañas de Producción, Comercialización, Consumo y Reservas, expresado en millones de toneladas (Grain Market Report N° 399, 2010).

		06/07	07/08	08/09 est	m. de toneladas		
					09/10 prevision		10/11 proy
					25.03	22.04	22.04
MAÍZ	Producción	709	795	794	800	803	809
	Comercio	87	101	84	84	84	86
	Consumo	725	775	779	808	805	818
	Existencias	117	136	151	142	148	140
	Cambio interanual	-15	+19	+15		-3	-8

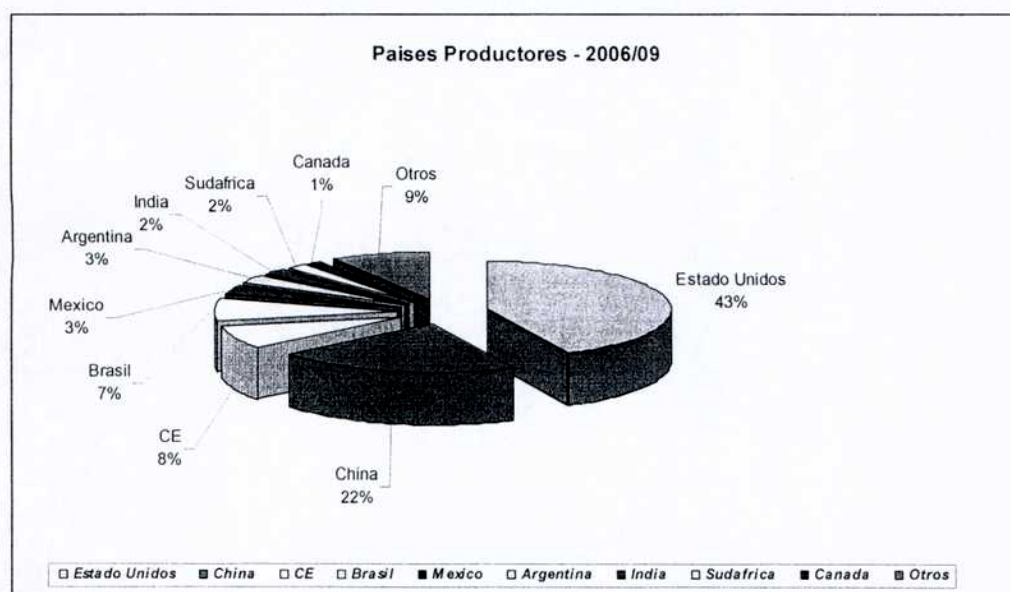
Updated: 22 April 2010 (GMR399)

La mayor parte de la producción de maíz, alrededor del 80 %, se encuentra en el hemisferio Norte, determinando un aumento de oferta en el período de octubre a diciembre de cada año. Considerando las cosechas mundiales durante los últimos años, se observa que la participación de los Estados Unidos ronda el 40 %-45 % (Gráfico 1.B).

Las cosechas de Estados Unidos y China resultan determinantes en la producción mundial, ya que su participación sumada alcanza aproximadamente el 60 % del total mundial. Argentina contribuye con un 3 % al total de la producción mundial del maíz y se ubica en el sexto lugar como productor mundial. Estados Unidos posee un doble protagonismo, en su carácter de primer productor y

exportador mundial de maíz. Como exportador, su participación se ha mantenido históricamente en el orden del 60 % del total del comercio mundial (Pouiller, 2005 y Ricca, 2006).

Gráfico 1.B: Promedios porcentuales de cosechas de maíz de los últimos años de los principales países productores (construido con datos obtenidos de www.usda.gov).



En la Tabla 1.4, se observan los principales compradores de maíz en los últimos años (2006 – 2009). Se destaca Japón, por su permanencia en la primera ubicación y por la diferencia en magnitud de maíz importado con el segundo (excepto 2007). El resto de los puestos son variables. México, Corea del Sur y Egipto son otros países de marcada importancia.

Tabla 1.4: Principales importadores de maíz (construido con datos obtenidos de www.usda.gov).

2009		2008		2007		2006	
País	Importación (Tn)	País	Importación (Tn)	País	Importación (Tn)	País	Importación (Tn)
Japón	16300000	Japón	16533000	Japón	16614000	Japón	16713000
México	8000000	México	7764000	CE	14016000	México	8944000
Corea, S.	7500000	Corea, S.	7194000	México	9556000	Corea, S.	8731000
Egipto	5000000	Egipto	5031000	Corea, S.	9311000	CE	7056000
Taiwan	4600000	Taiwan	4532000	Taiwan	4527000	Egipto	4826000
Colombia	3300000	Irán	3600000	Egipto	4151000	Taiwan	4283000
Irán	3200000	Colombia	3068000	Colombia	3267000	Colombia	3386000
CE	2500000	CE	2743000	Canadá	3182000	Irán	3300000
Malasia	2500000	Malasia	2447000	Malasia	3181000	Argelia	2406000
Argelia	2100000	Argelia	2273000	Irán	2900000	Malasia	2363000

1.3.2. El Maíz Argentino

La producción Argentina de maíz muestra una tendencia al crecimiento desde las primeras campañas de los 90'. Entre los principales factores de este crecimiento puede mencionarse: el aumento de la superficie dedicada al cultivo, el aumento en el área fertilizada, la creciente utilización del sistema de siembra directa, la incorporación de la práctica de riego complementario, la incorporación de máquinas recolectoras de última generación, la masificación de uso de híbridos de mayor potencial de rendimiento y mejor resistencia a enfermedades y plagas, y a partir de 1999/2000, el uso de vegetales transgénicos (Franco, 2006).

La producción nacional de maíz ha promediado 20 millones de toneladas entre las campañas 2006 – 2009, según de datos oficiales de USDA. En la Tabla 1.5 se puede observar la importancia y magnitud que tiene la producción de maíz en relación con los demás cereales producidos en nuestro país. Entre las campañas 2003 – 2008 la producción de cereales estuvo liderada por el maíz, seguida por el trigo.

Tabla 1.5: Producción de cereales en miles de toneladas durante las campañas de 2003/04 a 2007/08 en Argentina.

Producción de cereales, por cultivo. Total del país. Campañas 2003-04 a 2007-08 (miles de Tn)										
Campaña	Producción (1)									
	Total	Alpiste	Arroz	Avena	Cebada cervecera	Centeno	Maíz	Mijo	Sorgo granífero	Trigo
2003/04	34.138	17	1.060	332	1.001	36	14.950	11	2.165	14.563
2004/05	41.839	16	956	536	886	91	20.482	16	2.894	15.959
2005/06	31.646	14	1.193	226	796	33	14.445	15	2.327	12.593
2006/07	41.728	8	1.080	243	1.265	17	21.755	14	2.795	14.548
2007/08	44.595	9	1.245	472	1.474	77	22.016	14	2.936	16.347

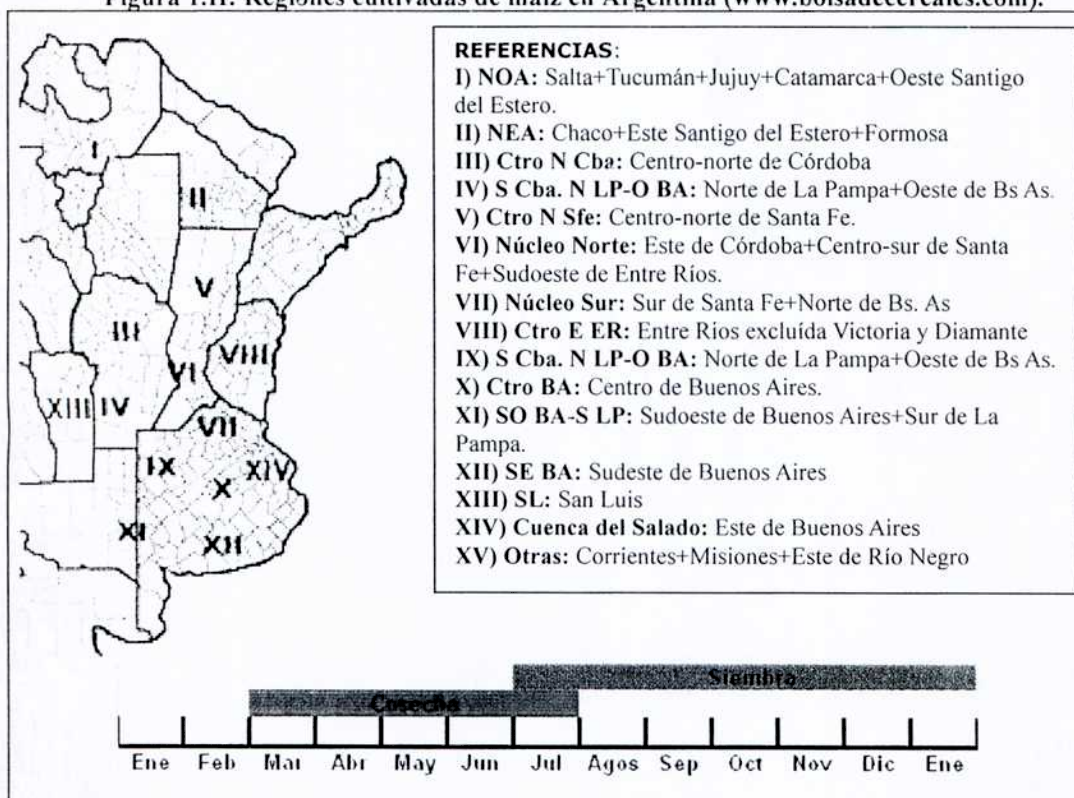
(1) Se trata de los cultivos más importantes. El total no incluye a los cultivos restantes.

Fuente: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Dirección de Coordinación de Delegaciones.

1.3.2.1. Zonas Productoras

La producción de maíz se distribuye en una amplia zona del país, abarcando aproximadamente 3,0 millones de hectáreas repartidas en distintas provincias. La superficie cultivada se concentra básicamente en la región pampeana, que reúne cerca del 80 %, el resto se reparte entre el NOA y NEA (Figura 1.II).

Figura 1.II: Regiones cultivadas de maíz en Argentina (www.bolsadecereales.com).



La Tabla 1.6 muestra el aumento de superficie destinada a la siembra de maíz, la superficie cosechada, la producción y el rendimiento en las principales provincias productoras maíz en nuestro país.

Tabla 1.6: Superficie sembrada y cosechada, producción y rendimiento de las principales provincias argentinas productoras de maíz durante las campañas 2000/01 a 2006/07 (SAGPyA, 2009).

	2000/01	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07
Córdoba							
Superficie Sembrada	862.750	906.950	923.570	738.830	1.027.970	1.038.180	1.151.650
Superficie Cosechada	737.370	828.150	809.550	608.985	860.270	848.880	989.350
Producción	4.201.110	5.656.070	6.160.140	3.941.200	7.061.800	5.204.450	8.919.130
Rendimiento	5.697	6.830	7.609	6.470	8.209	6.131	9.015
Buenos Aires							
Superficie Sembrada	1.095.650	800.846	762.190	795.530	933.462	822.300	919.605
Superficie Cosechada	946.830	627.146	610.683	660.372	760.916	601.695	708.430
Producción	5.525.640	4.047.780	4.267.450	4.998.610	6.266.880	4.304.450	6.095.250
Rendimiento	5.836	6.454	6.988	7.570	8.236	7.154	8.604
Santa Fe							
Superficie Sembrada	433.000	359.800	369.500	390.550	422.900	372.045	375.370
Superficie Cosechada	398.200	304.700	279.700	339.200	365.020	301.835	309.530
Producción	2.531.270	2.083.370	1.909.140	2.558.860	3.006.660	1.984.720	2.635.120
Rendimiento	6.357	6.837	6.826	7.540	8.237	6.576	8.513
Entre Ríos							
Superficie Sembrada	231.000	175.400	196.300	207.500	251.000	196.750	185.600
Superficie Cosechada	205.700	155.200	179.600	194.750	236.720	180.500	168.060
Producción	1.275.580	911.750	1.182.410	1.451.330	1.625.600	951.190	1.367.240
Rendimiento	6.201	5.875	6.584	7.450	6.867	5.270	8.135
La Pampa							
Superficie Sembrada	423.000	402.900	432.550	399.100	370.700	338.500	431.200
Superficie Cosechada	144.200	123.700	83.450	134.200	229.100	138.400	201.950
Producción	616.540	539.210	380.740	591.340	1.250.040	538.570	945.800
Rendimiento	4.276	4.359	4.562	4.410	5.456	4.217	4.683
Superficie: expresada en hectáreas							
Producción: expresada en toneladas							
Rendimiento: expresado en kilogramos por hectárea							

1.3.2.2. Destinos de la Producción Argentina

Históricamente en Argentina, de la producción anual se utilizan alrededor de 5 millones de toneladas para consumo interno, el resto es el saldo exportable. Dada la magnitud de producción el principal destino del maíz es la exportación. El consumo interno se distribuye en 1 millón de toneladas para consumo humano y 4 millones para consumo animal, como se observa en la Figura 1.III, para la campaña 2003 /04 (Pouiller, 2005 y Ricca, 2006).

Figura 1.III: Destinos del maíz en la producción 2003/04 (Pouiller, 2005)

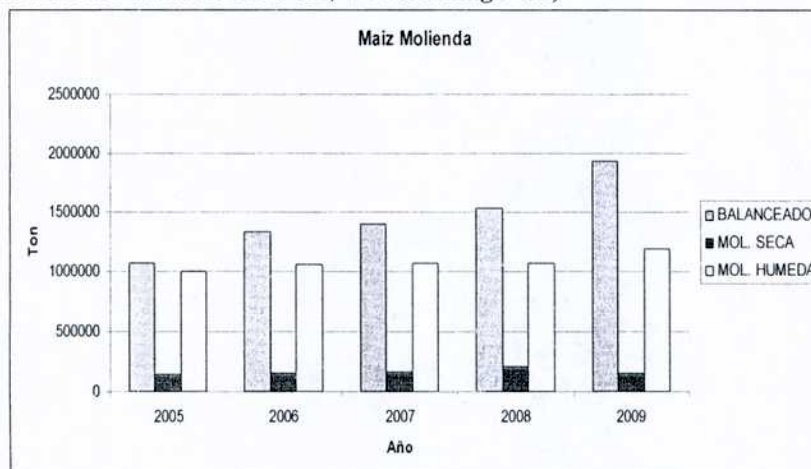


El eslabón correspondiente a la alimentación animal se ubica en superposición a las zonas de producción y considera el consumo en chacra junto a la fabricación de alimentos balanceados. Las principales actividades de este sector son la avicultura, la lechería y la ganadería de vacunos y porcinos.

Para el consumo humano se destinan los productos derivados de las industrias: la molienda húmeda y seca. La molienda húmeda constituye el eslabón de transformación que generan una gama de productos de alto valor agregado, que permiten obtener gran número de productos que se consumen en forma directa o son insumos de otras industrias.

Los volúmenes utilizados por la molienda húmeda, seca y la producción de balanceado muestra una tendencia al aumento en el tiempo. En el Gráfico 1.C se observa el incremento anual en el periodo 2005–2009 para los balanceados, seguido por la molienda húmeda. La molienda seca muestra un crecimiento similar hasta 2008 y en 2009 disminuye, sin embargo la variación total para el periodo analizado es positiva.

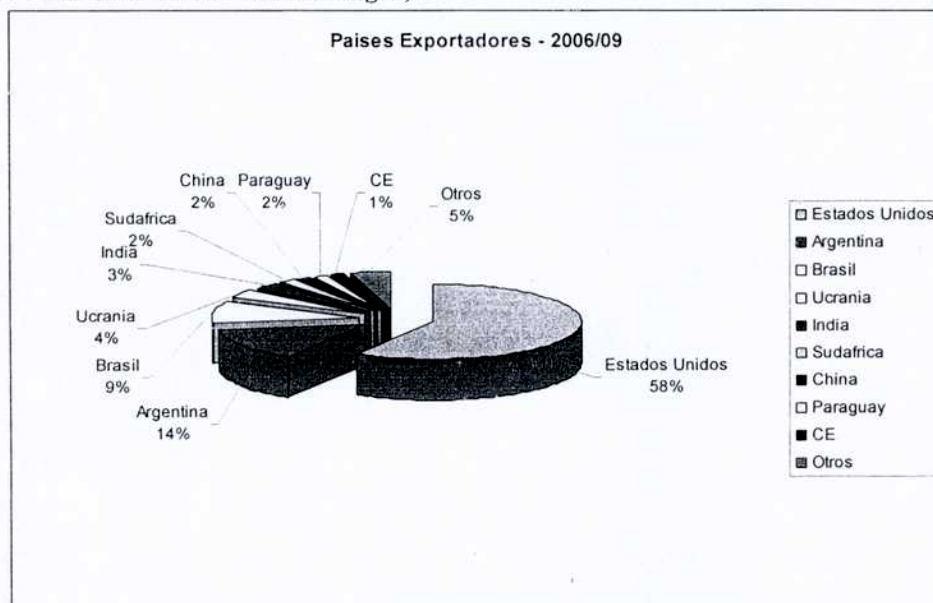
Gráfico 1.C: Producción de balanceado, molienda seca y molienda húmeda desde 2005 a 2009 (construido con datos de ONCCA, www.oncca.gov.ar)



Exportación

A mediados de los años 90, Argentina se consolida como segundo exportador mundial, con una participación en el comercio internacional del 12 % al 14 % (Gráfico 1.D). Las exportaciones se realizan en embarques de poco volumen desde los puertos argentinos hacia 50 países aproximadamente, distribuidos en los cinco continentes (Pouiller, 2005 y Ricca, 2006).

Gráfico 1.D: Promedios porcentuales de exportación de maíz durante los años 2006/2009 (Construido con datos de www.usda.gov).



Los datos oficiales de la SAGPyA (Tabla 1.7) muestran que los 5 principales destinos resultan cambiantes e inferiores a un 15 % del volumen total de la exportación Argentina.

Tabla 1.7: Principales países de destino de las exportaciones argentinas de maíz en miles de toneladas (Fuente: SAGPyA, 2003).

2000			2001			2002			2003		
País	Tn	%	País	Tn	%	País	Tn	%	País	Tn	%
Brasil	1459	14	Chile	1232	12	Chile	932.467	10	Egipto	1221.708	14
España	1386	13	Corea S.	995	9	Egipto	929.671	10	E. Árabes	770.37	9
Egipto	1121	10	Egipto	912	9	España	841.862	9	A. Saudita	658.894	7
Chile	1055	10	Malasia	649	6	Corea S.	753.926	8	España	602.618	7
Perú	628	6	Japón	511	5	Perú	712.489	8	Marruecos	511.739	6
Otros	5152	48	Otros	6413	60	Otros	5139.672	55	Otros	5094.861	58
Total	10801	100	Total	10712	100	Total	9310.087	100	Total	8860.19	100

Las exportaciones argentinas en décadas anteriores tenían como destino importante países del MERCOSUR. Esta situación se ha modificado y se debe al crecimiento de la producción de maíz en Brasil, que se ha transformado de país importador neto a exportador.

En las últimas campañas existe un predominio de los destinos asiáticos con elevada proporción de 2 países Japón y Corea del Sur. El Medio Oriente y el Norte de África, son otros importantes destinos. México es el principal comprador del continente americano. La Unión Europea, resulta otro importador de magnitud con compras variables de un año a otro.

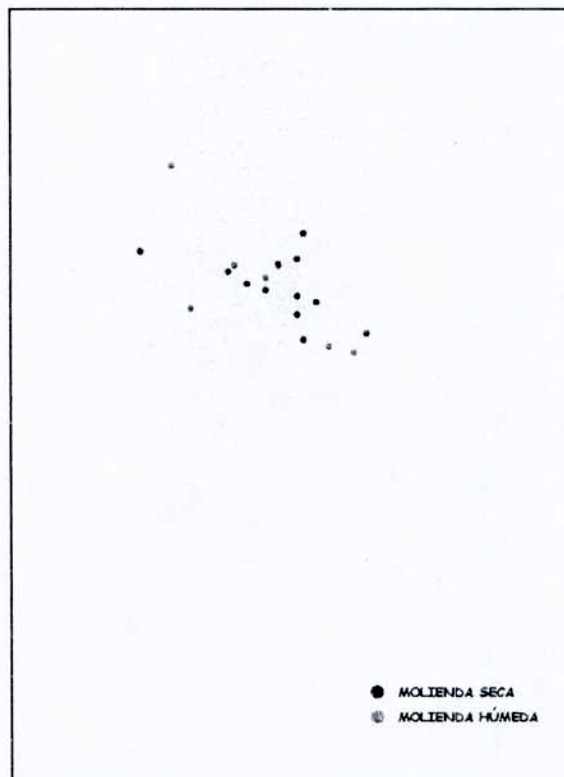
La diversidad de países de destino y el volumen total alcanzado demuestra que las exportaciones argentinas de maíz resultan muy competitivas, en cuanto a precio y calidad del grano.

El 80 % del volumen exportado se realiza a través de la zona conocida como “up-river” o puertos del corredor Rosario – Santa Fe. Los puertos del sur de la provincia de Buenos Aires alcanzan el 12 %, quedando el 8 % restante a puertos ubicados en el norte de Buenos Aires (Lima, San Pedro, San Nicolás).

Industrialización en Argentina

La industria de molienda húmeda y seca se concentra en la región pampeana, presentando otras localizaciones como puede observarse en la Figura 1.IV. La capacidad instalada, actualmente estimada en 1,33 millones de toneladas/año, se encuentra utilizada en un 79 %.

Figura 1.IV: Localización de la industria de maíz en Argentina (Pouiller, 2005)



A) Molienda Seca

El proceso de molienda seca consiste en la reducción del tamaño del grano y su posterior cernido y reclasificación a fin de separar las diferentes partes que conforman el grano (pericarpio, germen y endosperma).

Se pueden distinguir dos tipos de industria de molienda seca de maíz. En primer término, las dedicadas a la elaboración de expandidos y cereales para desayunos; en segundo orden las elaboradoras de harinas y sémolas para polenta, además del germen para producir aceite.

En el país hay alrededor de 70 molinos de molienda seca, en su mayoría muy pequeños. La mayor concentración de industrias se encuentra al norte de la Provincia de Buenos Aires, Gran Buenos Aires; Córdoba, Mendoza, Chaco, Entre Ríos y sur de Santa Fe con 14 establecimientos, y en segundo lugar, en el noroeste Argentino, especialmente Salta y Tucumán, con 9 plantas procesadoras.

Los envíos al exterior de los productos derivados de la molienda seca han tenido continuidad a lo largo de los últimos cinco años. Entre ellos, el producto que más se ha destacado es la harina de maíz a granel, exportada en envases no inferiores a 20 Kg.

B) Molienda Húmeda

El proceso de molienda húmeda recibe esta denominación pues el grano de maíz, previo a su ingreso al molino propiamente dicho, es sometido a un proceso de maceración en agua que facilita la separación de los diferentes componentes del grano.

Los productos primarios obtenidos del proceso de molienda húmeda son los siguientes: almidón (67 %), germen (9 %), gluten feed (16 %) y gluten meal (8 %). El gluten feed se utiliza principalmente para alimentos balanceados en bovinos, y el gluten meal como base proteica para alimentos balanceados en producción avícola.

En los últimos años se incorporaron importantes cambios en la tecnología de los procesos y en los equipamientos, ganando en calidad de producto y en economía de escala. A partir de la década del 80 se instalaron en nuestro país empresas que aplicaron nuevos procesos y se produjo el reemplazo del azúcar de caña por los nuevos productos en la industria de bebidas gaseosas, lo que dio sustento a esta industria.

Las plantas dedicadas a la molienda húmeda de maíz en nuestro país están ubicadas en las provincias de Córdoba, Tucumán, Santa Fe; San Luis y dos plantas en Buenos Aires.

1.3.3. Potencialidad del Crecimiento

El maíz ocupa un importante lugar en la agricultura de nuestro país y su precio es elevado respecto a décadas anteriores debido al crecimiento de la población mundial y la utilización de maíz como insumo en la producción animal, materia prima para la industria y la tendencia mundial hacia generación de energía (MAIZAR, 2008; FAO, 2009).

En los últimos años, la utilización de maíz para producir etanol, en el ámbito de los biocombustibles, demuestra la gran variedad de usos y aplicaciones que tiene este cereal (Pouiller, 2010).

Los principales sectores nacionales demandantes de maíz prevén un crecimiento en sus actividades, por ejemplo, avicultura, lechería, ganadería de

vacunos y porcinos, molienda húmeda y seca. Por otra parte, se pronostica un aumento del maíz con destino de etanol, biogas, biodiesel y materiales biodegradables (MAIZAR, 2008).

Las previsiones de crecimiento en el país se basan en que Argentina posee 122 millones de hectáreas de suelos cultivables y los 22 cultivos más importantes ocupan alrededor de 32 millones de estas hectáreas (MAIZAR, 2008).

1.4. RESIDUOS DE PESTICIDAS EN MAÍZ

El 14,2 % de los pesticidas usados en el mundo son utilizados para la producción de maíz (Racke, 2003). En Estados Unidos el 41 % del área cultivada de maíz es tratada con insecticidas y raramente con fungicidas. Las pérdidas de rendimiento ocasionadas por malezas, insectos y patógenos se estiman en 10 %, 12 % y 10 % respectivamente (Clark y col., 1998).

El Codex establece LMR para más de 30 residuos de pesticidas en maíz y la legislación nacional para unos 77 residuos de pesticidas (Resolución 507/2008 – SAGPyA).

En el año 2005, la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva - Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, consultó a diferentes organismos o especialistas del sector público y privado, con el fin de evaluar la importancia económica-sanitaria de los residuos de plaguicidas en el ámbito nacional. Del sector privado/empresarial participaron Asociación Argentina Pro Trigo (AAPROTRIGO), Asociación Maíz Argentino (MAIZAR), Asociación de la Cadena de la Soja (ACSOJA), Asociación Argentina de Girasol (ASAGIR) y Cámara de la Industria Aceitera de la República Argentina – Centro de Exportadores de Cereales (CIARA-CEC). Por el sector público científico/técnico los datos fueron suministrados por laboratorios de INTA, INTI, Centros de investigación y Universidades. Los resultados para el maíz revelaron que los residuos de pesticidas de interés son: Diclorvós; Clorpirifós-metil; Clorpirifós-Etil; Pirimifós-Metil; Fenitrotión; Malatión; Alfa-Endosulfán; Beta-Endosulfán; Endosulfán Sulfato; Permetrina; Cipermetrina; Fenvalerato; Deltametrina; Glifosato y Fosfuros Metálicos.

1.4.1. Propiedades físico-químicas

Las 5 propiedades físico-químicas fundamentales de los pesticidas que determinan su comportamiento en la separación analítica son: la presión de vapor, la solubilidad, el peso molecular, la hidrofobicidad (coeficiente de partición octanol/agua) y la constante de disociación ácida (Tabla 1.8).

Tabla 1.8: Propiedades físico-químicas más importantes para la metodología analítica.

	Análito	CAS	Familia	Modo de Acción	Peso Molecular	pKow	pKa (25°C)	Solub. en H ₂ O (mg/l, 20°C)	Presión de Vapor (Pa, 25°C)
1	Diclorovós	62-73-7	Organofosforado	Insecticida-Acaricida	221	1,9 (25°C)	N/Ioniz	18000 (25°C)	2,1
2	Clorpirifós-Metil	5598-13-0	Organofosforado	Insecticida-Acaricida	322,6	4 (20°C)	N/Ioniz	2,74	0,003
3	Pirimifós-metil	29232-93-7	Organofosforado	Insecticida-Acaricida	305,4	4,2 (pH 7, 20°C)	4,3	10 (pH 7)	0,002
4	Fenitrotión	122-14-5	Organofosforado	Insecticida	277,2	3,3 (25°C)	N/Ioniz	19 (20°C)	0,00068 (20°C)
5	Malatión	121-75-5	Organofosforado	Insecticida-Acaricida	330,4	2,75 (25°C)	N/Ioniz	148 (25°C)	0,00045
6	Clorpirifós	2921-88-2	Organofosforado	Insecticida	350,6	4,7 (20°C, neutral pH)	N/Ioniz	1,05 (20°C)	0,00143 (20°C)
7	Endosulfán-alfa	959-98-8	Organoclorado	Insecticida-Acaricida	406,9	4,74 (pH 5)	-	0,32 (22 °C)	1,2 (80°C)**
8	Endosulfán-beta	33213-65-9	Organoclorado	Insecticida-Acaricida	406,9	4,79 (pH 5)	-	0,33 (22 °C)	1,2 (80°C)**
9	Endosulfán-sulfato	1031-07-8	Organoclorado	-	422,95	-	-	-	-
10	Cipermetrina	52315-07-8	Piretroide	Insecticida	416,3	5,3 - 5,6 (25°C)	N/Ioniz	0,009 < (20°C)	2,3E-07 (20°C)
11	Permetrina	52645-53-1	Piretroide	Insecticida	391,3	6,1 (20°C)	-	0,006 (20°C, pH 7)	1x10 ⁻⁶ -2x10 ⁻⁶ (20°C)**
12	Fenvalerato/ Esfenvalerato	51630-58-1	Piretroide	Insecticida-Acaricida	419,9	5,01 (23°C)	-	0,01 < (25°C)	1,9E-05 (20°C)
13	Deltametrina	52918-63-5	Piretroide	Insecticida	505,2	4,6 (25°C)	N/Ioniz	0,0002 < (25°C)	1,24E-08 (25°C)

Nota: Tabla construida con datos obtenidos de EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009 y ** JMPR, 2001 "Monografías y Evaluaciones toxicológicas producidas por WHO/FAO Joint Meeting on Pesticide Residues".

Según sus estructuras químicas, los pesticidas estudiados, se agrupan en:

- Organofosforados
- Organoclorados
- Piretroides

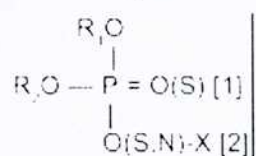
Debido a que una explicación detallada de las características de cada pesticida en estudio haría muy extensa esta sección, se detallarán únicamente las características más importantes de cada familia analizada.

1.4.2. Organofosforados

Aparecen durante la segunda guerra mundial con fines militares (gases neurotóxicos), y luego de la guerra, con un amplio uso agrícola. Se han registrado casos de insectos que desarrollaron resistencia a los organofosforados, debido principalmente al uso excesivo de estos insecticidas. Además, existe resistencia cruzada con los carbamatos. Estos problemas demandan el uso cuidadoso de dichos insecticidas y la no sobrecarga en el cultivo.

Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos (Yu, 2008; JMPR, 2001).

La estructura común de estos compuestos es la siguiente función éster:



En la que R₁ y R₂ son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo X es característico de cada especie química.

Dependiendo de los elementos concretos que ocupen determinadas posiciones en la molécula, los organofosforados se pueden dividir en 14 grupos, los más importantes son:

- fosfatos, con un O en las posiciones [1] y [2];
- O-fosforotioatos (o tionatos), con un S en [1] y un O en [2];

- S-fosfortioatos (o tiolatos), con un S en [2] y un O en [1];
- fosforoditioatos (o tiolotionatos), con un S en [1] y en [2];
- fosfonatos, con R₁ (en lugar de R₁O), O o bien S en [1] y O en [2]
- fosforoamidatos, con un O en [1] y un N en [2]

La estabilidad de los organofosforados depende del pH del medio; a pH fuertemente alcalino se descomponen, lo que puede ser utilizado para destruirlos (Yu, 2008; JMPR, 2001).

La exposición puede tener lugar por las tres vías clásicas: digestiva, inhalatoria y dérmica. Gran parte de estos compuestos son marcadamente apolares, son escasamente solubles en agua y tienden a disolverse en grasas. Por tal motivo, la piel, representa una importante vía de entrada. La vía digestiva directa se suele considerar como accidental (ingestión de una solución por error o con fines suicidas, o de alimentos directa o indirectamente contaminados).

Las transformaciones dentro del organismo se realizan a través de las llamadas esterasas “A”, enzimas que los hidrolizan disminuyendo su toxicidad. Las esterasas “B” (como la acetilcolinesterasa) al contrario, actúan aumentando su acción tóxica. La acetilcolinesterasa, además de encontrarse en los glóbulos rojos, regula la transmisión de los impulsos nerviosos en las terminaciones colinérgicas.

La mayoría de organofosforados y sus metabolitos se distribuyen rápidamente por todos los órganos y tejidos, antes de ser eliminados de manera prácticamente total por la orina y las heces (Krieger, 2010; Yu, 2008).

Diclorvós

Nombres comerciales: Herkol, Nogos, Nuvan, Phosvit, Vapona, etc.

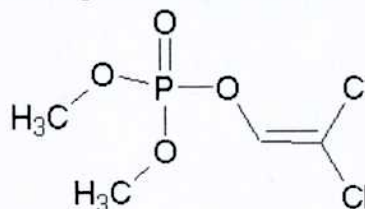


Figura 1. V: Diclorvós (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009)

En presencia de humedad se desintegra formando productos ácidos en un 3 % diario a temperatura ambiente. El diclorvos técnico es un líquido viscoso de incoloro a ambar y olor característico. Es corrosivo para el hierro.

Es un insecticida de contacto y estomacal. Utilizado principalmente para proteger productos almacenados y el ganado contra parásitos (JMPR, 2001).

Clorpirifós

Nombres comerciales: clorpirifós etil, *O,O*-dietil *O*-(3,5,6-tricloro-2-piridinil) éster de ácido fosfotioico, Dursban, Brodan, Eradex, Lorsban, Pyrinex, Gusvan, etc.

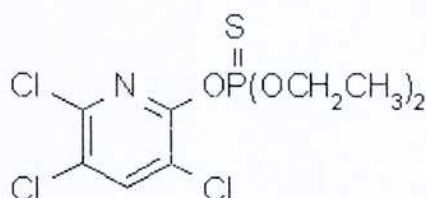


Figura 1.VI: Clorpirifós (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009)

Es un sólido blanco de apariencia cristalina y de aroma fuerte. No se mezcla bien con el agua, de manera que generalmente se mezcla con líquidos aceitosos antes de ser aplicado a los cultivos o a los animales.

El clorpirifós es un insecticida de amplio uso domiciliario, peri-domiciliario, agropecuario e industrial. El clorpirifós se ha utilizado en las casas para controlar las cucarachas, pulgas y termitas; también se ha usado como ingrediente activo en ciertos collares antipulgas para animales domésticos. En la agricultura se utiliza para controlar las garrapatas del ganado y se rocía en los cultivos para controlar las plagas (JMPR, 2001).

Clorpirifós Metil

Nombres comerciales: Reldan, Daskor, Triclorometilfos, etc.

Son cristales de color blanco, con ligero olor a mercaptano. Su evaporación y biodegradación son importantes tanto en suelos como en cuerpos de agua.

Es un insecticida, generalmente de uso agrícola, para tratamiento de granos almacenados y cultivos (JMPR, 2001).



Figura 1.VII: Clorpirifós Metil (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009)

Pirimifós Metil

Nombres comerciales: Actelic, Actellifog, Blex, etc.

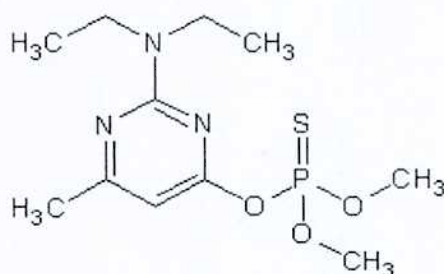


Figura 1.VIII: Pirimifós Metil (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009)

Es degradado rápidamente en el medio ambiente. Es un líquido color fresa que no presenta olor característico, por debajo de los 15°C es un sólido cristalino.

Es un plaguicida de amplio espectro. Usado en domicilios y en producción agropecuaria (almacenaje). Fumigante de acción rápida, de contacto y estomacal, ligeramente tóxico para mamíferos. Tiene acción translaminar cuando se rocía en plantas, de corta persistencia en las plantas y larga persistencia en superficies como las del grano almacenado (JMPR, 2001).

Fenitrotión

Nombres comerciales: Agrothion, Cytel, Cyfen, Fenitox, Folithion, Metathion, Novathion, etc.

Es un líquido amarillo-marrón, de olor fenólico. Es poco soluble en agua, pero altamente soluble en alcoholes, ésteres, cetonas e hidrocarburos

aromáticos. Es estable a temperatura ambiente, pero se descompone a temperaturas superiores a 145°C. Es hidrolizado en medio alcalino.

Fenitrotión es un insecticida que ha estado en uso desde 1959. Se utiliza en la agricultura para controlar insectos en arroz, cereales, frutas, verduras, granos almacenados, y el algodón. También usado para combatir los insectos en los bosques y para la mosca, mosquito y control de cucarachas en programas de salud pública (JMPR, 2001).

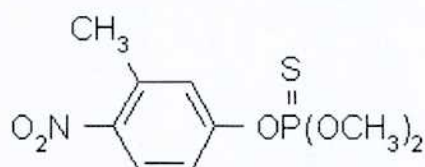


Figura 1.IX: Fenitrotión (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009)

Malatión

Nombres comerciales: American Cyanamid, Carbetovur, Carbetox, Carbofos, Carbophos, Celthion, Chemathion, Cimexan, Emmatos, Formal, For-Mal, Forthion, Fosfotion, Fosfotión, Malacide, Malafor, Malagran, Malakill, Malathion E50, Malathiozol, Malathiozoo, Malathon, Oleophosphothion, Ortho Malathion, Phosphothion, etc.

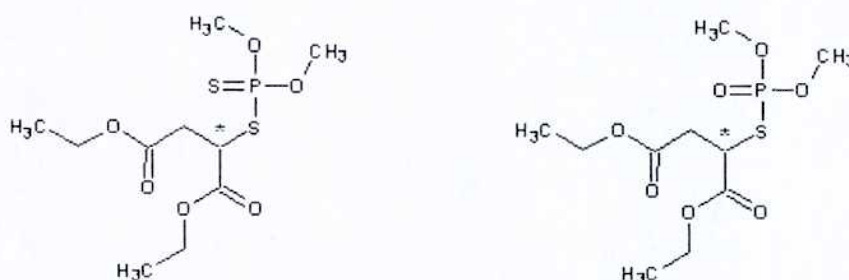


Figura 1.X: Malatión (izquierda) y malaoxón (derecha) (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

El malatión es un líquido ámbar claro. De baja toxicidad, sin embargo, en el cuerpo humano el resultado de su metabolismo produce malaoxón, que es mucho más tóxico. El malatión se hidroliza rápidamente a pH superior a 7 o por debajo de 5, pero es estable en solución acuosa tamponada a pH 5,26.

Un insecticida y acaricida de moderada toxicidad para mamíferos, y breve persistencia. Es ampliamente utilizado con fines agropecuarios, industriales, domiciliarios, peridomiciliarios.

1.4.3. Organoclorados

Este es un grupo de pesticidas de los más antiguos, son efectivos contra gran variedad de insectos. Estas sustancias químicas se introdujeron en la década de 1940, y debido a su persistencia medioambiental y los efectos adversos sobre la fauna y la salud humana muchos de sus usos han sido cancelados o restringidos (Arata, 1986).

Los insecticidas organoclorados son moléculas orgánicas de estructura cíclica y cloradas, aunque algunos contienen otros elementos, como oxígeno y azufre.

Se distinguen 5 grupos en función de su estructura molecular (Yu, 2008):

1- Grupo del DDT y análogos: metoxicloro y pertano.

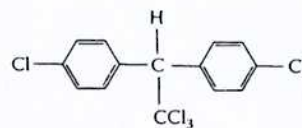


Figura 1.XI: DDT (fuente: Yu, 2008).

2- Hexaclorocicloexano: isómeros alfa, beta y gamma o lindano.

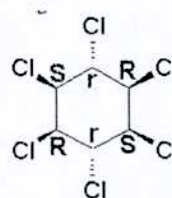


Figura 1.XII: Lindano (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

3- Ciclordenos: aldrín, endrín, dieldrín, clordano, endosulfán y heptaclor.

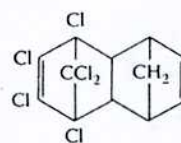


Figura 1.XIII: Aldrin (fuente: Yu, 2008).

4- Canfenos clorados: toxafén y clordecona.

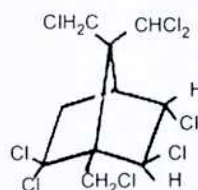


Figura 1.XIV: Toxafeno (fuente: Krieger, 2010).

5- Indenos Clorados: clordano, heptacloro.

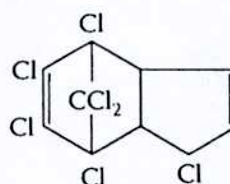


Figura 1.XV: Heptacloro (fuente: Yu, 2008).

El DDT (1943) fue casi un símbolo de veneno químico, debido a su difícil degradación y su gran acumulación en el tejido animal, característica que comparte con los demás integrantes del grupo. Aldrín, clordano, dieldrín, endrín, heptacloro, HCH (hexaclorociclohexano), lindano y toxafeno son organoclorados integrantes de la llamada “docena sucia” que engloba a aquellos pesticidas que más problemas ambientales han generado. Actualmente estas sustancias están prohibidas en Argentina y en casi todo el mundo (para casi todos los usos), debido a sus problemas de acumulación, a su alta estabilidad química, su gran estabilidad a la luz y su difícil degradación biológica (PNUMA, 2001).

Estas sustancias químicas son liposolubles, por lo que se encuentran en mayores concentraciones en los alimentos grasos. En la población general, la dieta es la principal fuente de exposición, principalmente a través de la ingestión de productos lácteos y pescado. El agua potable contaminada y el aire

son generalmente fuentes de menor exposición (Yu, 2008; Kriege, 2010).

En el organismo animal el proceso de biotransformación es catalizado por enzimas hepáticas. Este metabolismo favorece la eliminación por aumento de la polaridad de la molécula (favoreciendo la solubilidad en un medio acuoso como el sanguíneo). A veces los productos de esta acción enzimática son de toxicidad más elevada. Estas sustancias y sus metabolitos se eliminan de forma lenta a través de la orina, bilis, heces y leche materna (Yu, 2008; Kriege, 2010).

El mecanismo de acción tóxica de estas sustancias se debe a que interfiere en la transmisión del impulso nervioso del sistema nervioso central y se manifiesta como un cuadro de neurotoxicidad de variable intensidad. Aumentando la irritabilidad de las neuronas, a diferencia de los organofosforados no inhiben las colinesterasas. Los insecticidas organoclorados tienen un efecto tóxico agudo menor que los insecticidas organofosforados o los carbamatos, sin embargo el efecto crónico es mayor. En algunos casos inclusive, se ha comprobado que son carcinogénicos y mutagénicos (Yu, 2008; Kriege, 2010).

Endosulfán

Nombres comerciales: Thiodan; Benzoepin; Beosit; Chlorthiepin; Crisulfan; Cyclofan; Devisulphan; Endosol; Endosulphan; Ensure; Hildan; Thiodan; Insectophene; Malix; Thifor, Thimul; Thiodan; Thionex; Thiosulfan; Thiosulfan tionel; Thiotox; Tionex; Tiovel; etc.

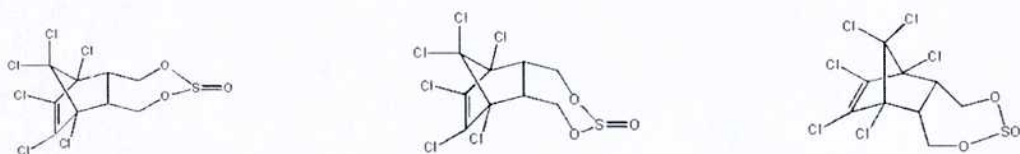


Figura 1.XVI: Endosulfán- α (izquierda), endosulfán- β (centro) y endosulfán sulfato (derecha) (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

Se presenta como cristales de color café, con olor similar a trementina. Se lo utiliza en agricultura y la industria.

El endosulfán técnico contiene dos estereoisómeros, endosulfán A (α) y B (β) en diversas proporción 04:01 a 07:03, respectivamente. El producto

técnico tiene un 90-95 % de pureza (mezcla de los dos isómeros), contiene pequeñas cantidades de endosulfán sulfato y químicos relacionados. Endosulfán α - y β - son isómeros conformacionales interconvertibles. α -Endosulfán es termodinámicamente mas estable (JMPR, 2001).

1.4.4. Piretroides

Las piretrinas son sustancias naturales obtenidas de la flor del crisantemo (*Chrysanthemum* spp.). Son bastante inestables a la luz y al calor, lo cual resta utilidad en la agricultura.

Los piretroides son sustancias sintetizadas de estructura similar y estabilidad mejorada respecto de las piretrinas. Su fabricación se remonta a la obtención de la Aletrina en 1949.

Los piretroides se absorben relativamente bien por los tractos gastrointestinal y respiratorio, pero a través de la piel intacta es escaso el ingreso. En el organismo son metabolizados rápidamente, por el hígado y eliminados por orina, generando poca toxicidad.

Son neurotóxicos, alterando la permeabilidad de la membrana de las neuronas. No inhiben las colinesterasas.

Algunos de ellos son sustancias estrogénicas ambientales, por tanto, interfieren los procesos hormonales de animales y personas. Pueden producir reacciones de tipo alérgicas hasta cuadros más severos. No se acumulan en el organismo y no persisten en el ambiente.

Cipermetrina

Nombres comerciales: Agrothrin, Ambush C, Ammo, Ardap, Arrivo, barricada, Cymbush, Cypercare, Cypercopal, Cyperkill, Cypermethrine, Cypersect, Cyrux, Demon, Dysect, Fastac, Fenom, Electron, Imperator, Nurelle, Polytrin, Ripcord, Rycopel, Sherpa, Siperin, Stockade, Toppel, etc.

Varía de un líquido amarillo viscoso a una masa semisólida cristalina a temperatura ambiente, sin olor. Es altamente estable a la luz y a temperaturas inferiores a los 220 °C. Es más resistente pH ácido que alcalino y en solución

acuosa sufre fotólisis moderada.

Es un compuesto que consta de 8 estereoisómeros. Los productos técnicos disponibles comúnmente contienen más del 90 % de cipermetrina y la relación de isómeros *cis* a *trans* varía de 50:50 a 40:60.

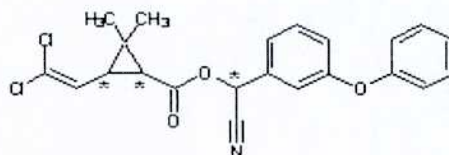


Figura 1.XVII: Cipermetrina (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

Se presenta comercialmente para uso agropecuario, urbano, domiciliario e industrial.

Permetrina

Nombres comerciales: Ambush, Coopex, Corsair, Dragnet, Dragon, Ectiban, Eksmin, Expar, Imperator, Kafil, Kestrel, Outflank, Permasect, Picket, Pounce, Pramex, Pynosect, Quamlin, Stomoxin, Talcord, etc.

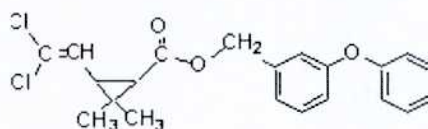


Figura 1.XVIII: Permetrina (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

La permetrina de calidad técnica es un líquido entre amarillo y marrón, viscoso y parcialmente cristalino a temperatura ambiente. Es altamente liposoluble. Se presenta en proporciones *cis:trans* de 25:75 a 40:60. El isómero *cis* es considerablemente más tóxico que el isómero *trans*. Es combustible y se descompone al arder, produciendo humos tóxicos e irritantes.

Es un insecticida de contacto eficaz contra una gran variedad de plagas que afectan la agricultura, producción animal, silvicultura y salud pública.

Deltametrina

Nombres comerciales: Butoflin, Butoss, Butox, Cislin, Crackdown, Decamethrin, Decis, Deltamethrine, Esbecythrín, K-Othrin.

La deltametrina de grado técnico es más del 98 % pura, de los 8 estereoisómeros posibles, contiene solo el *d-cis*. Se presenta como un polvo cristalino blanco inodoro, casi insoluble en agua, pero soluble en solventes orgánicos. Es estable a la luz, al calor (durante 6 meses a 40°C) y al aire, pero inestable en medios alcalinos (JMPR, 2001).

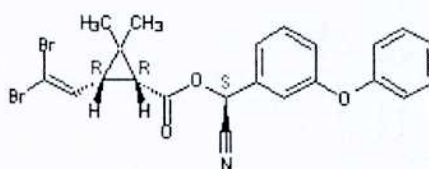


Figura 1.XIX: Deltametrina (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

Se utiliza sobre todo en el algodón (45 % del consumo) y en cultivos como el café, maíz, cereales, frutas, verduras, y el lúpulo, y en los productos almacenados. Deltametrina se utiliza también en la salud animal, en la lucha antivectorial, y en la salud pública (JMPR, 2001).

Fenvalerato

Nombres comerciales: Balmark, Belmark, Ectrin, Pydrin, Pyridin, Fenkill, Sanmartín, SD-43775, Sumibac, Sumicidin, Sumifleece, Sumifly, Sumipower, Sumitick, Sumkidin, Tirade, etc.

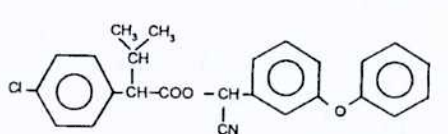


Figura 1.XX: Fenvalerato (fuente: EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009).

El producto técnico es un líquido viscoso amarillo o pardo con un leve olor químico. Es casi insoluble en agua pero soluble en solventes orgánicos. Es estable a la luz, el calor y a la humedad pero inestable en medio alcalino.

El fenvalerato tiene 4 estereoisómeros y la composición es de aproximadamente 1:1:1:1 ([2S, *alfa* S], [2S, R *alfa*], [2R, *alfa* S] y [2R, *alfa* R]) para cada isómero. El fenvalerato de grado técnico es 90 a 94 % puro.

Se comercializan para fines agrícolas y de jardinería.

Esfenvalerato

Nombres comerciales: Sumi-alpha, A alpha, S-5620A alpha, S-1844, S-5602alpha, Asana, etc.

El esfenvalerato es uno de los cuatro isómeros del fenvalerato. Esfenvalerato ([2S, *alfa* S]) es el componente biológicamente activo del fenvalerato.

Se comercializa con fines agrícolas e industriales.

1.5. ANÁLISIS DE PESTICIDAS

El uso extensivo de productos fitosanitarios y su toxicidad, condiciona a los gobiernos a regular su empleo, poniendo en práctica programas de control de residuos con diferentes objetivos como la evaluación toxicológica, la eficacia, la naturaleza y cantidad de residuos derivados de la aplicación de las distintas formulaciones comerciales. En la actualidad, el análisis químico de productos fitosanitarios en matrices medioambientales y alimenticias tiene una posición destacada para llevar a cabo estos controles.

El análisis de residuos de pesticidas en alimentos y muestras ambientales se ha realizado durante más de 40 años (Lehotay y col., 2002). Los métodos están orientados a la determinación del mayor número de pesticidas posibles (métodos multiresiduos). Idealmente, un método multiresiduo debería ser rápido y fácil de realizar, emplear mínimas cantidades de sustancias químicas (reactivos, solventes, etc.) y ser aplicable a gran número de analito/matriz.

1.5.1. Metodología QuEChERS

Los métodos de análisis de residuos de plaguicidas se pueden dividir en tres etapas básicas: extracción de los residuos, purificación o limpieza (*clean up*) y la determinación analítica (Motohashi y col., 1996). En este apartado solo expondremos algunos conceptos referidos a las dos primeras etapas.

Debido al gran número de pesticidas con diversas propiedades químicas (ácidos, básicos, neutros, etc.) y a la variedad de matrices alimenticias (polar, no polar, grasa, cerosa, etc.) generalmente las metodologías derivan en técnicas largas y con muchas etapas (Pico y col, 2007).

En general, los métodos multiresiduos oficiales aplican extracción líquida – líquida o extracción en fase sólida (Lehotay y col., 1997). Se prefiere extracción en fase sólida debido a su simplicidad y bajo costo (menor tiempo y cantidad de solvente). La extracción líquido – líquido tiene como desventajas procedimientos laboriosos que requieren mucho tiempo, generación de gran volumen de sustancias tóxicas y explosivas (solventes en algunos casos

clorados), etapas de evaporación de grandes volúmenes para concentrar los analitos y la escasa recuperación de plaguicidas polares (Motohashi y col., 1996; Picó y col., 2007).

Anastassiades y col., 2003(a) presentaron una metodología llamada QuEChERS, acrónimo del inglés: 'quick, easy, cheap, effective, rugged, safe' (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto y seguro). Es un método basado en extracción en fase sólida, pero dispersa en la muestra de alimento. Entre sus ventajas se cuentan el uso de 10 mL de acetonitrilo por muestra y unos pocos gramos de sales (para ajustar pH y eliminar agua), emplea equipamiento básico de laboratorio (pipetas, centrifuga, balanzas, etc.) y si se prepara el material con anterioridad es posible procesar 6 muestras en menos de 30 minutos.

La manera más eficiente de ahorrar tiempo, trabajo y dinero en el laboratorio es utilizar el menor número de métodos para la mayor cantidad de analitos (Lehotay y col., 1997). Tomando los conceptos generales de la metodología QuEChERS y aplicando ciertas modificaciones se ha logrado adaptarla para la determinación de otros contaminantes como Residuos de Drogas Veterinarias (antibióticos, antihelmínticos y anabólicos esteroides), ácidos carboxílicos perfluorados, alcaloides del ergot, acrilamidas y micotoxinas. Además, brinda la posibilidad de realizar los análisis en diferentes matrices como vegetales y frutas, vinos, granos, semillas, frutas secas, aceites, lácteos, matrices grasas, alimentos infantiles, matrices ambientales y tejidos animales (sangre, músculos, riñones, etc.) (Schenck y col., 2004; Fagerquist y col., 2005; Leandro y col., 2005; Posyniak y col., 2005; Díez y col., 2006; Dunovska y col., 2006; Leandro y col., 2006; Mastovska y col., 2006; Plossl y col., 2006; Cunha y col., 2007; Hercegova y col., 2007; Leandro y col., 2007(a) y(b); Aguilera-Luiz y col., 2008; Cajka y col., 2008; Hayama y col., 2008; Koesukwiwat y col., 2008; Kruve y col., 2008; Krska y col., 2008; Lee y col., 2008; Lesueur y col., 2008; Mastovska y col., 2008; Walorczyk, 2008; Banerjee y col., 2009; Dagnac y col., 2009; Kinsella y col., 2009; Stubbings y col., 2009; Wang y Leung, 2009; Zhang y col., 2009; Cunha y col., 2010; Gilbert-López y col., 2010; Nguyen y col., 2010; Xia y col., 2010; Wilkowska y col., 2011; Chen y col., 2011).

Se han reportado trabajos de validación sobre este método, su desempeño se ha demostrado en pruebas de aptitud alcanzando el nivel de metodología oficial de la AOAC (Lehotay, 2007) y de la Unión Europea (Herrmann y col., 2008).

Existen otras metodologías que no fueron seleccionadas para evaluar los plaguicidas en maíz debido a que no se cuenta con el equipamiento necesario como por ejemplo, la extracción con fluidos supercríticos, la extracción asistida por microonda y la extracción con solvente acelerada por líquidos presurizados.

1.6. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía es un método físico de separación, basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil. En cromatografía gaseosa, la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. Esta fase fija puede ser un sólido poroso (cromatografía gas-sólido), o bien una película líquida delgada que recubre un sólido particulado o las paredes de la columna (cromatografía gas-líquido). En el primer caso, el proceso de separación se produce por adsorción de los componentes de la mezcla sobre la superficie sólida y en el segundo, por partición de los mismos entre las fases líquida y gaseosa (Verde Calvo y col., 1999; Barry y col., 2007). La cromatografía gas-líquido es la más utilizada y es aplicada en el presente trabajo.

La cromatografía gaseosa es una herramienta analítica ampliamente utilizada en el análisis químico de los alimentos. Puede ser usada para el análisis directo de sustancias gaseosas, soluciones líquidas o sólidos volátiles. Si la muestra es no volátil se pueden utilizar técnicas de derivatización o pirólisis para su análisis (Verde Calvo y col., 1999).

Un sistema de cromatografía gaseosa puede simplificarse como en las Figuras 1.XXI y 1.XXII.

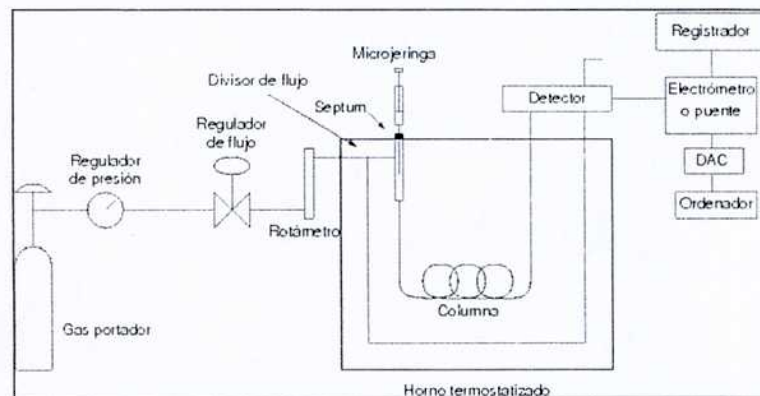


Figura 1.XXI: Esquema simplificado de un cromatógrafo gaseoso.

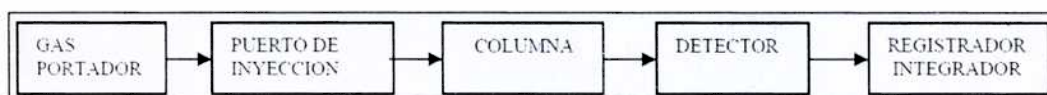


Figura 1.XXII: Esquema de los componentes básicos de un cromatógrafo gaseoso.

El gas portador (fase móvil) proviene de cilindros provistos con válvulas reductoras de presión. La muestra se introduce en el inyector con una microjeringa a través de un septum de goma. Allí se produce la vaporización de la misma y su introducción en la corriente de gas. La columna se halla dentro de un horno de temperatura variable, lugar donde se realiza la separación de los componentes de la muestra. El detector produce una señal eléctrica proporcional a la cantidad de materia a medida que cada componente separado fluye a través de él (Verde Calvo y col., 1999; FDA, 1999). Esa señal es enviada al registrador (PC) que realiza un gráfico de intensidad en función del tiempo (cromatograma) del tipo:

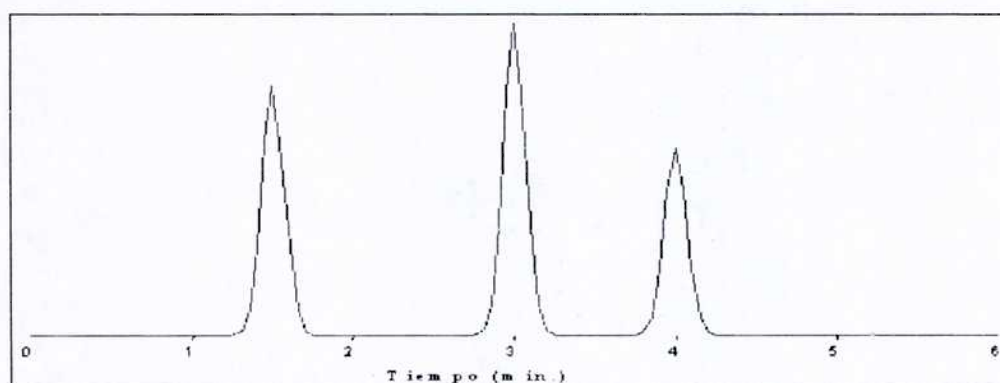


Figura 1.XXIII: Representación de un cromatograma.

Idealmente, se trata de picos gaussianos y cada pico corresponde a un componente de la muestra original. El integrador (o el software de control) calcula además el área correspondiente a cada pico, la cual es proporcional a la cantidad de analito.

Técnicas de introducción de muestra para cromatografía de gases

Como parte del sistema, el puerto de inyección ha sido constantemente optimizado para lograr una alta precisión en términos de tiempo de retención y el área de respuesta. El desarrollo de nuevas técnicas de introducción de muestras ha sido especialmente relevante para el análisis de alimentos ya que el problema asociado con interferencias de la matriz (*efecto matriz*) se produce tanto en el puerto de inyección y el detector. Estos efectos suelen producir una sobreestimación de la concentración del analito si la calibración se ha realizado en disolvente puro. Este efecto puede ser minimizado mediante la mejora de la técnica de inyección (Lacorte y Fernández-Alba, 2005).

A) Inyecciones en columna

Consiste en introducir la muestra en un inyector frío, donde las pérdidas de los compuestos más volátiles se reducen al mínimo. Esta técnica permite la transferencia no discriminatoria de los componentes de la muestra en el sistema de GC. Sin embargo, es frecuente la contaminación de la columna con sustancias no volátiles y por lo tanto el número de muestras que pueden ser analizados sin distorsión depende de la matriz. Como resultado de ello, este tipo de inyección para el análisis de plaguicidas, ha sido comúnmente aplicada para el estudio de muestras relativamente limpias, como agua (Liska y col., 1996; Grob y col., 1996; Engewald y col., 1999; Sherma, 2001; Shoemaker, 2002; Lacorte y Fernández-Alba, 2005; Hyotylainen, 2008).

B) Inyecciones split y split-less

Consisten en inyectar y vaporizar la muestra en la cámara o puerto de inyección. El sistema split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía sólo una pequeña fracción a la columna. El método splits-less dirige toda la muestra a la columna por un periodo de tiempo, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles. Para el análisis de plaguicidas, la inyección splits-less es la más utilizada (Grob y col., 1996; Bodalbhai y col., 1998; Fiddler y col., 1999; Van Hoof y col., 2001; Sherma, 2001; Akiyama y col., 2002; Chun y col., 2003; Anastassiades y col., 2003(b); Sannino y col., 2003; Albero y col., 2003; Lacorte y Fernández-Alba, 2005).

C) Vaporizador de temperatura programable (programmable temperature vaporiser, PTV)

Consiste en introducir la muestra en el inyector frío (temperatura por debajo o cerca del punto de ebullición disolvente), seguido de un rápido aumento de la temperatura y la posterior transferencia de analitos a la columna. No se produce degradación térmica ni pérdida de compuestos volátiles con esta técnica y la principal ventaja de PTV es la posibilidad de inyección de grandes volúmenes (large volume injection, LVI). Esta técnica reduce potencialmente los límites de detección. Realizando los ajustes necesarios, 1 mL de la muestra se puede introducir en el sistema de GC, lo que obviamente mejora la sensibilidad del método de análisis (Mol y col., 1995; Liska y col., 1996; Grob y col., 1996; Engewald y col., 1999; Sherma, 2001; Van Hoof y col., 2001; Shoemaker, 2002; Lacorte y Fernández-Alba, 2005; Hoh y col., 2008; Hyotylainen, 2008).

1.7. ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas (mass spectrometry, MS) da nombre a un conjunto de técnicas utilizadas para la determinación de la masa de iones y su abundancia en fase gaseosa. Este conjunto de técnicas es uno de los más versátiles e importantes en Química Analítica. Las técnicas de masas son capaces de suministrar información sobre la composición cualitativa y cuantitativa de analitos orgánicos e inorgánicos en muestras complejas, la estructura molecular, las relaciones isotópicas de los átomos en las muestras, y la estructura y composición de superficies (MacLaferty y col., 1993).

Las etapas de la espectrometría de masas son:

- generación de moléculas en fase gaseosa
- ionización
- separación en función de su relación masa /carga, m/z
- detección de los picos de los iones

Las tres partes básicas de un detector de espectrometría de masas son la *fente de ionización*, el *analizador* o filtro de masas y el transductor o *detector* (Figura 1.XXIV).

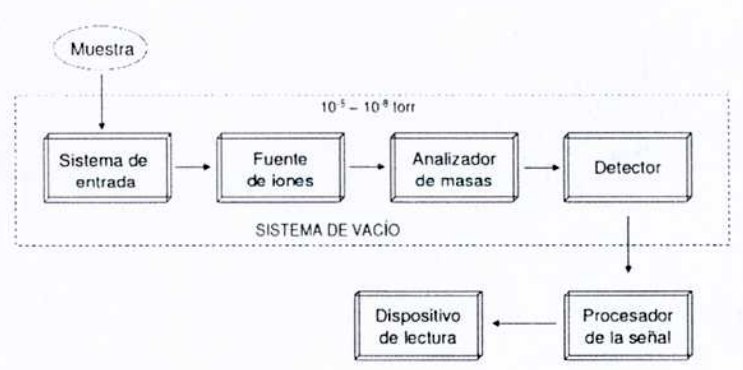


Figura 1.XXIV: Esquema simplificado de los componentes básicos de un espectrómetro de masas.

La zona donde se introducen las moléculas, se evaporan, se ionizan y se aceleran se llama *fente de ionización*. La muestra gaseosa se ioniza entre dos placas cargadas, las moléculas se rompen en fragmentos, algunos de los cuales están cargados (iones) y otros no. Se aceleran los iones por aplicación de un potencial eléctrico y se enfocan utilizando campos eléctricos y rendijas.

Los iones acelerados pasan desde la fuente de ionización a uno de los numerosos tipos posibles que hay de *analizadores de masas*. En la mayoría de los analizadores de masas se separan los iones en base a su relación m/z (masa/carga, m/z), de forma que llegan al detector en diferentes momentos. Esta pequeña corriente de iones se amplifica mediante el transductor, normalmente un *multiplicador* de electrones, que amplifica las corrientes de modo similar a un tubo fotomultiplicador (Skoog y col., 2001; MacLaferty y col., 1993).

El espectro de masas muestra las cantidades de masa recogidas a valores crecientes de la relación m/z . Cada pico del espectro da información sobre la masa molecular de un determinado fragmento de la molécula que lo originó. El fragmento de mayor tamaño suele ser la molécula sin fraccionar con pérdida de un electrón, $M^{+\bullet}$, con la adición de un protón, $[M+H]^+$, u otro fragmento. Del espectro de masas se deducen de forma inmediata el peso molecular del analito, M , y los pesos moleculares de los sustituyentes y de otras partes de la molécula (MacLaferty y col., 1993).

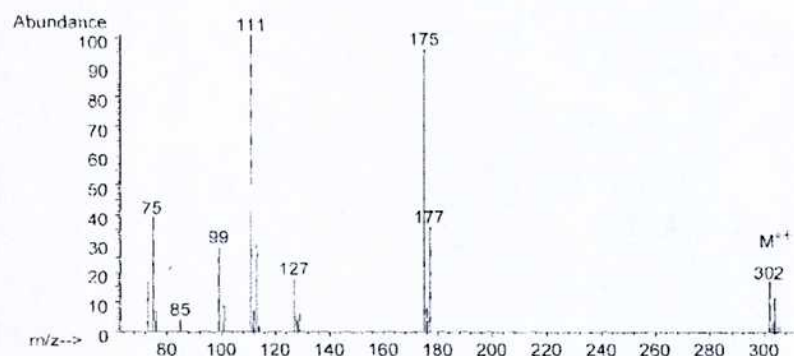


Figura 1.XXV: Representación de un espectro de masas.

1.7.1. Fuentes de ionización

Las fuentes de iones más habituales son las siguientes:

A) *Impacto electrónico (Electron Ionization, EI) e ionización química (Chemicals Ionization, CI)*

Los electrones requeridos para ionizar la muestra se emiten desde un filamento incandescente y se aceleran entre electrodos hasta alcanzar unos 70 eV. Las moléculas de la muestra se evaporan, y el haz de electrones pasa a través del vapor de la muestra provocando la formación de iones positivos:



Estos iones son repelidos fuera de la cámara, se enfocan y se introducen en el analizador de masas.

Las fuentes de ionización química utilizan un gas reactivo como mediador para “suavizar” las condiciones de ionización de la muestra. En la cámara de ionización se introduce el gas que va a actuar de mediador. El gas se ioniza por el haz de electrones, y a través de las subsiguientes reacciones que tienen lugar en fase gaseosa, acepta protones formando iones moleculares. Estos iones se adicionan a los solutos, dando lugar a diversos iones con más masa que las moléculas originales. Este ión se acelera a través del campo eléctrico hacia el analizador de masas.

Las fuentes EI y CI son habituales en cromatografía de gases (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

B) *Ionización por electronebulización (electrospray ionization, ESI)*

Es una técnica de ionización mucho menos agresiva que la EI y CI. En electronebulización a partir de una disolución que fluye a través de una aguja hueca sometida a un campo eléctrico de 5 – 10 kV cm⁻¹, se forman gotas pequeñas con carga eléctrica. De estas gotas se generan los iones en fase gaseosa. Los iones son atraídos hacia el orificio de entrada del analizador de masas mediante un segundo campo eléctrico. Dependiendo de la polaridad de

este campo, en el analizador de masas entran sólo los aniones (operación modo negativo, ESI -) o sólo los cationes (operación modo positivo, ESI +). El proceso de generación de los iones y de evaporación del disolvente son reacciones superficiales, y cualquier cambio sobre la superficie va a influir en el proceso.

Esta es una fuente muy utilizada en los acoplamientos HPLC-MS (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

C) Ionización química a presión atmosférica (atmospheric pressure Chemicals ionization, APCI)

Esta fuente de ionización es una modificación de la fuente ESI, útil para detectar moléculas difíciles de ionizar. En una fuente ESI la ionización se produce por efecto de un campo eléctrico durante la ionización, mientras que en APCI la nebulización y la ionización se producen secuencialmente. En este caso, electrones rápidos chocan con las moléculas de nitrógeno y las ionizan. El nitrógeno ionizado reacciona con las moléculas vaporizadas del disolvente, dando lugar a otros iones, que a su vez reaccionan con las moléculas e iones de los solutos. El resultado es una ionización compleja de la muestra, con fragmentos que no siempre tienen una interpretación fácil (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

D) Ionización por plasma acoplado inductivamente (inductively coupled plasma, ICP)

Se puede utilizar una antorcha de plasma acoplada inductivamente para atomizar e ionizar muestras en el análisis de trazas y ultratrazas de elementos. La antorcha trabaja a temperaturas del orden de 7000 K. A estas temperaturas los compuestos de las muestras se rompen reduciéndose por completo a elementos e iones en fase gas. El uso de ICP/MS tiene algunas limitaciones, ya que requiere un bajo contenido salino y el uso de disolventes orgánicos puede saturar la antorcha de plasma (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

E) Ionización basada en láseres pulsados

Existen dos fuentes de ionización diferentes que utilizan láseres pulsados para evaporar las superficies de los sólidos. La ablación por láser se utiliza para sublimar muestras sólidas que son difíciles de digerir químicamente. Se generan partículas mediante un láser pulsante, las cuales se introducen mediante un flujo de gas inerte dentro de una antorcha de plasma acoplada inductivamente. La ablación por láser-ICP se utiliza para el análisis de elementos.

Otra fuente de ionización por láser es la ionización por desorción asistida por láser (matrix assisted laser desorption ionization, MALDI). En este caso el láser calienta la muestra que contiene el analito y los componentes de la matriz para producir iones en fase gaseosa. Los iones MALDI se producen en un pulso corto en el tiempo. Es muy eficaz la combinación de la fuente de ionización MALDI con un espectrómetro de tiempo de vuelo (time of flight, TOF). Esta técnica acoplada, denominada MALDI-TOF, ha adquirido gran importancia en el análisis de muestras sólidas complejas, incluyendo material biológico (Lee, 2003; Barceló y col., 1997).

F) Bombardeo con átomos acelerados (fast atom bombardment, FAB)

Es una técnica de ionización basada en una etapa previa de evaporación por bombardeo con átomos de Xe. En la etapa de evaporación se proporciona a las moléculas la energía necesaria para romper los enlaces entre los analitos y la matriz sin destruir los analitos. En la etapa de ionización, los mismos átomos acelerados que han formado el vapor iónico o molecular provocan la formación de iones $[M^+H]^+$ y diversos fragmentos de menor masa.

1.7.2. Analizadores de masas

La función de los analizadores de masas es la de separar iones con diferentes relaciones m/z . Existen diferentes tipos de analizadores.

A) Analizadores de sector magnético

Utilizan un imán permanente para hacer que el haz de iones de la fuente se mueva en una trayectoria circular de 180, 90 o 60 grados. Se puede llevar a cabo un barrido de masas de los iones variando la fuerza del campo magnético. Los iones que pasan a través de la rendija de salida se recogen en un electrodo colector y dan lugar a una corriente eléctrica que se amplifica y se registra. Estos espectrómetros se conocen a menudo como de enfoque simple (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

B) Analizadores de doble sector magnético o doble enfoque

En los instrumentos de doble enfoque se miden las masas atómicas y moleculares con mayor precisión. Utilizando combinaciones seleccionadas de campos magnéticos y electrostáticos se minimizan las aberraciones direccionales y de energía de los iones (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

C) Filtro de masas cuadrupolar

Suelen ser más compactos y más robustos que los de sector magnético. La separación se realiza mediante un campo eléctrico variable en el tiempo. El filtro se construye a partir de cuatro barras metálicas paralelas a las que se aplica una componente de corriente alterna y otra de corriente continua de igual magnitud y signo opuesto. Esto permite que sólo los iones con m/z específicas lleguen al detector, mientras que los demás toman otras trayectorias. La trayectoria es única para cada valor de m/z .

El triple cuadrupolo es una combinación de tres filtros cuadrupolares en serie. Permite realizar estudios de fragmentación y alcanzar selectividades muy elevadas (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

D) Trampa de iones cuadrupolar

Una trampa de iones permite analizar cationes y aniones en un amplio rango de valores de m/z . Los iones se pueden confinar en un espacio reducido durante largos periodos de tiempo por la acción de campos eléctricos y magnéticos. La capacidad para retener iones en la trampa permite obtener

grandes conjuntos de iones hijos empleados para MS^2 . Estos iones hijos pueden ser de nuevo aislados y fragmentados para MS^3 , y así sucesivamente. Las fragmentaciones en el interior de la trampa se consiguen mediante colisiones con moléculas de He (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

E) Tiempo de vuelo (TOF)

Los iones procedentes de la fuente de ionización pasan a un tubo de desplazamiento de un metro de longitud que separa las masas sin aplicación de ningún campo. Un impulso electromagnético comunica una determinada cantidad de energía cinética a un paquete de iones para realizar el recorrido por el tubo. Debido a que todos los iones tienen idealmente la misma energía cinética, los iones con distintas masas adquirirán distintas velocidades y por lo tanto llegarán al detector con diferentes “tiempos de vuelo”. La característica más importante de un TOF es su elevada exactitud para establecer masas con errores del orden de pocas partes por millón (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

1.8. ACOPLAMIENTO GC-MS

Los espectrómetros de masas se pueden acoplar con cromatógrafos de gases (GC/MS), de líquidos (LC/MS), de fluidos supercríticos (SFC/MS) o con sistemas de electroforesis capilar (CE/MS).

Para mostrar todos los componentes que han sido eluidos durante la separación se grafica un cromatograma de iones totales (total ion chromatogram o total ion current trace, TIC). La intensidad en el TIC es la suma de las respuestas del detector a todos los iones presentes en cada momento. Cuando el cromatograma se registra a un valor m/z único (o para unos pocos valores de m/z), en lugar de hacer un barrido en un intervalo de m/z , la técnica se denomina modo de monitoreo de iones seleccionados (selected ion monitoring, SIM) (Barceló y col., 1997; MacLaferty y col., 1993).

1.9. CALIDAD EN LABORATORIOS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS

Los laboratorios analíticos deben ofrecer servicios con validez técnica para la correcta toma de decisiones de los usuarios de los resultados. La calidad de estos servicios se basa en la confiabilidad y uniformidad de las mediciones, cuyo fundamento está establecido en la trazabilidad y en la incertidumbre de las mismas.

La validez de los resultados y las exigencias de los países compradores son otras consideraciones que se deben hacer en un laboratorio que realiza análisis de residuos de pesticidas en productos agroalimentarios. En la Resolución 138/2002 – SENASA y posteriores modificaciones se remarca la necesidad de acreditar los ensayos de análisis según Norma ISO/IEC 17025:2005: “...Laboratorios de Referencia de los países compradores como los pertenecientes a la Unión Europea, Estados Unidos de América, Canadá, Australia, etc. están acreditados por dicha Norma y exigen que este Laboratorio también lo esté para poder aceptar como válidos los resultados analíticos que emite....” (Disposición 125/2006 – SENASA).

1.9.1. Norma ISO/IEC 17025:2005

Esta norma lleva el nombre de “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”. Constituye una guía útil con criterios a cumplir en un laboratorio en busca de acreditar sus ensayos. Los requisitos técnicos y de gestión se enumeran junto a su explicación. Sin embargo, no describe como lograr el cumplimiento.

El capítulo de gestión refiere pautas que el laboratorio debe cumplir para demostrar que las actividades “no técnicas” del laboratorio se realizan bajo un Sistema de Gestión de la Calidad (basado en norma IRAM – ISO 9001). Los requisitos son: Organización; Sistema de calidad; Control de documentos; Revisión de solicitudes, licitaciones y contratos; Subcontratación de ensayos; Compra de servicios; Servicio al cliente; Reclamos; Control de no

conformidades; Acción correctiva; Acción preventiva; Control de registros; Auditorías Internas y por último Revisiones de la Dirección.

El capítulo de requisitos técnicos realiza recomendaciones para identificar, entender y controlar los factores que condicionan la exactitud y la confiabilidad de las mediciones: Personal; Instalaciones; Validación – Incertidumbre; Equipo; Trazabilidad; Muestreo; Manejo de muestras; Aseguramiento de la calidad y el Informe.

1.10. OBJETIVOS DEL TRABAJO

La utilización de plaguicidas es una herramienta importante del sector agropecuario. Es utilizada para aumentar el rendimiento de la producción y proteger la salud vegetal desde el cultivo hasta el destino final (consumo o industrialización).

Los plaguicidas son sustancias muy tóxicas para la salud humana y su utilización negligente puede producir intoxicación en humanos y animales o contaminación ambiental. A pesar de sus efectos negativos, difícilmente se pueda prescindir del control químico en la lucha contra las plagas. Como consecuencia, las autoridades nacionales redactan legislaciones, con el fin de beneficiar el comercio alimentario y proteger a los consumidores.

La producción Argentina de maíz muestra una tendencia al crecimiento desde las primeras campañas de 1990, promediando las 20 millones de toneladas entre las campañas 2006 – 2009. El principal destino de esta producción es la exportación, superando el 60 % y ubicando a la Argentina como el segundo exportador mundial de este grano desde mediados de la década de los 90.

Durante la campaña 2007-2008 se llevó a cabo un amplio muestreo de maíz, en el marco del proyecto INTA (PNCER 3353: “Identificación de situaciones de riesgo, desarrollo y validación de métodos de prevención de la contaminación pre y poscosecha”). Se involucraron las principales zonas portuarias de Argentina, en las que se comercializan más del 80% de las exportaciones de maíz.

La validez de los resultados analíticos y las exigencias de los países compradores son consideraciones a tener en cuenta en un laboratorio que realiza análisis de residuos de pesticidas en productos agroalimentarios. Además, una forma de ahorrar tiempo, trabajo y dinero en el laboratorio es utilizar el menor número de métodos para la mayor cantidad de analitos.

En 2003, se presentó una metodología llamada QuEChERS, es un método basado en extracción en fase sólida, pero dispersa en la muestra. Entre

sus ventajas se cuentan el uso de 10 mL de acetonitrilo por muestra y unos pocos gramos de sales, emplea equipamiento básico de laboratorio y si se prepara el material con anterioridad es posible procesar 6 muestras en menos de 30 minutos. Se han reportado trabajos de validación sobre el método QuEChERS en matrices vegetales y frutales, su desempeño se ha demostrado en pruebas de aptitud alcanzando el nivel de metodología oficial de la AOAC (AOAC Official Method 2007.01, “Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate”) y de la Unión Europea (Método “EN 15662: Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method”). Tomando los conceptos generales de la metodología QuEChERS y aplicando ciertas modificaciones se ha logrado adaptarla para la determinación de otros contaminantes como residuos de drogas veterinarias, ácidos carboxílicos perfluorados, alcaloides del ergot, acrilamidas y micotoxinas. Además, brinda la posibilidad de realizar los análisis en diferentes matrices como vegetales y frutas, vinos, granos, semillas, frutas secas, aceites, lácteos, matrices grasas, alimentos infantiles, matrices ambientales y tejidos animales.

Por lo expuesto se propuso analizar los residuos de pesticidas en muestras de maíz obtenidas de la cosecha 2007/2008, con los siguientes objetivos.

Objetivos generales:

- Obtener información de los niveles y frecuencia de los principales residuos de pesticidas presentes en granos de maíz de Argentina.

Objetivos específicos

- Puesta a punto de metodología multiresidual utilizando cromatografía gaseosa en el marco de un Sistema de Gestión de la Calidad basado en Norma ISO17025:2005.
- Evaluación de los niveles y frecuencia de los residuos encontrados en

231 muestras de granos de maíz argentino (campana 2007/2008) provenientes de muestreo basado en la Norma ISO 950:1979.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

En base al presupuesto manejado por el laboratorio y con el fin de limitar el análisis a un único procedimiento de trabajo se decidió trabajar con la lista elaborada por Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (*Capítulo 1.4.*), quitando glifosato y fosfuros metálicos. En el laboratorio se estudio Diclorovós, Clorpirifós Metil, Clorpirifós Etil, Pirimifós Metil, Fenitrotión, Malatión, Endosulfán, Permetrina, Cipermetrina, Deltametrina, Fenvalerato y Esfenvalerato.

2.1.1. Drogas y solventes

Acetonitrilo: grado HPLC (Sintorgan, código N° 008008-01).

Ácido Acético glacial (AcH): grado HPLC (Sintorgan, código N° 009008-01).

Acetato de sodio: anhidro grado reactivo analítico ACS (Sigma-Aldrich, código N° 52738-U).

Tolueno: grado HPLC (Sintorgan; código N° 120008-01).

Agua desionizada: de purificador (ELGA, modelo Purelab Classic).

Sulfato de Magnesio: anhidro grado p.a. (Sigma-Aldrich, código N° 63135).

Amina Primaria secundaria (PSA): 50 µm de tamaño de partícula (Sigma-Aldrich, código N° 52738-U).

Octadecano unido químicamente a sílica porosa (C18): 50 µm de tamaño de partícula (Sigma-Aldrich, código N° 52600-U).

2.1.2. Reactivos

Solución de ácido acético al 1% en acetonitrilo (v/v): en un matraz aforado de 1000 mL se cargan 10 mL del ácido con una pipeta graduada de vidrio. Luego se añade acetonitrilo hasta el aforo, se tapa y se homogeniza. Por último, se trasvasa a un frasco de vidrio con dispensador.

Tubos de Extracción: en tubos de fondo cónico de 50 mL de polipropileno (PP) se colocan 1,5 g de acetato de sodio anhidro y 6 g de sulfato de magnesio anhidro a cada tubo.

Tubos de Limpieza: en tubos de centrifuga de 2 mL de PP se colocan 50 mg de PSA, 50 mg de C18 y 150 mg de sulfato de magnesio anhidro.

2.1.3. Preparación de Patrones

2.1.3.1. Patrones

En la Tabla 2.1.se detallan los productos comerciales empleados. Todos ellos son distribuidos como patrones analíticos y sus purezas determinadas cromatográficamente.

Tabla 2.1.Lista de patrones utilizados para el análisis cuantitativo de los residuos de plaguicidas.

Patrón	CAS	Pureza (%)	Estado Físico	Marca
Diclorvós	62-73-7	100	líquido	AccuStandard
Clorpirifós-metil	5598-13-0	99,9	sólido	Sigma-Aldrich
Clorpirifós-Etil	2921-88-2	99,9	sólido	Sigma-Aldrich
Pirimifós-Metil	29232-93-7	99,5	líquido	Sigma-Aldrich
Fenitrotión	122-14-5	95,2	líquido	Sigma-Aldrich
Malatión	121-75-5	96,1	líquido	Sigma-Aldrich
Alfa-Endosulfán	959-98-8	99,6	sólido	Sigma-Aldrich
Beta-Endosulfán	33213-65-9	99,4	sólido	Sigma-Aldrich
Endosulfán Sulfato	1031-07-8	98,5	sólido	Sigma-Aldrich
Permetrina	52645-53-1	98	sólido	Sigma-Aldrich
Cipermetrina	52315-07-8	95,1	líquido	Sigma-Aldrich
Fenvalerato	51630-58-1	99,0	sólido	Sigma-Aldrich
Esfenvalerato	66230-04-4	97,0	sólido	Sigma-Aldrich
Deltametrina	52918-63-5	98,0	sólido	Sigma-Aldrich
Hexaclorobenceno	118-74-1	99,0	sólido	Sigma-Aldrich
Trifenil fosfato	115-86-6	99,0	sólido	Sigma-Aldrich

2.1.3.2. Preparación de Soluciones Patrón

Se utilizó material volumétrico de vidrio calibrado con certificado válido de trazabilidad al Sistema Internacional de Unidades.

Todas las disoluciones y diluciones se realizaron corrigiendo los volúmenes de forma gravimétrica, a fin de disminuir la incertidumbre del método (Ávila y col., 2004; Stepan y col. 2004; Herrera de Pablo y col., 2007; Document SANCO No.10684/ 2009).

En todos los casos los patrones se almacenaron en congelador a -20 °C al abrigo de la luz y la humedad. Antes de ser utilizados se colocaron en un desecador al abrigo de la luz y se dejaron reposar durante una noche a temperatura ambiente (Document SANCO No.10684/2009).

2.1.3.2.1. Soluciones Patrón de Reserva de 10 mg/mL

El solvente utilizado fue Tolueno para todos los analitos (Document SANCO No.10684/2009; Gamón y col., 2001; Lehotay, 2006; Lehotay y col., 2005 (a)).

- *Patrón Sólido de contenido mayor a 50 mg:*

Se pesó un matraz con su tapa, en balanza analítica (0,0001 g).

Se pesó 0,1 g del patrón en un vaso de precipitado, en balanza analítica.

Se disolvió el patrón con una alícuota de tolueno.

Se transfirió el analito disuelto al matraz y luego se lavó el recipiente con pequeñas porciones del solvente que luego fueron incorporadas al matraz.

Se llevó a volumen con tolueno, se tapó y registró el peso de la solución.

Se agitó vigorosamente por unos segundos, luego se sonicó por 5 min.

Se trasvasó a un matraz no certificado y se almacenó en congelador a -20 °C.

- *Patrón líquido o sólido de contenido menor o igual a 50 mg:*

Se procedió de igual manera que en el caso anterior, sin embargo la dilución o disolución del patrón se realizó en el frasco, utilizando todo su contenido.

2.1.3.2.2. Solución de Reserva de HCB de 2 mg/mL

El Hexaclorobenceno (HCB) fue el estándar subrogado o estándar interno (Herrmann y col., 2008).

Se preparó la solución de HCB en tolueno siguiendo las indicaciones del *Punto 2.1.3.2.1.*

2.1.3.2.3. Solución de Reserva de TPP de 2 mg/mL

El Trifenil-fosfato (TPP) fue el estándar interno de ionización (Herrmann y col., 2008).

Se preparó la solución de TPP en tolueno siguiendo las indicaciones del *Punto 2.1.3.2.1.*

2.1.3.2.4. Solución Mezcla de Patrones de Pesticidas

Se realizó las diluciones correspondientes para obtener una solución de 500 µg/mL para cada analito:

En un matraz de 100 mL se colocó 10 mL AcH al 1% en acetonitrilo, luego se agregó cantidades necesarias de las *Soluciones Patrón de Reserva de 10 mg/mL* para obtener 500 µg/mL de cada pesticida. Luego se llevó a volumen con acetonitrilo.

2.1.3.2.5. Solución de Trabajo HCB de 20 µg/mL

Se pesó una alícuota de *Solución de Reserva de HCB* en un matraz de 25 mL y se diluyó con acetonitrilo para obtener una solución de concentración de 20 µg/mL.

2.1.3.2.6. Solución de Trabajo de TPP de 2 µg/mL

Se pesó una alícuota de *Solución de Reserva de TPP* en un matraz de 25 mL y se diluyó con acetonitrilo hasta el aforo para obtener una solución de concentración de 2 µg/mL.

2.1.3.2.7. Soluciones Mezcla de Patrones para Calibración

En 14 matraces de 25 mL, se colocó 50 μ L de la *Solución de Reserva de HCB de 2 mg/mL*; 2,5 mL de solución de AcH al 1% en acetonitrilo y cantidad suficiente de *Solución Mezcla de Patrones de Trabajo de Pesticidas de 500 μ g/mL* para obtener los siguientes niveles: 0,05 μ g/mL; 0,07 μ g/mL; 0,15 μ g/mL; 0,2 μ g/mL; 0,35 μ g/mL; 0,7 μ g/mL; 1,5 μ g/mL; 2,5 μ g/mL; 3,5 μ g/mL; 4,5 μ g/mL; 7 μ g/mL; 10 μ g/mL; 20 μ g/mL y 35 μ g/mL. Luego se llevó a volumen con acetonitrilo.

2.1.3.2.8. Soluciones Mezcla de Patrones para Fortificación

En 8 matraces de 10 mL cada uno se agregó 1 mL de solución de AcH al 1% en acetonitrilo y cantidad suficiente de *Solución Mezcla de Patrones de Trabajo de Pesticidas de 500 μ g/mL* para lograr los siguientes niveles de concentración: 0,1 μ g/mL; 0,2 μ g/mL; 0,3 μ g/mL; 0,4 μ g/mL; 0,7 μ g/mL; 1,5 μ g/mL; 3,5 μ g/mL y 6 μ g/mL. Luego se llevó a volumen con acetonitrilo.

2.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de granos de maíz para el trabajo de tesis se obtuvieron en el marco del proyecto INTA de ámbito nacional (PNCER 3353: “Identificación de situaciones de riesgo, desarrollo y validación de métodos de prevención de la contaminación pre y pos cosecha”) del cual participa SENASA a través de un convenio institucional.

El muestreo (según Norma ISO 950-1979) fue realizado durante la campaña 2007-2008 por personal entrenado de SENASA.

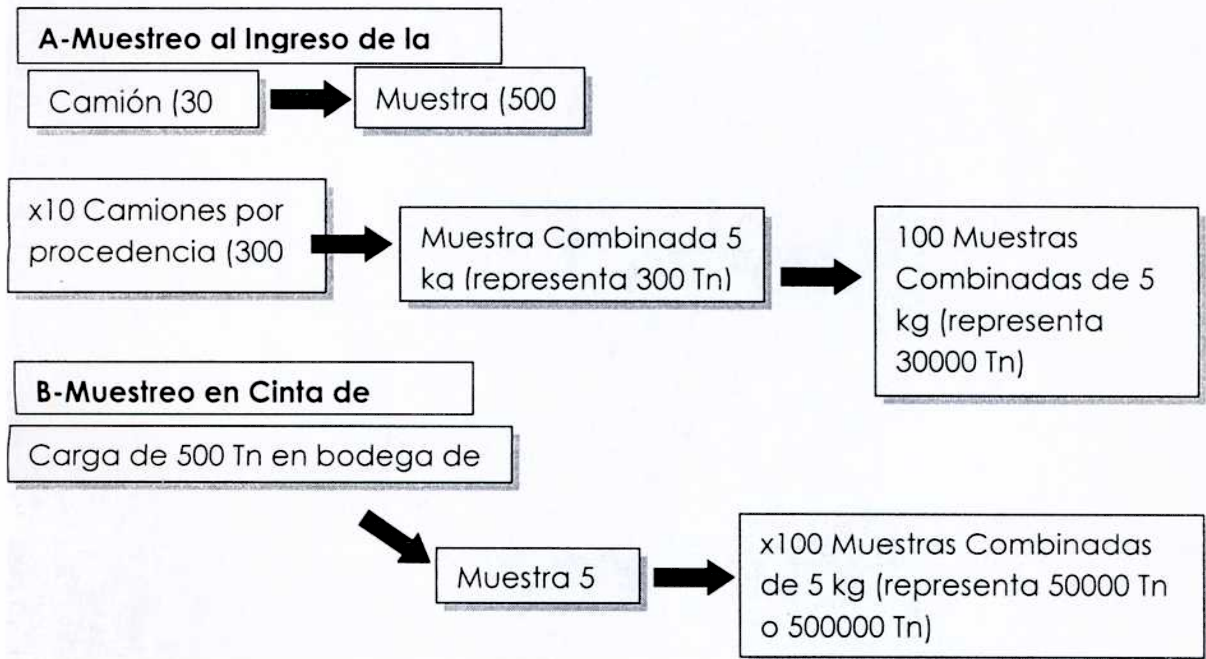
Las muestras proceden de las principales zonas portuarias (del Río Paraná y del sur de la Provincia de Buenos Aires), que manejan más del 80 % de las exportaciones del país (Ingeniero White; Rosario/San Martín/San Lorenzo; Villa Constitución y Quequén).

Se obtuvieron 231 muestras, tomadas al ingreso de los depósitos en las terminales y en las cintas de embarque de los buques (Figura 2.I).

La molienda de los granos se realizó bajo la supervisión de personal del SENASA y luego fueron remitidas al laboratorio empaquetadas, selladas y rotuladas para su posterior análisis.

Muestras Blanco: procedieron de la Estación Experimental del INTA en Manfredi. No recibieron ningún de tratamiento con los plaguicidas investigados y además no se detectaron residuos de pesticidas. Previo a su utilización en este trabajo se mezcló el material de forma de obtener una sola muestra blanco. Luego se fraccionaron en porciones de 5 g en tubos de PP con tapa y se almacenaron a -18 °C.

Figura 2.1: Esquema de muestreo realizado para el trabajo en: A-Terminal Portuaria; B-Cintas de Embarque



2.3. MÉTODO ANALÍTICO

En el laboratorio, las muestras de maíz molido se cuartearon obteniendo submuestras de 500 g. Luego se tomaron 2 alícuotas de 5 g en tubos de PP por cada muestra y se almacenaron a -18 °C, para mejorar la estabilidad de aquellos residuos termosensibles (Lyn y col., 2005; Lehotay, 2006; Fussell y col., 2002 y 2007; Reynolds, 2005; Anastassiades y col., 2005; Hill y col., 2000, Tiryaki y col., 2008).

A continuación se describe el método empleado, basado en el procedimiento QuEChERS (AOAC Official Method 2007.01, “Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate”) con las modificaciones realizadas para el maíz.

2.3.1. Acondicionamiento de las Muestras

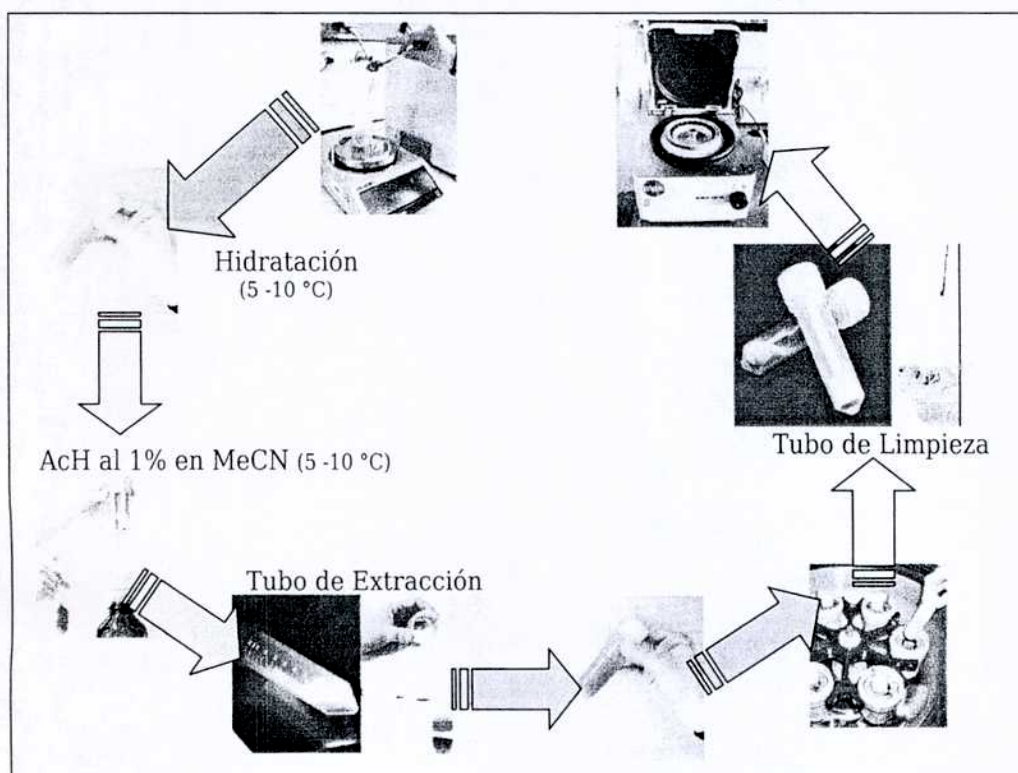
- Las muestras se retiraron del freezer.
- A cada una se le añadió 150 µL de *Solución de Trabajo HCB de 20 µg/mL*. Se dejó reposar 5 minutos.
- Se agregó 10 mL de agua desionizada fría (5-10 °C) y se agitó manualmente unos segundos.
- Se sonicó durante 5 minutos.

2.3.2. Extracción y limpieza

- Se agregó 15 mL AcH al 1% en acetonitrilo entre 5 – 10 °C.
- Se añadió el contenido de un *Tubo de Extracción* (1,5 g de acetato de sodio anhidro y 6 g de sulfato de magnesio) a cada muestra. Inmediatamente se agitó manualmente durante 1 minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 3 minutos a 5 °C.

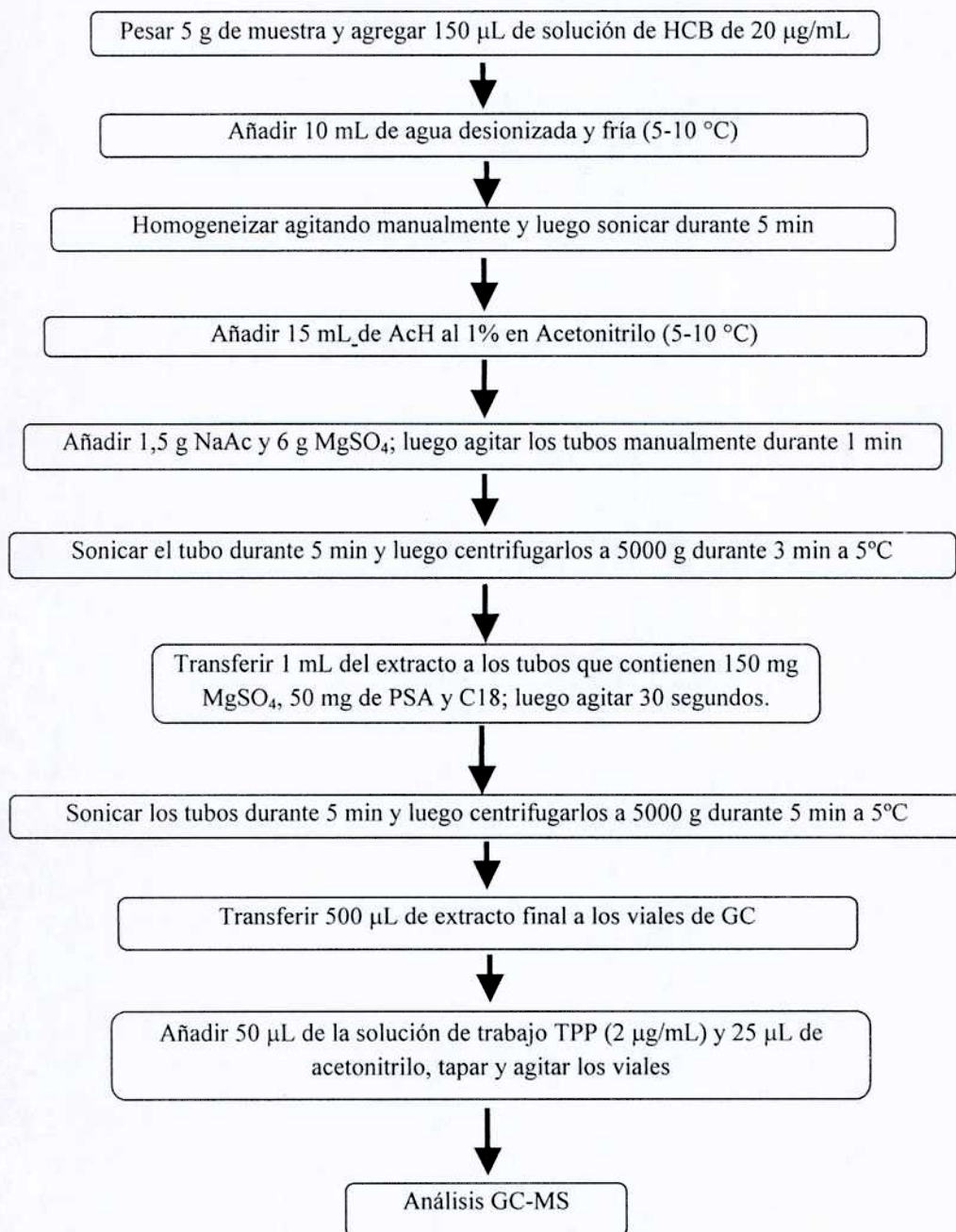
- Se transfirió 1 mL del sobrenadante de cada muestra a un *Tubo de Limpieza* (50 mg de PSA, 50 mg de C18 y 150 mg de sulfato de magnesio). Inmediatamente se agitó manualmente durante 30 segundos.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
- Se colocaron 500 µL del sobrenadante en viales de GC de vidrio.
- Se añadió 50 µL de *Solución de Trabajo de TPP* de 2 µg/mL y 25 µL de acetonitrilo.
- Se taparon los viales y se agitaron antes de analizarlos.

Gráfico 2. A: Esquema simplificado del Método Aplicado.



En la Figura 2.II se esquematiza el procedimiento descrito anteriormente.

Figura 2.II: Esquema del método aplicado a muestras de maíz molido.



2.3.3. Cromatógrafo

- Cromatógrafo Gaseoso (Perkin Elmer, modelo Clarus 600): Posee puerto de inyección con vaporizador de temperatura programable (PTV) y control programable del sistema neumático, usados para inyección de grandes volúmenes (LVI, large volumen injection). Este sistema cuenta con muestreador automático.

- Guarda columna de sílice fundida de 5 m x 0,25 mm (Supelco).
- Conector de columnas (Supelco).
- Columna capilar marca Varian, modelo Factor Four VF-5ms (cat. CP8944); de 30 m x 0,25 mm (0,25 μ m) de fase estacionaria (95%) Dimetil-(5%) difenil polisiloxano de bajo sangrado.
- Helio 99,999 % de pureza.
- Espectrómetro de masas (Perkin Elmer, modelo Clarus 600 Mass Spectrometer):

Fuente de ionización por impacto electrónico (EI), el cual se mantiene a una temperatura elevada para prevenir contaminaciones producto de condensaciones.

Analizador cuadrupolar, con un prefiltro también cuadrupolar.

Detector consta de un dínodo de conversión, una placa de fósforo, y un tubo fotomultiplicador.

- TurboMass 5.4 GC/MS Software.
- PC
- NIST 2005 Mass Spectral Library and Software _ Version 2.1.

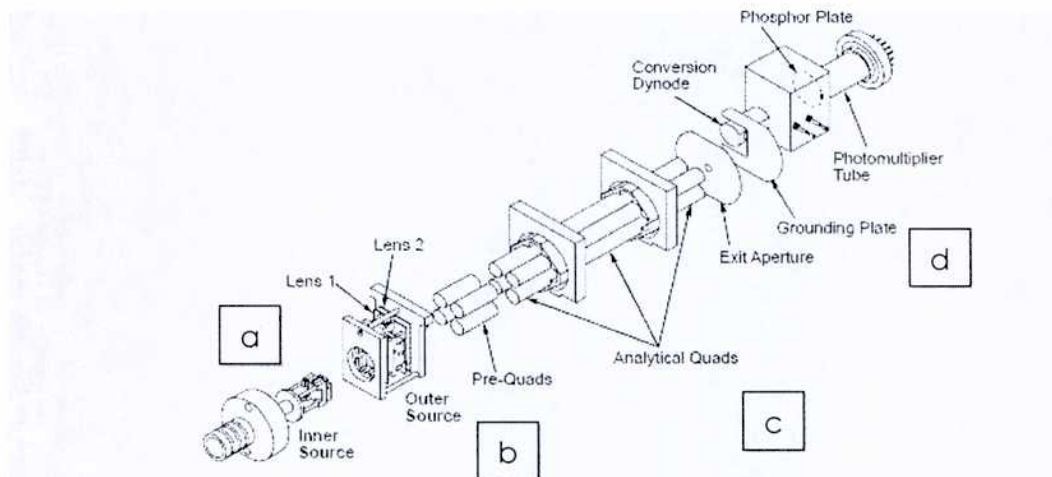


Figura 2.III: Esquema del espectrómetro de masas utilizado (Perkin Elmer, modelo Clarus 600 Mass Spectrometer) para la determinación de residuos de pesticidas. Se puede observar: a. la fuente de ionización por impacto electrónico; b. un pre-filtro cuadrupolar; c. el analizador cuadrupolar; d. las partes del detector (fuente: Perkin Elmer Inc. 2006).

2.3.4. Método Cromatográfico

Las muestras fueron analizadas inyectando 10 μ L de extractos preparados según el procedimiento descrito (*Punto 2.3.Método Analítico*).

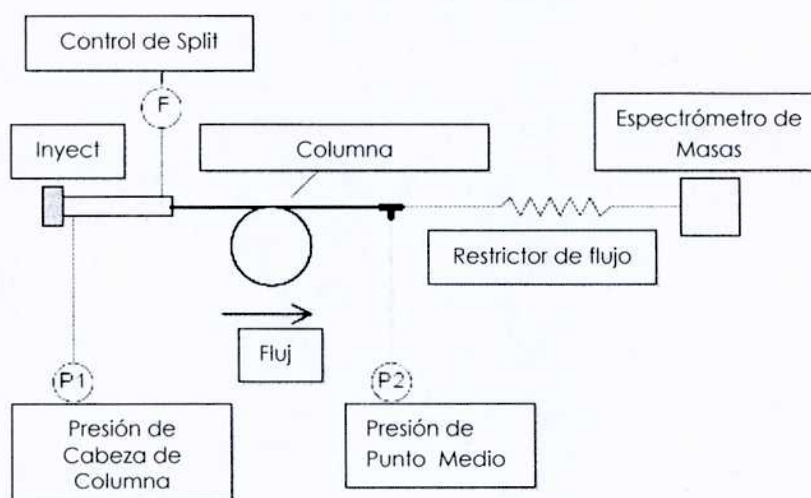


Figura 2.IV: Esquema simplificado del equipo utilizado para las determinaciones del presente trabajo (fuente: Perkin Elmer Inc. 2006).

Condiciones experimentales:

A) Presión del punto medio: $P_2 = 7 \text{ psi}$

B) Puerto de Inyección.

Rampa (°C/min)	Temp. (°C)	Tiempo (min.)
-	65	4
200	290	2,5
60	65	35

C) Gas portador (He).

Rampa (psi/min)	Presión (psi)	Tiempo (min.)
-	2	3.9
25	25	7
25	15	35

D) Horno.

Rampa (°C/min)	Temp. (°C)	Tiempo (min.)
-	70	6
25	170	0
5	230	0
20	290	10

E) Eventos de Split.

Tiempo (min.)	Flujo (mL/min)
0	100
3,9	0
10	20

2.4. ANÁLISIS DE DATOS GC/MS

La obtención de datos cromatográficos se realizó monitoreando iones específicos (SIM, selected ion monitoring) usando un ión de cuantificación y al menos 2 iones calificadores, para cada analito. Para la selección de los iones se escogieron candidatos consultando la base de datos de Laboratorios de Referencia de la UE para residuos de plaguicidas (www.crl-pesticides-datapool.eu). Los parámetros finales fueron determinados por inyección de soluciones patrones de los analitos en las mismas condiciones en que se analizaron las muestras (Albero y col., 2005) (Tabla 2.2).

Los residuos de plaguicidas se identificaron de acuerdo a dos parámetros:

- Tiempos de Retención Relativo al HCB (Hexaclorobenceno).
- Relación de Abundancia Relativas de Iones.

Tabla 2.2: Características cromatográficas utilizadas para la identificación y cuantificación de los analitos estudiados. También se detalla el número de la función SIM asignada.

Función	Analito	Tr (min)	Ion Cuantificador (m/z)	Iones de Calificadores (m/z)
1	Diclorvós	8,4	185	220+145+109
2	HCB	12,3	284	286+282+249
3	Clorpirifós Metil	14,1	286	288+125+290
4	Pirimifós-metil	14,7	305	290+276+233
5	Fenitrotión	14,9	277	125+109+260
6	Malatión	15,1	173	125+127+93
7	Clorpirifós	15,3	314	199+197+97
8	Endosulfán alfa	17,8	241	237+195+239
9	Endosulfán beta	19,7	237	195+241+207
10	Endosulfán Sulfato	20,6	272	274+387+237
11	Tri-fenil-fosfato	20,9	326	325+77+215
12	Permetrina	23,2	183	163+165
13	Cipermetrina	24,	181	163+165+209
14	Fenvalerato	25,8	419	167+125+181
15	Esfenvalerato	26,2	225	125+167+181
16	Deltametrina	27,3	253	181+251+255

La curva de calibración fue realizada contaminando artificialmente los extractos obtenidos de muestras blanco, con cantidades conocidas de los analitos.

Se analizó la relación (S) entre el área del pico de analito y el área del pico HCB en función de la concentración del analito.

Las concentraciones C (mg/kg) de residuos de plaguicida en las muestras se determinaron a partir de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{(S - \text{OrdenadaOrigen}(b))}{\text{Pendiente}(a)}$$

El TPP es una medida de control de calidad para aislar las variaciones originadas en la etapa analítica (cromatográfica) de las generadas por la preparación del extracto en el laboratorio (extracción y limpieza) que se evalúan con el área de los picos de HCB (Lehotay, 2006).

2.4.1. Parámetros analíticos

Selectividad y especificidad

Se trabajó con una metodología GC-MS, la cual es una metodología altamente selectiva y específica. La utilización del tiempo de retención, la relación masa/carga de los iones y la relación abundancia de los mismos, forman un conjunto de criterios que hacen de GC-MS una técnica de confirmación de los resultados de análisis de residuos de pesticidas (Resolución 138/2002 – SENASA, 2002; Norma Oficial Codex CAC/GL 56, 2005; Document SANCO No.10684/2009; Soboleva y col., 2004).

Identificación de analitos: Se utilizó el modo de adquisición SIM. Para cada analito se determinó el Tiempo de Retención Relativo al HCB y la relación de abundancias relativas entre el ión cuantificador y al menos 2 iones calificadores (ver Tabla 2.2).

Criterios de confirmación:

- A) Los tiempos de retención relativos al HCB con una tolerancia de $\pm 0,5$ %, como lo sugiere el Documento SANCO No.10684/2009.
- B) En la Tabla 2.3 se presentan los criterios utilizados para las abundancias relativas de los iones, tomados del Documento SANCO No.10684/ 2009.

Tabla 2.3: Criterios de abundancia iónica relativa, utilizados para identificación de los residuos de pesticidas (según Documento SANCO No.10684/2009).

Intensidad relativa (% de pico base)	Tolerancia
> 50 %	± 20%
>20 % - 50 %	± 25%
> 10 % - 20 %	± 30%
< 10 %	± 50%

Linealidad con Patrones

La linealidad de todos los analitos se comprobó trabajando con las soluciones de mezcla de patrones a diferentes niveles: 0,01 µg/mL; 0,03 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,3 µg/mL; 0,5 µg/mL; 0,8 µg/mL; 1,5 µg/mL y un Blanco de Reactivos. Se realizó el ensayo por duplicado, con al menos 2 inyecciones para cada nivel.

El estudio del Blanco de Reactivos se realizó para buscar potenciales interferencias cromatográficas provenientes de los solventes, materiales y otros insumos utilizados.

Se aplicó el tratamiento estadístico de los datos (Análisis de Regresión). Se evaluó la respuesta lineal estableciendo coeficiente de determinación (R^2) y coeficiente de variación porcentual (CV%) para cada nivel de concentración. Utilizando como criterio de aceptación $R \geq 0,995$ (Resolución N° 138/2002-SENASA, 2002; con sus posteriores modificaciones).

Curva de Calibración

La respuesta de los analitos se comprobó trabajando con extractos de muestras blanco contaminadas a distintos niveles de concentración: 0,005 mg/kg; 0,01 mg/kg; 0,02 mg/kg; 0,03 mg/kg; 0,05 mg/kg; 0,1 mg/kg; 0,2 mg/kg; 0,3 mg/kg; 0,6 mg/kg y una muestra blanco. Se realizó el ensayo por triplicado, con al menos 2 inyecciones para cada nivel.

La muestra blanco fue incluida para investigar la aparición de sustancias co-extraídas del maíz que produzcan interferencias o actúen como contaminación.

Se aplicó Análisis de Regresión y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (R).

Formula de Coeficiente de Correlación de *Pearson* (R):

$$R = \frac{\sum (c - \bar{c})(s - \bar{s})}{\sqrt{\sum (c - \bar{c})^2 \sum (s - \bar{s})^2}}$$

donde c es la concentración; s es la señal correspondiente a c ; $\bar{c}$ es el promedio de c y $\bar{s}$ es el promedio de s (Di Rienzo y col., 2003).

El Criterio de aceptación utilizado fue $R \geq 0,98$ (Herrmann y col., 2007, 2008, 2009).

Ensayo de Recuperación

Se contaminaron muestras blanco artificialmente a distintos niveles: 0,01 mg/kg; 0,02 mg/kg; 0,03 mg/kg; 0,04 mg/kg; 0,07 mg/kg; 0,15 mg/kg; 0,35 mg/kg y 0,6 mg/kg. Una muestra blanco sin contaminación fue incluida como “cero”. Se realizó el ensayo por triplicado, con al menos 2 inyecciones para cada nivel.

Exactitud: fue evaluada a través del cálculo de Recuperación porcentual (R%). La R% se calculó según:

$$R\% = \frac{(CF - CU)}{CN} \times 100;$$

donde CF es la concentración de analito medido en la muestra fortificada; CU es la concentración de analito medido en la muestra sin fortificar; CN es la concentración de analito agregado (valor nominal o teórico) en la muestra fortificada.

El Criterio de Aceptación fue $70 \leq R\% \leq 120 \%$ para cada analito en todos los niveles (Documento SANCO No.10684/ 2009).

Precisión: fue evaluada como reproducibilidad. Se determinó para todos los analitos en cada uno de los niveles y fue expresada como el Relative Standard Desviation (RSD %) del Ensayo de Recuperación.

La reproducibilidad para cada nivel de concentración, se calculó en base a todos los valores de concentración obtenidos.

$$RSD\% = \frac{DS}{\bar{X}} \cdot 100;$$

donde DS es el desvío estándar de las determinaciones y $\bar{X}$ es el promedio de la concentración calculada de cada nivel.

El Criterio de Aceptación utilizado fue el valor de $RSD\%$ observado para cada nivel investigado $\leq RSD\%$ calculado según la ecuación de Horwitz (Herrmann y col., 2007, 2008 y 2009).

$$RSD\% = 2^{(1-0,5 \log C)};$$

donde C es la concentración expresada como una fracción de masa (por ejemplo, $10 \text{ ng/g} = 10 \times 10^{-9}$).

Robustez

QuEChERS es una metodología referencia para el análisis de residuos de pesticidas, su robustez ha sido demostrada en varios artículos científicos (Anastassiades y col., 2003 (a); Lehotay y col., 2005 (a), (b) y (c); Mastovska y col., 2010) y actualmente se encuentra como metodología oficial:

- EN 15662:2008, “Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method”
- AOAC Official Method 2007.01, “Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate”

Aseguramiento de la Calidad: Todas las muestras se analizaron por duplicado y los resultados fueron informados como el promedio de ambos análisis.

Para asegurar el buen de procesamiento de las muestras y el desempeño analítico (GC-MS) se trabajó con doble estándar interno TPP y HCB en cada muestra procesada (*Punto 2.3. Método Analítico*). El criterio de aceptación fue controlar que la relación TPP/HCB (área de picos) se mantuviera dentro de los límites de ± 2 Desvíos Estándar (SD), para todas las muestras analizadas. Cuando

una muestra no cumplió con el criterio, entonces fue nuevamente procesada (Lehotay, 2006).

Además, en cada tanda de 10 análisis se incluyó un *Control de Calidad* (muestra blanco contaminada) y un *Blanco de Reactivos*. Aquí los criterios utilizados fueron: a) $70 \leq R\% \leq 120 \%$ para todos los plaguicidas investigados; b) ausencia de interferentes y contaminaciones en el blanco de reactivos. Cuando alguna tanda no cumplió los criterios se procesó de nuevo (Hill y col., 1999; Lehotay, 2006, Document SANCO No.10684/2009).

Control de Calidad

- Se retiró una muestra blanco del congelador.
- Se añadió 150 µL de *Solución de Trabajo HCB* de 20 µg/mL y 6 µL de *Solución Mezcla de Patrones de Trabajo de Pesticidas* de 500 µg/mL. Se dejó reposar 5 minutos.
- Se agregó 10 mL de agua desionizada fría (5-10 °C), se agitó manualmente unos segundos.
- Se sonicó durante 5 minutos.
- Se agregó 15 mL AcH al 1% en acetonitrilo entre 5-10 °C.
- Se añadió el contenido de un *Tubo de Extracción* (Punto 2.1.2.) a cada muestra fortificada y luego se agitó manualmente 1 minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 3 minutos a 5 °C.
- A un *Tubo de Limpieza* (Punto 2.1.2.) se añadió una alícuota de 1 mL de sobrenadante de la muestra blanco.
- Se agitó durante 30 segundos y se sonicó durante 5 minutos. Luego se centrifugó a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
- En un vial de GC se colocó 500 µL del sobrenadante.
- Se añadió 50 µL de *Solución de Trabajo de TPP* de 2 µg/mL y 25 µL de acetonitrilo.
- Se tapó y agitó el vial.

Nota: La muestra de Control de Calidad se procesa junto a cada tanda de análisis.

Blanco de reactivos

- Se colocó 10 mL de agua desionizada en un tubo de PP con tapa.
- Se le añadió 150 µL de *Solución de Trabajo HCB de 20 µg/mL*. Se dejó reposar 5 minutos.
- Se sonicó durante 5 minutos.
- Se agregó 15 mL AcH al 1% en acetonitrilo entre 5-10 °C.
- Se añadió el contenido de un *Tubo de Extracción (Punto 2.1.2.)* a cada muestra. Inmediatamente se agitó de forma manual durante 1 minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 3 minutos a 5 °C.
- Se transfirió 1 mL del sobrenadante de cada muestra a un *Tubo de Limpieza (Punto 2.1.2.)*. Inmediatamente se agitó de forma manual durante medio minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
- Se colocó 500 µL del sobrenadante en un vial de GC.
- Se añadió 50 µL de *Solución de Trabajo de TPP de 2 µg/mL* y 25 µL de acetonitrilo.
- Se taparon los viales y se agitaron antes de analizarlos.

Sensibilidad

Límite de Detección: fue expresado como 3 veces el Desvío Estándar (Standard Deviation, SD) de la recuperación del menor nivel que cumple con los criterios de aceptación de precisión y exactitud.

Límite de Cuantificación: fue expresado como 6 veces el SD de la recuperación del menor nivel que cumple con los criterios de aceptación de precisión y exactitud.

Incertidumbre

La estimación de la incertidumbre del método se realizó con los datos obtenidos del ensayo de recuperación, según:

$$RSD = \frac{SD_{R\%}}{R\%_{media}}$$

$$U = RSD.k.C$$

donde RSD es el desvío estándar relativo; $SD_{R\%}$ es el desvío estándar de recuperación; $R\%_{media}$ es la recuperación promedio; C es la concentración; k es un factor de cobertura y U es la incertidumbre expandida del método. El valor de k es 2 para un nivel de confianza de 95 %.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. EVALUACIÓN DE LINEALIDAD CON PATRONES

Para evaluar la relación entre la concentración y la respuesta de cada analito se estudiaron todos los patrones comerciales disueltos en solventes.

Se prepararon 9 viales de GC y se colocaron 500 μL de AcH al 1% en acetonitrilo. Luego, a uno se añadió 25 μL de acetonitrilo (*Blanco de Reactivos*) y al resto 25 μL de las *Soluciones Mezcla de Patrones para Calibración*, obteniendo los siguientes niveles: 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,1 $\mu\text{g/mL}$; 0,2 $\mu\text{g/mL}$; 0,3 $\mu\text{g/mL}$; 0,5 $\mu\text{g/mL}$; 0,8 $\mu\text{g/mL}$ y 1,5 $\mu\text{g/mL}$. El ensayo se realizó por duplicado, con al menos 2 inyecciones para cada nivel.

No se hallaron contaminaciones ni potenciales interferencias cromatográficas provenientes de los solventes, materiales y otros insumos utilizados durante los análisis cromatográficos de los Blanco de Reactivos.

Se observó variabilidad en la sensibilidad en el rango de concentración considerado, por lo que se dividió en dos rangos para realizar una evaluación adecuada (Lehotay, 2007). Los resultados se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados para cada analito.

	Rango ($\mu\text{g/ml}$)	a	b	R ²
Diclorvós	0,010 – 0,31	6,52E-2	-4,01E-4	0,997
	0,20 – 1,5	6,98E-2	-1,33E-3	0,998
Clorpirifós Metil	0,010 – 0,31	1,36E-1	-9,31E-4	0,997
	0,20 – 1,5	1,53E-1	-4,98E-3	0,997
Pirimifós Metil	0,011 – 0,36	4,26E-1	-5,64E-3	0,998
	0,23 – 1,7	2,80E-1	4,04E-2	0,996
Fenitrotión	0,010 – 0,31	2,90E-2	-2,47E-4	0,996
	0,20 – 1,5	3,90E-2	-2,23E-3	0,998
Malatión	0,010 – 0,33	8,83E-2	9,42E-4	0,995
	0,22 – 1,6	6,80E-2	7,74E-3	0,998
Clorpirifós Etil	0,010 – 0,32	6,16E-2	1,71E-4	0,997
	0,21 – 1,5	1,42E-1	-2,46E-2	0,996
Alfa-Endosulfán	0,010 – 0,30	1,12E-1	-1,00E-3	0,998
	0,20 – 1,5	1,17E-1	1,79E-4	0,995
Beta-Endosulfán	0,010 – 0,31	1,23E-1	4,28E-4	0,996
	0,20 – 1,5	1,59E-1	-1,30E-2	0,997
Endosulfán Sulfato	0,010 – 0,31	5,37E-2	1,99E-4	0,998
	0,20 – 1,5	3,34E-2	6,00E-3	0,996
Permetrina	0,010 – 0,31	1,30E+0	9,56E-3	0,998
	0,20 – 1,5	6,13E-1	1,85E-1	0,995
Cipermetrina	0,010 – 0,31	2,95E-1	-3,40E-3	0,995
	0,20 – 1,5	2,92E-1	2,90E-3	0,996
Fenvalerato	0,010 – 0,31	7,50E-2	-1,12E-4	0,997
	0,20 – 1,5	8,32E-2	-4,29E-3	0,998
Esfenvalerato	0,010 – 0,30	1,35E-1	5,37E-5	0,996
	0,20 – 1,5	7,30E-2	1,50E-2	0,996
Deltametrina	0,010 – 0,31	4,11E-2	9,36E-5	0,997
	0,20 – 1,5	2,82E-2	4,38E-3	0,996

Referencias: a = pendiente; b = ordenada al origen; R² = coeficiente de determinación (Capítulo 2. Punto 2.4.1.).

Los valores hallados con los patrones para el coeficiente de determinación (R²) variaron entre 0,995 y 0,999.

En la Tabla 3.2 se muestran los niveles para este ensayo y el coeficiente de variación porcentual (CV %) de la señal correspondiente.

Tabla 3.2: Resultados del ensayo de linealidad en solvente. Niveles de concentración estudiados y los correspondientes CV % de la señal.

Diclorvos		Clorpirifós Metil		Pirimifós Metil		Fenitrotión		Malatión	
Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%
0,010	7,9	0,010	8,7	0,011	8,5	0,010	7,0	0,010	7,8
0,029	5,3	0,029	5,8	0,034	5,6	0,029	5,3	0,031	5,4
0,10	4,2	0,10	5,3	0,12	1,2	0,10	1,2	0,11	6,8
0,20	3,6	0,20	5,9	0,23	3,4	0,20	6,5	0,22	5,0
0,31	5,9	0,31	4,1	0,36	2,9	0,31	5,7	0,33	2,3
0,50	6,6	0,50	5,5	0,58	3,6	0,5	4,5	0,54	6,5
0,80	2,0	0,79	3,1	0,93	2,6	0,8	4,8	0,86	5,2
1,5	6,0	1,5	2,8	1,7	2,0	1,5	3,1	1,6	6,6

Continuación de Tabla 3.2.

Clorpirifós Etil		Alfa-Endosulfán		Beta-Endosulfán		Endosulfán Sulfato	
Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%
0,010	8,5	0,010	7,7	0,010	8,3	0,010	7,0
0,030	5,6	0,029	2,8	0,029	5,9	0,029	6,0
0,11	5,1	0,10	6,3	0,10	4,0	0,10	5,2
0,21	5,9	0,20	3,5	0,20	3,6	0,20	2,6
0,32	2,3	0,30	3,0	0,31	3,9	0,31	3,8
0,51	8,0	0,50	5,0	0,50	5,3	0,50	5,0
0,82	2,0	0,80	1,5	0,80	5,3	0,80	7,2
1,5	2,6	1,5	4,4	1,5	2,5	1,5	2,3

Continuación de Tabla 3.2.

Permetrina		Cipermetrina		Fenvalerato		Esfenvalerato		Deltametrina	
Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%	Conc. (µg/ml)	CV%
0,010	6,1	0,010	6,4	0,010	7,6	0,010	7,6	0,010	8,6
0,029	4,2	0,029	4,9	0,029	7,4	0,029	5,4	0,029	7,3
0,10	3,5	0,10	4,3	0,10	5,0	0,10	3,4	0,10	7,7
0,20	5,3	0,20	4,3	0,20	6,3	0,20	5,3	0,20	7,6
0,31	3,6	0,31	1,5	0,31	4,9	0,30	2,7	0,31	4,0
0,50	4,7	0,50	3,5	0,50	2,9	0,20	5,3	0,50	3,7
0,80	5,2	0,80	5,2	0,80	5,9	0,30	2,7	0,80	3,2
1,5	3,2	1,5	2,0	1,5	6,3	1,5	3,9	1,5	0,9

Todos los valores de CV % fueron $\leq 8,7\%$, el valor máximo lo presentó Clorpirifós Metil 0,010 ug/ml. El 74% de los valores de CV % fueron $\leq 6\%$.

Los valores de R^2 ($\geq 0,995$) permiten correlacionar linealmente la concentración y la respuesta obtenida (Resolución 138/2002-SENASA con sus posteriores modificaciones).

3.2. EFECTO MATRIZ

En un estudio cuantitativo se debe analizar la respuesta del analito en la matriz (Lehotay y col., 2005(a) y (b); Lehotay, 2007; Koesukwiwat y col., 2010; Mastovska y col., 2010; Anastassiades y col., 2003(b); Pizzutti y col., 2007 y 2009; Bettencourt da Silva y col., 2000; Cunha y col., 2009; Stajnbaher y col., 2003; Kolberg y col., 2011; Van Eeckhaut y col., 2009).

En cromatografía gaseosa se puede presentar un fenómeno adverso, conocido como “efecto matriz”. Se pone en evidencia al comparar la respuesta de un determinado analito en solución de solvente con la obtenida por el mismo analito extraídos de una matriz compleja como maíz (Anastassiades y col., 2003(b)).

El “efecto matriz” se produce por sustancias co-extraídas provenientes de la matriz, que al interactuar con los sitios activos del sistema cromatográfico (columna, puerto de inyección, precolumna, etc.) generan diferencias en la respuesta del analito disuelto en solvente (Soboleva y col., 2004; Hill y col. 2005; Garrido Frenich y col. 2009; Anastassiades y col., 2003(b); Pizzutti y col. 2009). Estas diferencias pueden incluir el aumento o la disminución de la señal del analito, provocando disminución de la exactitud, robustez, sensibilidad y la aparición de falsos positivos y negativos (Mastovska y col., 2005). El “efecto matriz” varía con la temperatura de inyección, tiempo de interacción (función del flujo, presión, volumen de inyección, volumen de expansión del solvente, diámetro de la columna y el tiempo de retención), tipo de matriz, la concentración de los co-extractivos y los analitos (Anastassiades y col., 2003(b); Mastovska y col., 2005; Ortelli y col., 2004).

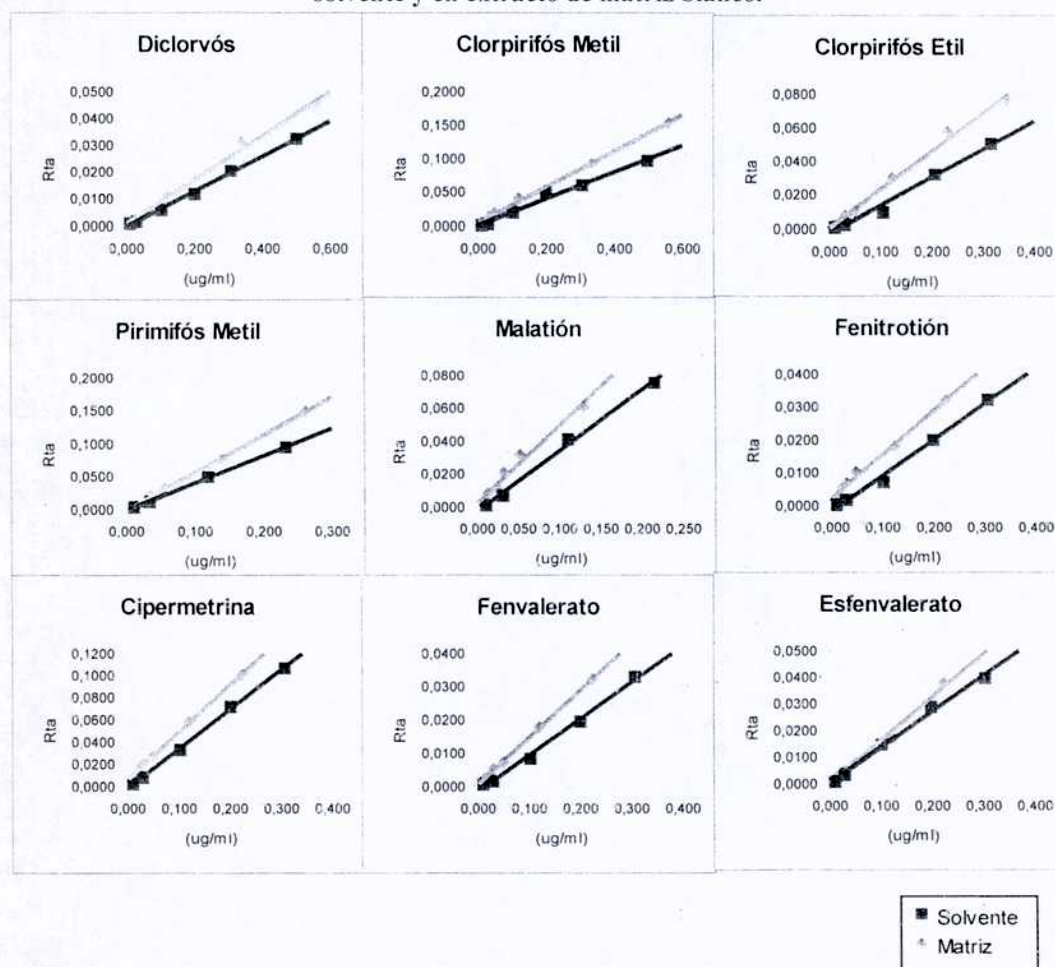
Existen distintas técnicas que reducen las consecuencias negativas del “efecto matriz” como a) purificación del analito que elimine las sustancias co-extractivas que producen el fenómeno; b) simular el extracto de matriz agregando “protectores de analito” en la solución patrón para bloquear sitios activos del sistema cromatográficos; c) aumentar la presión en el inyector para disminuir el tiempo residencia; c) la adición de patrón a la muestra, etc. (Mastovska y col., 2005). Otra metodología frecuentemente utilizada y recomendada para el análisis de residuos de plaguicidas en alimentos, es construir la Curva de Calibración con

soluciones de diferentes concentraciones preparados con extractos de matriz blanco (Mastovska y col., 2005; Document SANCO No.10684/2009; Norma Oficial Codex CAC/GL 56, 2005).

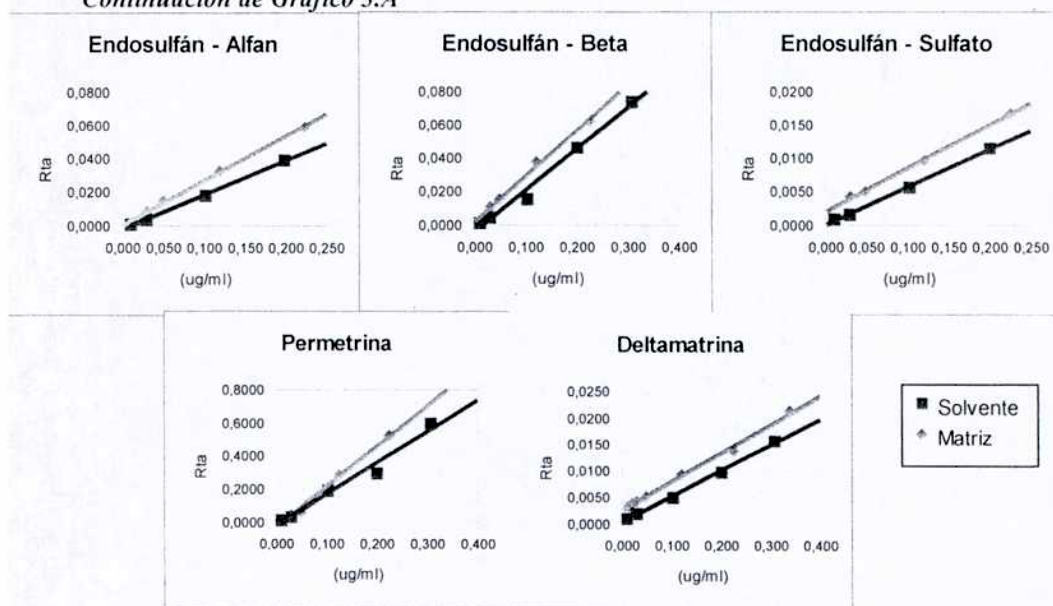
Como se mencionó este efecto es muy variable y se puede presentar como incremento o disminución de la señal. No obstante, en cromatografía de gases lo frecuente es obtener una mayor respuesta del analito en el extracto de matriz (Mastovska y col., 2005; Garrido Frenich y col. 2009; Anastassiades y col., 2003 (b)).

Para evidenciar la presencia del “efecto matriz” en el rango de trabajo (0,010 a 1,5 ug/ml), se realizó la comparación de la respuesta obtenida de los patrones disueltos en solvente y en extracto de matriz blanco. El Gráfico 3.A presenta los resultados obtenidos, en un rango de concentración arbitrariamente seleccionado para cada analito, que muestra una separación entre solvente y matriz.

Gráfico 3.A: Respuesta obtenida en función de la concentración de patrones disueltos en solvente y en extracto de matriz blanco.



Continuación de Gráfico 3.A



Se comprobó que todos los analitos investigados presentaron “efecto matriz”. En el rango de concentración analizado se obtuvo aumento de las respuestas de todos los analitos disueltos en matriz blanco respecto a los disueltos en solvente, que se exhibe como un desplazamiento hacia arriba de la recta correspondiente. También, se observa dependencia del “efecto matriz” respecto del analito y la concentración, dada por diferente separación de las rectas y variaciones en la pendiente, respectivamente (Gráfico 3.A). Patil y col. 2009 presentan datos (GC-MS) acordes al Gráfico 3.A para todos nuestros analitos en vino blanco y tinto (Deltametrina no fue estudiado en el artículo). Encontrando pocos plaguicidas que presentan disminución de la respuesta (Patil y col., 2009). En cambio, otros autores encuentran aumento de la señal solo con Malatión pero no para Clorpirifós Etil, α -Endosulfán ni Permetrina, en muestras de césped con GC-MS (Johnson y col., 1997).

Por otra parte, Pizzutti y col. muestran que un gran porcentaje (alrededor del 90 %) de los residuos de plaguicidas que estudian (169 analitos) presentan “efecto matriz” con disminución de la respuesta de los analitos en extractos de soja comparando con solvente puro. Los autores también encuentran variaciones respecto al nivel de concentración del analito y la polaridad del solvente utilizado para realizar la extracción de los analitos (Pizzutti y col., 2007 y 2009). Sin

embargo, estos resultados fueron obtenidos con cromatografía líquida acoplada a detector de masa.

Considerando el “efecto matriz” encontrado, la Curva de Calibración se realizó según las recomendaciones realizadas por Documento No. SANCO/10684/2009 y Norma Oficial del Codex CAC/GL 56, 2005 (*Capítulo 2. Punto 2.4.1.*).

3.3. SELECTIVIDAD Y ESPECIFICIDAD

Los análisis se realizaron por cromatografía gaseosa acoplada a un detector de espectrometría de masas descrito junto a datos experimentales en el *Capítulo 2. (Punto 2.3.3 y Punto 2.3.4).*

Con el objeto de evaluar la selectividad y especificidad de la etapa analítica, se realizó una comparación cromatográfica de un extracto de muestra blanco con y sin adición de patrones de analitos (Figuras 3.I a 3.XIV). Por otra parte, la especificidad y selectividad de un detector de espectrometría de masas, radica en la capacidad de comparar la abundancia de los iones presentes en un pico cromatográfico (*Capítulo 2. Punto 2.4.*).

Las Figuras 3.I a 3.XIV muestran las respuestas del ión de cuantificación escogido para cada analito en modo SIM (selected ion monitoring). En cada gráfico la escala del *eje Y* está arbitrariamente ajustada al 100% y el *eje X* representa el número de observaciones en el espacio de tiempo correspondiente a la elusión de cada analito. Los gráficos presentan los resultados superpuestos de extracto blanco con y sin adición de patrón.

Figura 3.I: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Diclorvós ($m/z = 185$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

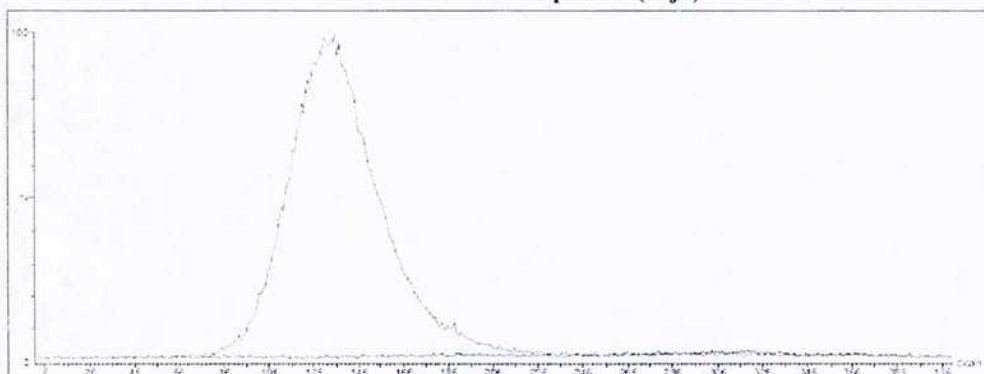


Figura 3.II: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Clorpirifós Metil ($m/z = 286$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

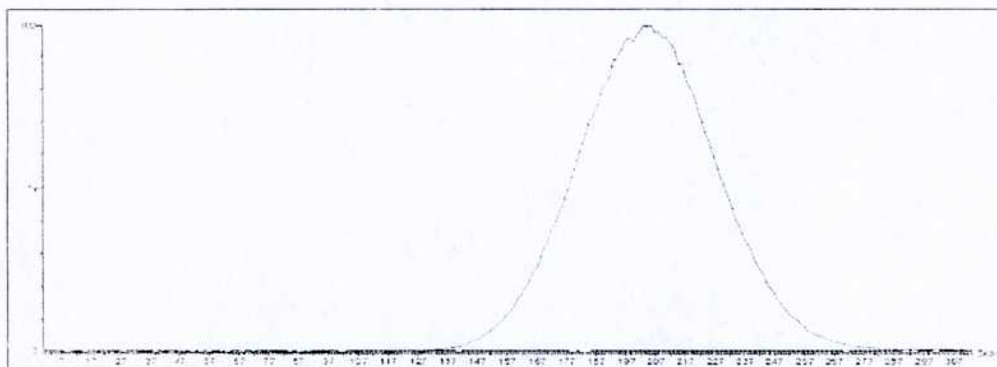


Figura 3.III: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Pirimifós Metil ($m/z = 305$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

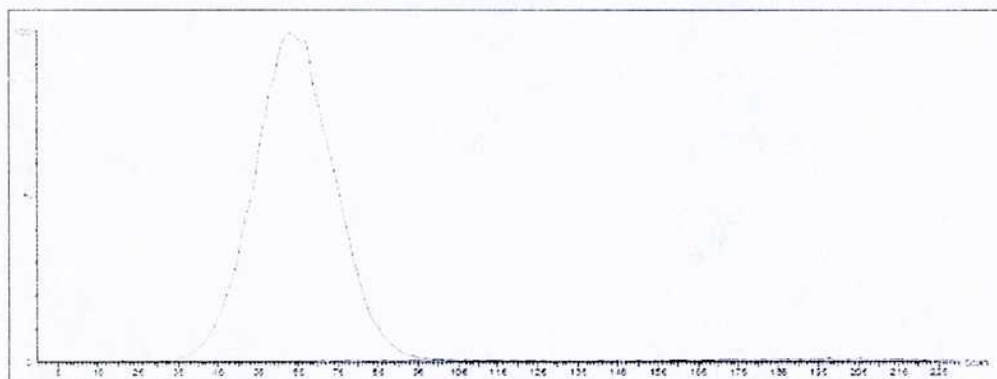


Figura 3.IV: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Fenitrotión ($m/z = 277$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

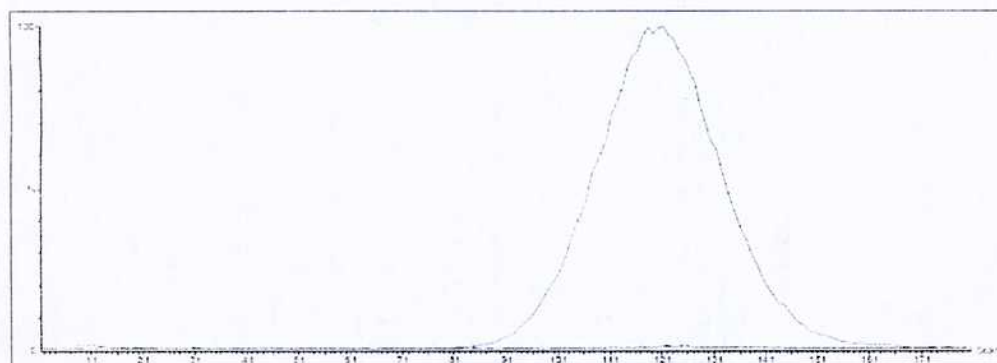


Figura 3.V: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Malatión ($m/z = 173$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

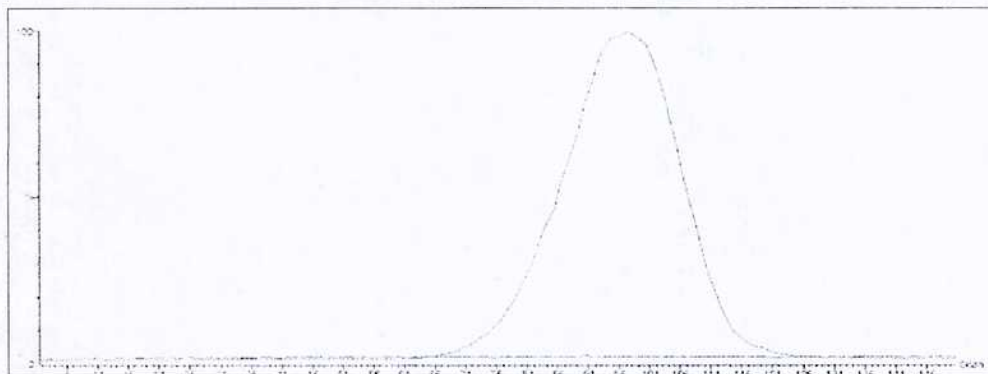
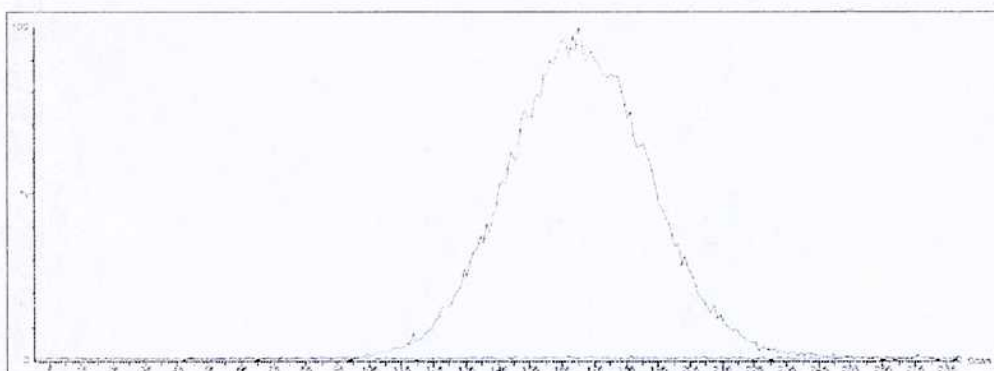


Figura 3.VI: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Clorpirifós Etil ($m/z = 314$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).



La respuesta correspondiente a los extractos con Diclorvós; Clorpirifós Metil; Pirimifós Metil y Clorpirifós presentan una línea base baja, picos de forma gaussiana y ausencia de interferencias. En cambio, la línea de color violeta que representa la señal del extracto blanco, es casi imperceptible en estas figuras (línea de color violeta cercana al *eje X*) y ausencia de potenciales interferencias para estos analitos.

Figura 3.VII: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Endosulfán - α ($m/z = 241$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con adición del patrón (rojo).

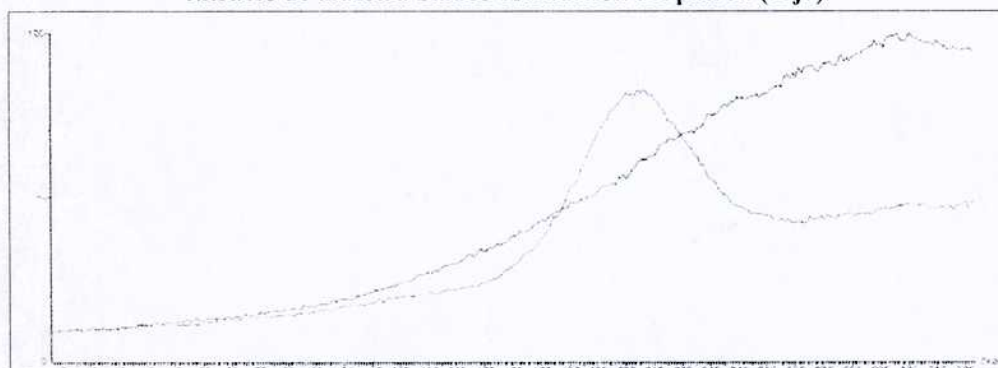


Figura 3.VIII: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Endosulfán - β ($m/z = 237$) en un extracto de muestra blanco (verde) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

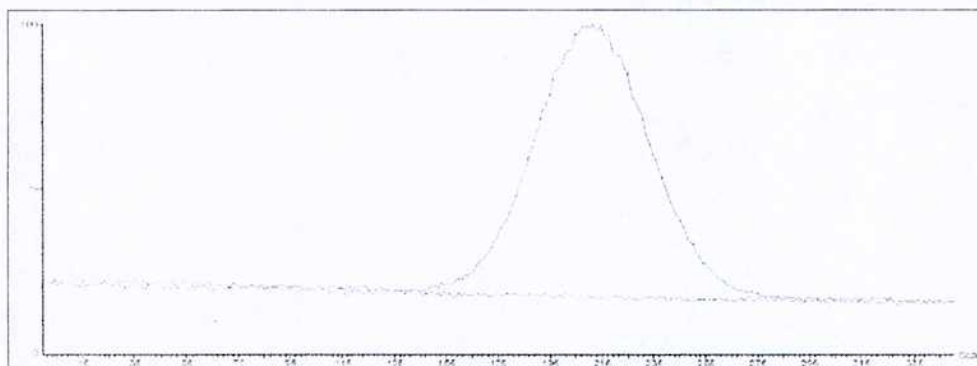
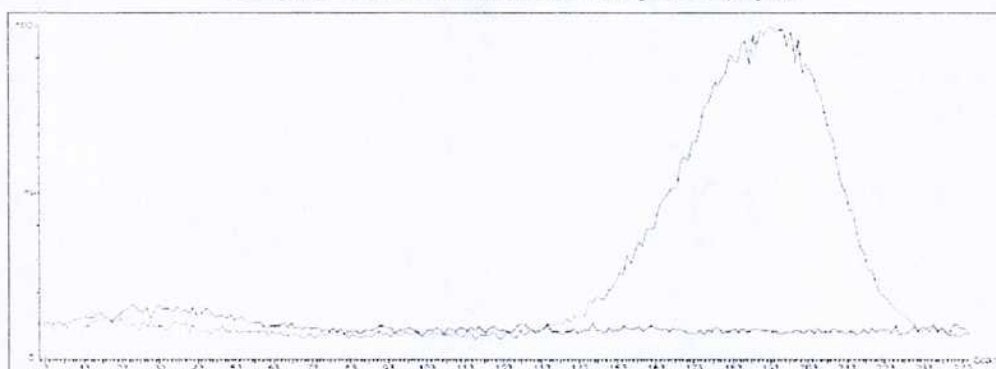


Figura 3.IX: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Endosulfán Sulfato ($m/z = 272$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).



Las Figuras 3.VII y 3.VIII presentan una línea base inclinada. Lo cual evidencia que en esta región de la cromatografía, el analito y otras sustancias (co-eluyentes) generan iones de igual relación masa/carga (m/z). Esta situación no pone en riesgo la identificación del analito debido a que los co-eluyentes no presentan un pico ni tampoco mostraron la relación de abundancia entre iones (iones de confirmación) necesaria para calificar a una sustancia como analito, según sugerencia del Documento No. SANCO/10684/2009 y la Resolución 138/2002 – SENASA (2002) con sus posteriores modificaciones.

Figura 3.X: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Permetrina ($m/z = 183$) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

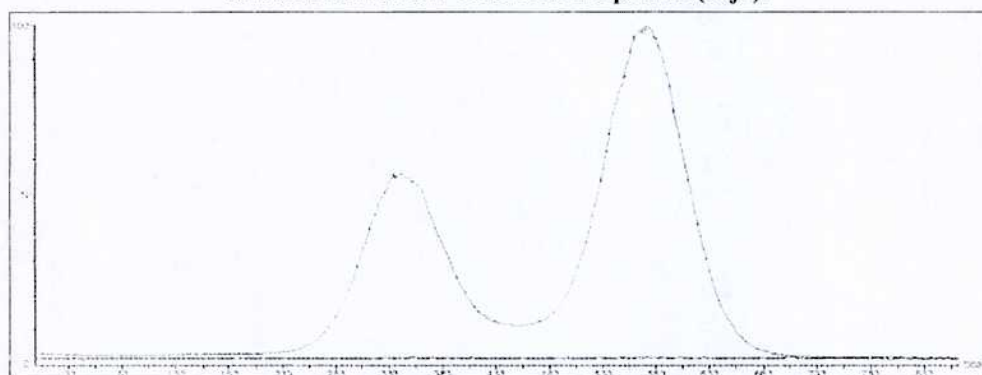


Figura 3.XI: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Cipermetrina (181) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

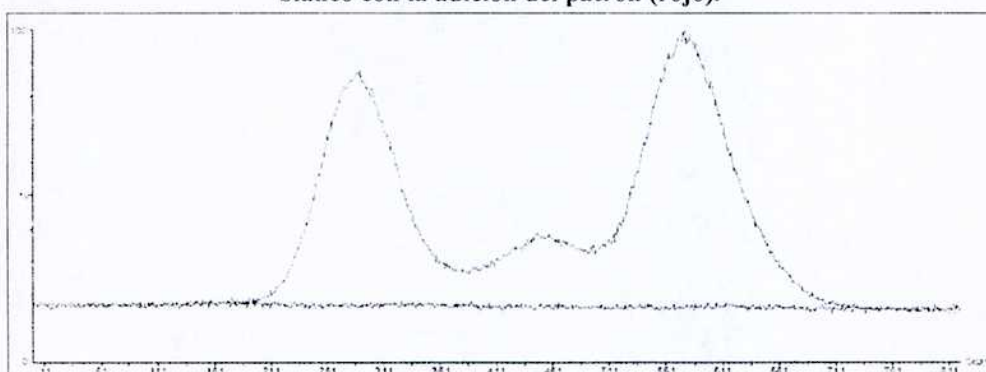


Figura 3.XII: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Fenvalerato (419) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

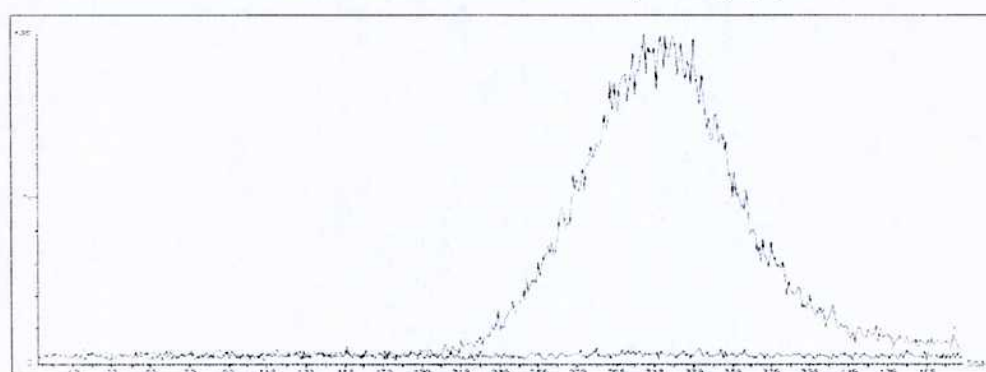


Figura 3.XIII: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Esfenvalerato (225) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

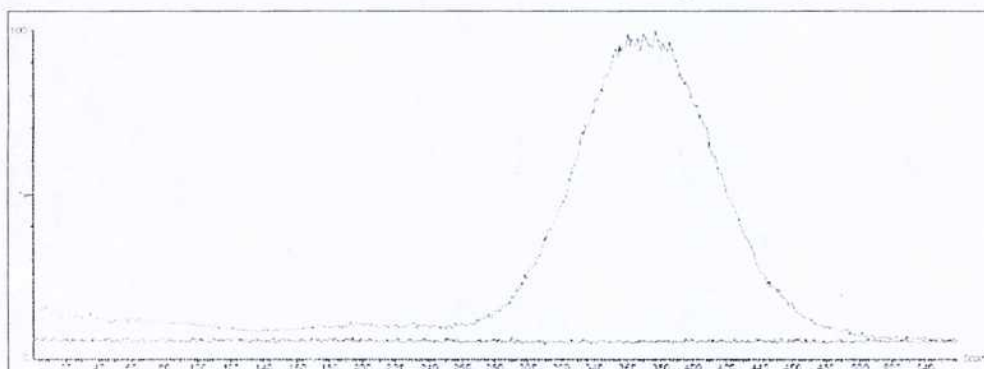
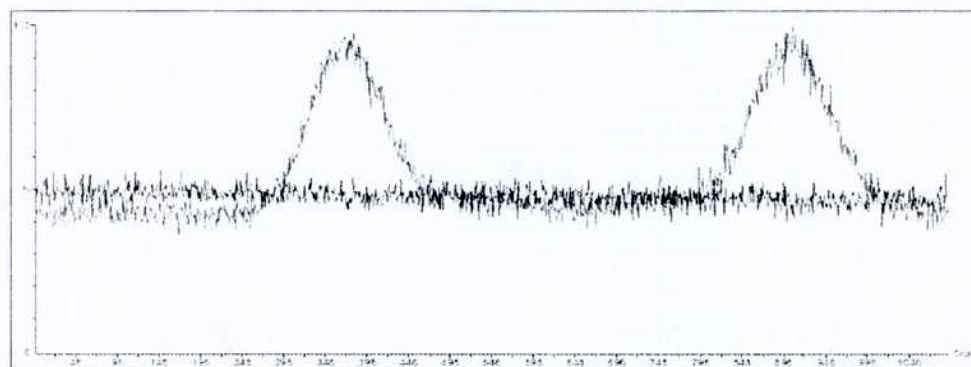


Figura 3.XIV: Comparación de la respuesta obtenida del seguimiento del ión de cuantificación de Deltametrina (253) en un extracto de muestra blanco (violeta) y un extracto de muestra blanco con la adición del patrón (rojo).

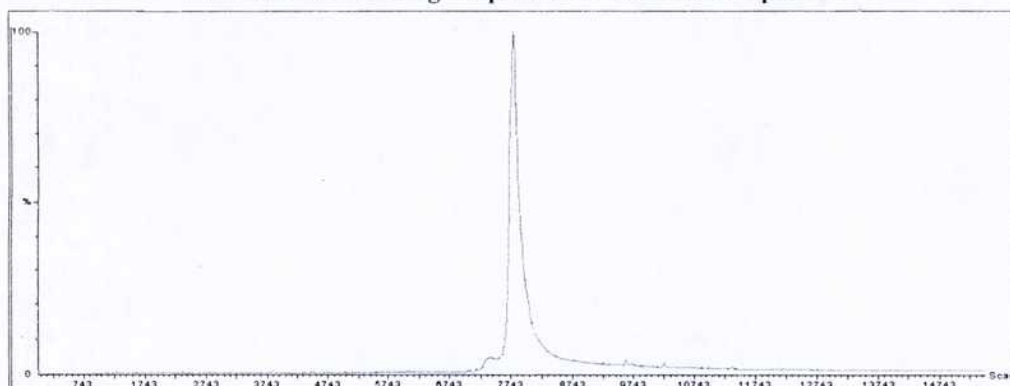


Permetrina, Cipermetrina y Deltametrina son sustancias que se presentan como mezclas de estereoisómeros y por esta razón presentan más de un pico, como se describió en el *Capítulo 1. (Punto 1.4.4.)*.

Con el fin de buscar potenciales interferentes en la matriz y ampliar los datos expuestos para Endosulfán α y β , se realizó un cromatograma del extracto de muestra blanco en modo SCAN (Figura 3.XV). En el cual se registran todos los iones generados a diferencia del modo SIM que solo registra los iones de interés (*Capítulo 1. Punto 1.8.*).

En la Figura 3.XV, puede observarse el cromatograma TIC (Total Ion Current) con un gran pico de base ancha en el centro que se superpone con los picos de Endosulfán α ; β ; y sulfato ($TR_{\alpha}= 17,8$ min.; $TR_{\beta}= 19,7$ min y $TR_{SO_4}= 20,6$ min.). Sin embargo, como muestran las Figuras 3.VII, 3.VIII y 3.IX el mayor afectado fue Endosulfán α .

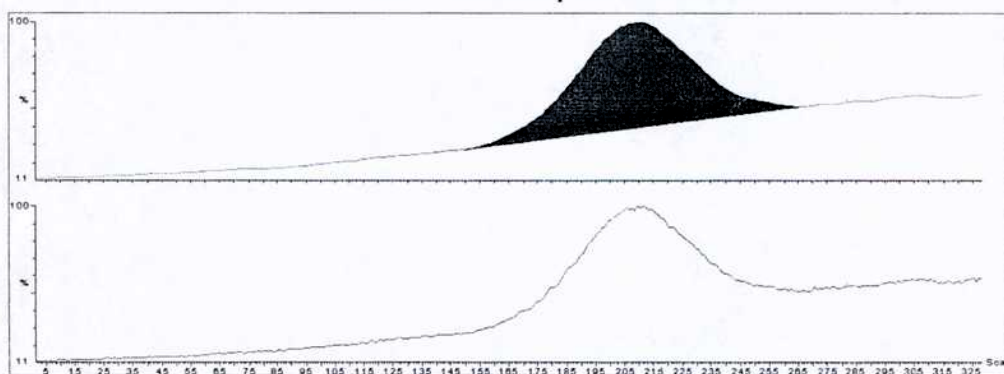
Figura 3.XV: Cromatograma de un extracto de matriz blanco en modo SCAN, se muestra el TIC. Puedes verse un gran pico de características lipídicas.



Mastovska describe una “Fatty acid region”(región de ácidos grasos) en el centro de sus cromatogramas en maíz, aplicando una metodología QuEChERS y analizando por cromatografía gaseosa (Mastovska y col., 2010).

Por su magnitud; estos co-eluyentes (Figura 3.XV) no pudieron ser eliminados por medio de modificaciones en el sistema cromatográficos (programa de temperatura, variaciones en el flujo de gas transportador y diferentes columnas). Se programó el equipo para integrar este pico de la manera que puede verse en la Figura 3.XVI.

Figura 3.XVI: Funciones SIM de los iones de cuantificación para Endosulfán- α en una muestra blanco utilizada para calibración.



Como conclusión se observó la presencia de co-extractivos que dificultan, pero no impiden la cuantificación de Endosulfán. Para el resto de los analitos investigado no se observan interferencias.

3.4. CURVA DE CALIBRACIÓN

Se utilizó calibración en matriz para reducir los inconvenientes que provienen del “efecto matriz” (Lehotay, 2007; Lehotay y col., 1997; Albero y col., 2005; Anastassiades y col., 2003(b); Kirchner y col., 2005 y 2008; Mastovska y col., 2004; Document SANCO No.10684/2009). Este ensayo se realizó por triplicado de cada nivel, con al menos dos inyecciones para cada nivel.

El procedimiento fue el siguiente:

- Se retiró 10 muestras blanco del congelador.
- Se agregó 10 mL de agua desionizada fría (5-10 °C) y se agitó manualmente unos segundos.
- Se sonicó durante 5 minutos.
- Se agregó 15 mL AcH al 1% en acetonitrilo (5-10 °C), a cada muestra blanco.
- Se añadió el contenido de un *Tubo de Extracción* (Capítulo 2. Punto 2.1.2.) y luego se agitó manualmente 1 minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g y a 5 °C durante 3 minutos.
- Se transfirió 1 mL del sobrenadante a 10 *Tubos de Limpieza* (Capítulo 2. Punto 2.1.2.).
- Se agitó los tubos durante 30 segundos y luego se centrifugó a 5000 g y a 5 °C durante 5 minutos.
- En cada uno de 10 viales de vidrio para GC se colocó alícuotas de 500 µL del sobrenadante.
- Se añadió 50 µL de *Solución de Trabajo de TPP de 2 µg/mL* a cada uno de los 10 viales.
- Solo a 9 viales se les agregó 25 µL de las *Soluciones Mezcla de Patrones para Calibración* de 0,05 µg/mL; 0,07 µg/mL; 0,15 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,35 µg/mL; 0,7 µg/mL; 1,5 µg/mL; 2,5 µg/mL y 3,5 µg/mL. Al vial restante se le agregó 25 µL de acetonitrilo.
- Se tapó y agitó los viales.

La Tabla 3.3 muestra los resultados obtenidos de la curva de calibración en matriz.

Tabla 3.3: Niveles de concentración (mg/kg) empleados para la construcción de curvas de calibración con sus correspondientes valores de SD y CV %.

Dielorvós			Clorpirifós Metil			Pirimifós Metil		
Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%
0,007	0,0006	7,0	0,007	0,0004	5,3	0,008	0,0006	6,3
0,012	0,0007	5,8	0,012	0,0010	7,5	0,014	0,0012	7,0
0,022	0,0009	4,7	0,022	0,0015	7,8	0,026	0,0015	7,1
0,030	0,0047	14,3	0,030	0,0035	11,0	0,035	0,0042	11,4
0,048	0,0044	9,9	0,048	0,0029	6,3	0,056	0,0026	5,0
0,12	0,0077	5,5	0,12	0,0021	1,8	0,14	0,0073	5,9
0,23	0,0265	12,6	0,22	0,0123	5,9	0,26	0,0120	4,4
0,34	0,0493	14,8	0,34	0,0230	7,1	0,39	0,0299	7,4
0,56	0,0968	15,4	0,56	0,0303	5,3	0,65	0,0504	7,8

Continuación Tabla 3.3:

Fenitrotión			Malatión			Clorpirifós Etil		
Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%
0,007	0,0010	16,3	0,008	0,0005	7,7	0,007	0,007	8,6
0,012	0,0006	6,3	0,013	0,0006	4,0	0,012	0,012	5,2
0,022	0,0027	11,1	0,024	0,0027	12,8	0,023	0,023	5,2
0,030	0,0021	7,7	0,032	0,0013	3,9	0,031	0,031	7,2
0,048	0,0038	7,5	0,052	0,0030	5,6	0,049	0,049	5,3
0,12	0,0099	7,0	0,13	0,0119	8,0	0,12	0,12	11,8
0,22	0,0150	7,2	0,24	0,0178	8,1	0,23	0,23	9,4
0,34	0,0106	3,2	0,36	0,0194	5,4	0,35	0,35	7,5
0,56	0,0225	4,0	0,61	0,0689	11,3	0,58	0,58	4,2

Continuación Tabla 3.3:

Alfa-Endosulfán			Beta-Endosulfán			Endosulfán-Sulfato		
Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%
0,012	0,0015	14,5	-	-	-	-	-	-
0,022	0,0011	6,0	0,022	0,0018	8,3	-	-	-
0,030	0,0025	7,8	0,030	0,0034	9,7	0,030	0,0036	10,4
0,050	0,0035	6,5	0,048	0,0030	5,9	0,048	0,0071	15,7
0,12	0,0055	4,3	0,12	0,0042	3,4	0,12	0,0087	8,0
0,22	0,0230	10,1	0,22	0,0141	6,3	0,23	0,0165	7,5
0,33	0,0188	6,1	0,33	0,0092	3,0	0,34	0,0154	4,2
0,56	0,0346	6,1	0,56	0,0465	8,0	0,56	0,0163	3,0

Continuación Tabla 3.3:

Permetrina			Cipermetrina			Fenvalerato		
Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV %	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%
0,007	0,0004	5,4	-	-	-	-	-	-
0,012	0,0008	6,5	0,012	0,0017	13,3	0,012	0,0016	12,8
0,022	0,0014	6,4	0,022	0,0021	9,3	0,022	0,0012	5,9
0,030	0,0020	5,9	0,030	0,0034	12,2	0,030	0,0026	7,9
0,050	0,0040	8,7	0,048	0,0043	8,6	0,050	0,0040	8,7
0,13	0,0103	8,2	0,12	0,0107	8,2	0,12	0,0084	7,6
0,23	0,0170	6,8	0,23	0,0211	10,7	0,22	0,0222	10,0
0,34	0,0110	3,2	0,34	0,0438	12,2	0,34	0,0278	7,7
0,56	0,0201	3,6	0,56	0,0666	11,9	0,56	0,0428	7,8

Continuación Tabla 3.3:

Esfenvalerato			Deltametrina		
Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%	Conc. Nom. (mg/kg)	SD (mg/kg)	CV%
0,007	0,0009	13,7	-	-	-
0,012	0,0013	10,3	0,012	0,0010	10,1
0,022	0,0017	8,8	0,022	0,0029	14,5
0,030	0,0047	15,0	0,030	0,0035	10,6
0,049	0,0041	8,0	0,048	0,0032	6,5
0,12	0,0083	6,7	0,12	0,0104	8,8
0,22	0,0170	8,4	0,23	0,0137	6,5
0,33	0,0247	7,5	0,34	0,0349	10,8
0,56	0,0140	2,5	0,56	0,0484	8,6

Tomando los 117 niveles presentados en la Tabla 3.3, el 76 % mostraron un $CV \% \leq 10 \%$, el 21 % entre 10,1 % – 15 %, solo el 3 % mostró valores $> 15 \%$; con un máximo de 16,3 % (Fenitrotión a 0,007 mg/kg). La reproducibilidad del método se evaluó en el *Punto 3.5. Ensayo de Recuperación*.

En el rango de concentración considerado (0,01–0,5 mg/kg), se observó variabilidad en la sensibilidad. Por lo que la construcción de curvas de calibración se dividió en dos el rango de concentraciones de 0,01 – 0,12 mg/kg y de 0,12 – 0,5 mg/kg, utilizando al menos cuatro niveles para cada curva (Lehotay, 2007).

Tabla 3.4: Resultados de las curvas de calibración y rangos de concentración utilizados para cada analito.

	Rango (mg/kg)	a	b	R
Diclorvós	0,007 -0,12	9,19E-2	-5,19E-4	0,999
	0,12 – 0,56	6,44E-2	1,77E-3	0,997
Clorpirifós Metil	0,007 -0,12	5,08E-1	-2,73E-3	0,999
	0,12 – 0,56	6,57E-1	-3,10E-2	0,997
Pirimifós Metil	0,008 -0,14	7,27E-1	-5,90E-3	0,998
	0,14 – 0,65	6,90E-1	9,82E-3	0,998
Fenitrotión	0,007 -0,12	2,38E-1	1,17E-3	0,999
	0,12 – 0,5	2,29E-1	-1,73E-3	0,997
Malatión	0,008 -0,13	7,63E-1	-2,44E-3	0,999
	0,13 – 0,61	3,61E-1	4,17E-2	0,996
Clorpirifós Etil	0,007 -0,12	2,84E-1	-1,31E-3	0,997
	0,12 – 0,58	3,09E-1	1,69E-3	0,996
Alfa-Endosulfán	0,012 – 0,12	2,80E-1	-6,22E-5	0,997
	0,12 – 0,56	2,66E-1	-1,13E-3	0,996
Beta-Endosulfán	0,022 – 0,12	3,10E-1	6,32E-5	0,999
	0,12 – 0,56	2,82E-1	-9,96E-4	0,992
Endosulfán Sulfato	0,030 – 0,23	6,51E-2	2,03E-3	0,999
	0,12 – 0,56	7,05E-2	-4,99E-4	0,994
Permetrina	0,007 -0,13	1,29E+0	-3,95E-4	0,999
	0,13 – 0,56	3,95E+0	-2,53E-1	0,995
Cipermetrina	0,012 -0,12	7,41E-1	-1,01E-4	0,999
	0,12 – 0,56	4,75E-1	2,69E-2	0,994
Fenvalerato	0,012 – 0,2	1,45E-1	4,90E-4	0,998
	0,12 – 0,56	1,72E-1	4,24E-3	0,996
Esfenvalerato	0,007 -0,12	1,26E-1	1,24E-3	0,999
	0,12 – 0,56	3,42E-1	-3,19E-2	0,996
Deltametrina	0,012 – 0,12	5,17E-2	2,21E-3	0,999
	0,12 – 0,56	6,42E-2	1,37E-4	0,998

Referencias: a = pendiente; b = ordenada al origen; R = Coeficiente de Correlación de Pearson (Capítulo 2. Punto 2.4.1.).

Los coeficientes de correlación estudiados presentaron valores $R \geq 0,992$. Herrmann y col., presentan reportes de validación (GC-MS/MS) con valores de $R \geq 0,98$ para sus curvas de calibración trabajando con la metodología QuEChERS en cereales (arroz, trigo, avena y centeno) para la Red de Laboratorios Referencia de la Unión Europea (Herrmann y col., 2008; 2007 y 2009).

Como conclusión se comprobó la linealidad de todos los analitos en el rango de concentraciones establecidos en las Tablas 3.3 y 3.4.

3.5. ENSAYO DE RECUPERACIÓN

El ensayo de recuperación fue utilizado para evaluar la precisión, exactitud, estimar la incertidumbre y calcular el límite de cuantificación del método.

Para el ensayo de recuperación se contaminaron artificialmente muestras blanco a distintos niveles de concentración y una muestra blanco sin contaminación fue incluida como “cero”. Se realizó el ensayo por triplicado, realizando duplicado de inyección. En las Tablas de la 3.5 a la 3.18 se presentan los resultados obtenidos para los niveles que cumplieron con los criterios de aceptación descritos en el *Capítulo 2. (Punto 2.4.1.)*.

El procedimiento fue el siguiente:

- Se retiró del congelador 9 muestras blanco.
- Se añadió 150 μL de *Solución de Trabajo HCB de 20 $\mu\text{g/mL}$* .
- A 8 de las 9 muestras blanco se les agregó 500 μL de *Soluciones Mezcla de Patrones para Fortificación* de 0,1 $\mu\text{g/mL}$; 0,2 $\mu\text{g/mL}$; 0,3 $\mu\text{g/mL}$; 0,4 $\mu\text{g/mL}$; 0,7 $\mu\text{g/mL}$; 1,5 $\mu\text{g/mL}$; 3,5 $\mu\text{g/mL}$ y 6 $\mu\text{g/mL}$. Se dejó reposar 5 minutos.
- Se agregó 10 mL de agua desionizada fría (5-10 °C), se agitó manualmente unos segundos.
- Se sonicó durante 5 minutos.
- Se agregó 15 mL AcH al 1% en acetonitrilo (5-10 °C).
- Se añadió el contenido de un *Tubo de Extracción* (*Capítulo 2. Punto 2.1.2.*) a cada muestra fortificada y luego se agitó manualmente 1 minuto.
- Se sonicó durante 5 minutos y luego se centrifugó a 5000 g durante 3 minutos a 5 °C.
- A 9 *Tubos de Limpieza* (*Capítulo 2. Punto 2.1.2.*) se les añadió una alícuota de 1 mL de sobrenadante de cada tubo.
- Se agitó los tubos durante 30 segundos y se sonicó durante 5 minutos. Luego se centrifugó a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
- En 9 viales de GC se colocó 500 μL del sobrenadante.

- Se añadió 50 μL de *Solución de Trabajo de TPP* de 2 $\mu\text{g/mL}$ y 25 μL de acetonitrilo.
- Se tapó y agitó cada vial.

3.5.1. Exactitud

La exactitud del método fue evaluada para cada analito en los diferentes niveles de concentración calculando la recuperación porcentual (R %) obtenida durante el ensayo.

Tabla 3.5: Concentraciones utilizadas para Diclorvós en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD %_{Reprod.} y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Diclorvós				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	80,9	0,0023	27,8	32,0
0,020	96,9	0,0053	26,4	28,8
0,032	99,3	0,0068	21,3	26,9
0,040	102,4	0,0092	23,1	26,0
0,069	110,3	0,0130	18,9	23,9
0,17	85,2	0,0201	12,2	21,0
0,33	81,1	0,0404	12,2	18,9
0,60	102,5	0,0715	11,9	17,3

Tabla 3.6: Concentraciones utilizadas para Clorpirifós Metil en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD % y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Clorpirifós Metil				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	103,4	0,0015	26,8	31,9
0,020	94,6	0,0026	23,1	28,5
0,032	84,1	0,0032	10,1	26,4
0,040	97,6	0,0050	12,6	26,3
0,069	82,8	0,0087	12,8	24,0
0,16	112,7	0,0232	14,2	21,0
0,33	96,1	0,0437	13,3	18,6
0,60	100,9	0,0731	12,3	17,2

Tabla 3.7: Concentraciones utilizadas para Pirimifós Metilo en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Pirimifós Metil				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,012	94,0	0,0017	24,7	31,3
0,023	95,0	0,0024	10,2	28,2
0,037	104,6	0,0055	14,7	26,3
0,046	80,1	0,0065	14,0	25,4
0,080	81,8	0,0093	11,6	23,4
0,19	115,1	0,0277	14,5	20,5
0,38	100,4	0,0547	14,3	18,5
0,70	99,0	0,1003	14,4	16,9

Tabla 3.8: Concentraciones utilizadas para Fenitrotión en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Fenitrotión				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD(mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	87,8	0,0014	23,7	32,0
0,020	91,6	0,0034	17,0	28,9
0,032	91,0	0,0048	15,1	26,9
0,040	99,1	0,0065	16,3	26,0
0,069	95,0	0,0107	15,5	23,9
0,16	101,7	0,0225	13,7	21,0
0,33	96,7	0,0450	13,7	18,9
0,60	105,0	0,0864	14,5	17,3

Tabla 3.9: Concentraciones utilizadas para Malatión en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Malatión				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,011	110,8	0,0013	25,5	31,7
0,022	103,5	0,0022	10,4	28,5
0,034	109,2	0,0033	9,6	26,6
0,043	108,6	0,0064	14,9	25,7
0,074	107,8	0,0091	12,3	23,7
0,18	75,7	0,0180	10,1	20,8
0,36	113,8	0,0479	13,5	18,7
0,65	102,2	0,0865	13,4	17,1

Tabla 3.10: Concentraciones utilizadas para Clorpirifós Etil en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Clorpirifós Etil					
Conc. Nom.(mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz	
0,010	110,5	0,0021	23,7	31,9	
0,021	111,4	0,0042	20,5	28,7	
0,033	103,9	0,0046	13,9	26,8	
0,041	90,0	0,0070	17,0	25,9	
0,071	96,8	0,0146	20,5	23,8	
0,17	114,1	0,0297	17,5	20,9	
0,34	86,2	0,0609	18,0	18,8	
0,62	106,3	0,0673	10,9	17,2	

Tabla 3.11: Concentraciones utilizadas para Alfa-Endosulfán en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Alfa-Endosulfán					
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz	
0,032	95,2	0,0074	24,5	26,9	
0,040	102,9	0,0097	21,5	26,0	
0,068	100,0	0,0120	17,6	24,0	
0,16	95,1	0,0217	13,3	21,0	
0,33	88,3	0,0394	12,1	18,9	
0,59	101,9	0,0556	9,4	17,3	

Tabla 3.12: Concentraciones utilizadas para Beta-Endosulfán en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Beta-Endosulfán					
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz	
0,040	113,7	0,0069	21,2	26,0	
0,069	82,1	0,0088	22,7	23,9	
0,17	96,0	0,0210	12,7	21,0	
0,33	102,4	0,0496	15,0	18,9	
0,60	100,3	0,0853	14,2	17,3	

Tabla 3.13: Concentraciones utilizadas para Endosulfán Sulfato en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Endosulfán Sulfato					
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz	
0,069	93,1	0,0140	20,3	23,9	
0,17	95,6	0,0233	18,1	21,0	
0,33	101,1	0,0600	18,1	18,9	
0,60	84,1	0,0398	6,6	17,3	

Tabla 3.14: Concentraciones utilizadas para Permetrina en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Permetrina				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % _{Media}	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,020	95,2	0,0031	25,7	28,8
0,032	99,4	0,0064	20,1	26,9
0,040	84,9	0,0053	13,1	26,0
0,069	100,2	0,0114	16,5	23,9
0,17	99,4	0,0232	14,1	21,0
0,33	102,9	0,0458	13,9	18,9
0,60	111,9	0,0621	10,4	17,3

Tabla 3.15: Concentraciones utilizadas para Cipermetrina en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Cipermetrina				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % _{Media}	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	91,6	0,0022	22,4	32,0
0,020	112,2	0,0051	25,5	28,8
0,032	113,1	0,0035	11,0	26,9
0,040	95,9	0,0046	11,4	26,0
0,069	95,1	0,0140	20,3	23,9
0,17	94,3	0,0236	14,3	21,0
0,33	88,3	0,0401	12,2	18,9
0,60	78,6	0,0456	7,6	17,3

Tabla 3.16: Concentraciones utilizadas para Fenvalerato en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Fenvalerato				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % _{Media}	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	91,1	0,0020	23,8	32,0
0,020	101,7	0,0025	22,4	28,8
0,032	82,1	0,0020	6,1	26,9
0,040	93,4	0,0035	8,8	26,0
0,069	103,8	0,0062	9,0	23,9
0,17	102,3	0,0198	12,0	21,0
0,33	92,9	0,0495	15,0	18,9
0,60	111,9	0,0559	9,3	17,3

Tabla 3.17: Concentraciones utilizadas para Esfenvalerato en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

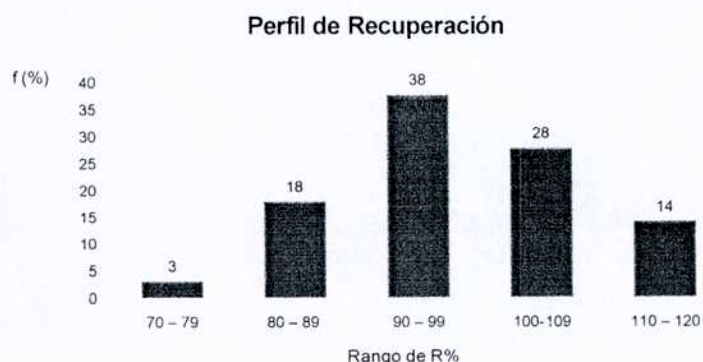
Esfenvalerato				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,010	90,4	0,0020	20,6	32,1
0,020	90,7	0,0038	21,4	28,9
0,032	85,8	0,0029	9,1	26,9
0,040	93,4	0,0045	11,3	26,0
0,068	95,0	0,0112	16,4	24,0
0,16	99,7	0,0322	19,8	21,0
0,33	94,4	0,0481	14,7	18,9
0,59	82,7	0,0478	8,1	17,3

Tabla 3.18: Concentraciones utilizadas para Deltametrina en los ensayos de recuperación y sus correspondientes R %, SD, RSD y resultado de la Ecuación de Horwitz.

Deltametrina				
Conc. Nom. (mg/kg)	R % Media	SD (mg/kg)	RSD %	Horwitz
0,020	103,5	0,0047	23,4	28,8
0,032	100,6	0,0045	21,0	26,9
0,040	89,1	0,0079	19,8	26,0
0,069	76,7	0,0076	11,0	23,9
0,17	90,2	0,0269	16,3	21,0
0,33	112,1	0,0410	12,4	18,9
0,60	99,5	0,0850	14,1	17,3

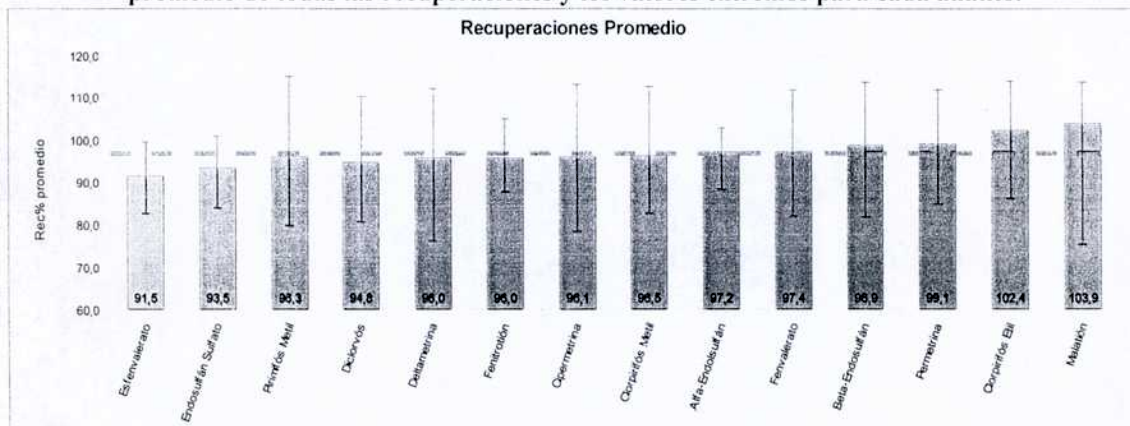
Las recuperaciones oscilaron entre 75,7% (Malatión) y 115,1% (Pirimifós Metil). El Gráfico 3.B muestra la frecuencia porcentual para distintos rangos de recuperación. Se observa que el 65% de las recuperaciones se encuentra entre 90 – 109%, 21% para R % < 90% y solo 14% para R % > 110.

Gráfico 3.B: Resultados obtenidos en el ensayo de recuperación (0,01 – 0,6 mg/kg), agrupados por rangos de R % en función de la frecuencia relativa porcentual (f%).



El Gráfico 3.C presenta las R % promedio de cada analito, se muestra una línea discontinua horizontal que representa el promedio general de todas las recuperaciones (97,2 %). En cada barra se trazó una línea vertical, cuyos extremos corresponden a los valores máximos y mínimos. Esfenvalerato presentó la menor R % media (91,5 %) y Malatión la mayor R % media (103,9 %).

Gráfico 3.C: Recuperaciones porcentuales promedio agrupadas por analito. Se muestra el promedio de todas las recuperaciones y los valores extremos para cada analito.



El Documento SANCO No.10684/2009 recomienda un rango de aceptación entre 70 – 120 %. Aunque, sugiere considerar recuperaciones menores, en forma excepcional, cuando se demuestre una buena precisión y se conozca la causa de la baja recuperación. El criterio utilizado por Lehotay durante un ensayo interlaboratorio en la evaluación de la metodología QuEChERS es 70 – 120 % (Lehotay, 2007).

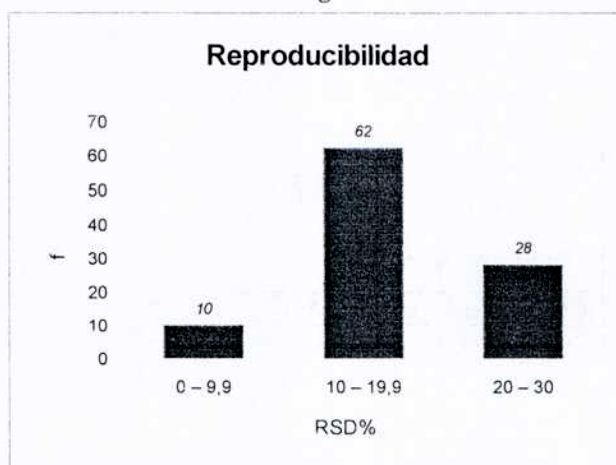
El criterio de aceptación establecido en el presente trabajo para la recuperación en cada nivel de fortificación fue de 70 a 120% (*Capítulo 2. Punto 2.4.1.*).

Como conclusión se pudo comprobar que la metodología propuesta logra exactitud aceptable para Diclorvos, Clorpirifós Metil, Pirimifós Metil, Fenitrotión, Malatión, Clorpirifós Etil, Cipermetrina, Fenvalerato y Esfenvalerato en el rango de 0,01 a 0,60 mg/kg; para Permetrina y Deltametrina entre 0,02 a 0,6 mg/kg y para Endosulfán – α entre 0,03 a 0,60 mg/kg, Endosulfán – β entre 0,04 a 0,6 mg/kg y para Endosulfán sulfato entre 0,07 a 0,60 mg/kg.

3.5.2. Precisión

La precisión de la metodología fue evaluada como reproducibilidad para cada analito en los diferentes niveles de concentración estudiados durante el ensayo de recuperación. La reproducibilidad se calculó como RSD % (Tablas 3.5 – 3.18). La frecuencia absoluta en función de RSD % se presenta en el Gráfico 3.F.

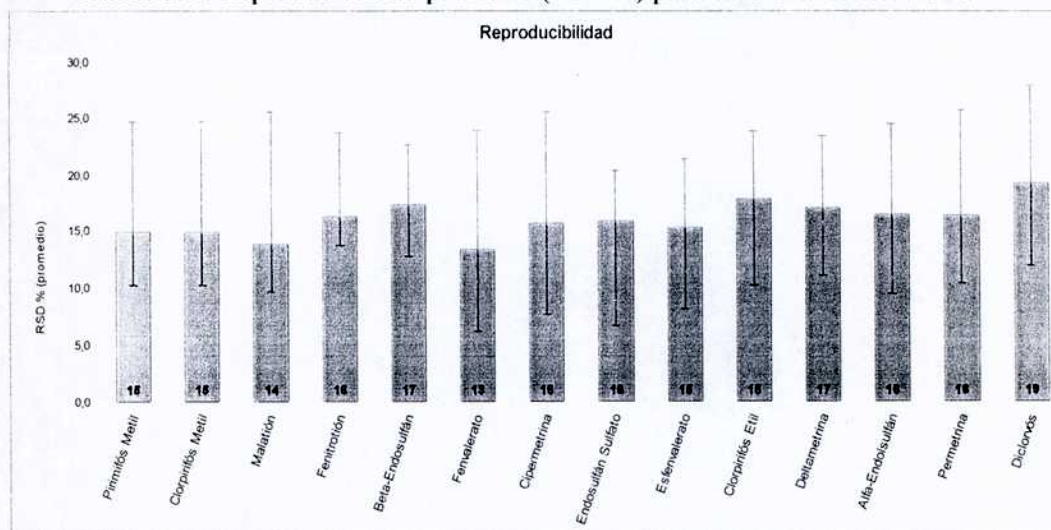
Gráfico 3.F: Distribución de frecuencias absolutas de RSD % promedio agrupados por rangos.



Los valores de RSD % obtenidos variaron entre 6,1 % (Fenvalerato) y 27,8 % (Diclorvós). En el caso de Diclorvós la variación podría originarse por ser el plaguicida de mayor volatilidad, como lo propone Lehotay (2007) durante su estudio. Sin embargo, a diferencia de la metodología aplicada por Lehotay (2007) nuestro procesamiento se realizó en condiciones de baja temperatura en la mayoría de las etapas. Por otra parte, dos plaguicidas con elevado punto de fusión, Permetrina (RSD % = 25,7 %) y Cipermetrina (RSD % = 25,5 %), presentaron grandes valores de RSD % similares al de Diclorvós.

El Gráfico 3.G presenta los promedios de RSD % para cada analito. Los valores máximos y mínimos se muestran en forma de líneas verticales.

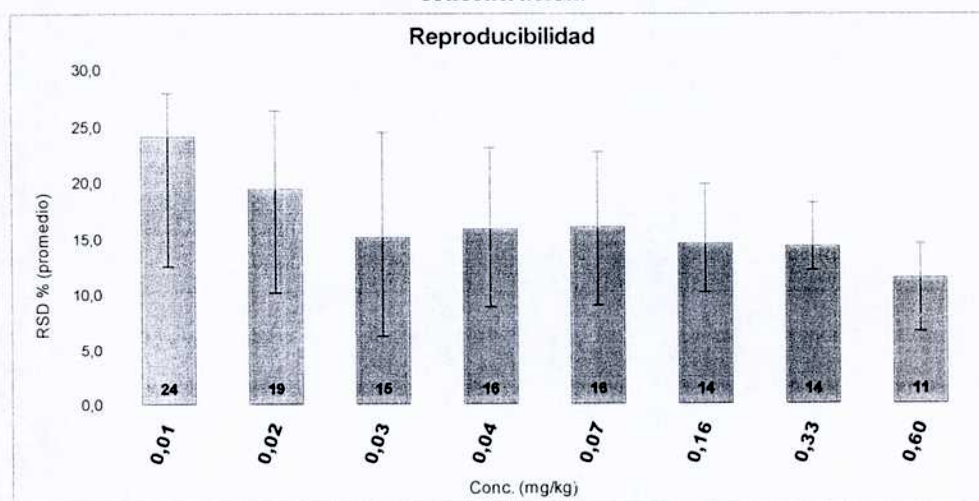
Gráfico 3.G: Reproducibilidad promedio (RSD %) para cada analito estudiado.



Los mayores valores de RSD % promedio correspondieron a Diclorvos (19 %), Clorpirifós Etil (18 %), Deltametrina (17 %) y Beta Endosulfán (17 %). Estos cuatro plaguicidas presentan volatilidades diferentes reflejando la baja influencia de esta propiedad en la precisión del método.

Las variaciones de RSD % en función de los niveles de concentración estudiados pueden verse en el Gráfico 3.H.

Gráfico 3.H: Reproducibilidad (RSD %) promedio en función de las distintos niveles de concentración.



Se observó que los niveles de concentración mas bajos (0,01 - 0,02 mg/kg) presentaron valores de RSD % promedio más altos (24 % y 19 %, respectivamente).

respectivamente) y el nivel mas alto mostró el menor RSD % promedio (11 %), lo cual es esperable al analizar la ecuación de Horwitz (Alder y col., 2001).

El Documento SANCO No.10684/2009 recomienda un RSD % de reproducibilidad ≤ 20 %. Sin embargo, laboratorios oficiales de la Unión Europea publican reportes de validación de metodología QuEChERS, aceptando valores de RSD % menores o iguales a los obtenidos de la Ec. Horwitz (Herrmann y col., 2007, 2008 y 2009).

El criterio de aceptación establecido en el presente trabajo fue el valor de RSD% observado para cada nivel investigado $\leq$ RSD % calculado según la ecuación de Horwitz (*Capítulo 2. Punto 2.4.1.*).

Como conclusión se pudo comprobar que con la metodología propuesta se logra la precisión aceptable para Diclorvós, Clorpirifós Metil, Pirimifós Metil, Fenitrotión, Malatión, Clorpirifós Etil, Cipermetrina, Fenvalerato y Esfenvalerato en el rango de 0,01 a 0,60 mg/kg; para Permetrina y Deltametrina entre 0,02 a 0,6 mg/kg y para Endosulfán – α entre 0,03 a 0,60 mg/kg, Endosulfán – β entre 0,04 a 0,6 mg/kg y para Endosulfán sulfato entre 0,07 a 0,60 mg/kg.

3.5.3. Incertidumbre

En la actualidad, no hay acuerdo sobre el método que debe aplicarse para estimar la incertidumbre en el análisis de residuos de plaguicidas. Sin embargo, la expresión de la incertidumbre de la medición es buena estimación de la calidad de los resultados analíticos (CCRP, 2009).

La incertidumbre de un método se puede calcular de acuerdo a varias metodologías: método por etapas o modelo “bottom-up” analizando cada actividad analítica; método “top-down” basado en los datos de validación, cartas de control, etc.; método NORDTEST que utiliza datos de validación y pruebas de aptitud; método que utiliza la Ecuación de Horwitz que se basa en datos bibliográficos – empíricos; etc. (CCRP, 2009; Norma Oficial CODEX CAC/GL 59, 2006; Resolución 138/2002 – SENASA, 2003; Anastassiades y col., 2005; Magnusson y col., 2003; EURACHEM/CITAC Guide GC 4, 2007; Alder y col., 2001).

El Documento SANCO No.10684/2009 reconoce la utilidad de trabajar a partir de la reproducibilidad, pero recomienda realizar el análisis de las fuentes de incertidumbre (heterogeneidad de la muestra, submuestreo, ensayos interlaboratorios, etc.) para incluirlas en el cálculo de incertidumbre del método. Sugiere el uso de una incertidumbre del 50 %, si previamente la estimación resultó menor al 50 %.

Stepan y col. 2004, trabajaron con un método multiresiduo (piretroides, carbamatos y azoles) utilizando cromatografía gaseosa con detectores convencionales (NPD y ECD) y de espectrometría de masas. Para estimar la incertidumbre del método identificaron y cuantificaron las diferentes fuentes de incertidumbre (preparación de los patrones, calibración de los equipos, recuperación, respuesta de los detectores, etc.). Finalmente concluyeron que las principales fuentes de incertidumbre fueron los procesos de extracción, purificación y la determinación cromatográfica (repetibilidad y recuperación). De forma similar, Walorczyk y col. (2009) para la estimación de la incertidumbre del método solo consideran como fuentes de incertidumbre la repetibilidad de los fortificados y la recuperación promedio.

En el presente trabajo se estimó la incertidumbre expandida (U) del método utilizando la reproducibilidad y la recuperación, siguiendo las recomendaciones Resolución 138/2002 – SENASA (2002) y sus modificaciones, como se describe en el *Capítulo 2. (Punto 2.4.1.)*. Los resultados se expresaron en porcentaje y se presentan en la Tabla 3.19.

Tabla 3.19: Límite de Detección (LD), Límite de Cuantificación (LC) e Incertidumbre expandida (U) del método.

	U (%)	LC (mg/kg)	LD (mg/kg)
Diclorvós	34	0,014	0,007
Clorpirifós Metil	26	0,010	0,005
Pirimifós Metil	26	0,010	0,005
Fenitrotión	27	0,008	0,004
Malatión	23	0,008	0,004
Clorpirifós Etil	21	0,013	0,006
Alfa-Endosulfán	26	0,045	0,022
Beta-Endosulfán	28	0,041	0,021
Endosulfán Sulfato	22	0,084	0,042
Permetrina	27	0,019	0,009
Cipermetrina	24	0,013	0,007
Fenvalerato	26	0,012	0,006
Esfenvalerato	24	0,012	0,006
Deltametrina	23	0,028	0,014

Los valores estimados para la incertidumbre expandida (U) del método estuvieron entre 21 % y 34 %. Como era de esperar el valor mas alto corresponde a Diclorvós (34 %), dados los resultados obtenidos R % 80,9 % y RSD % 27,8 % para su nivel de 0,010 mg/kg.

Existen numerosos artículos que presentan distintas formas de estimar la incertidumbre expandida de un método obteniendo resultados que van desde < 10% hasta 50% y luego asumen una incertidumbre expandida para el método de 50% por recomendación del Documento SANCO No.10684/2009 (Banerjee y col., 2007; Stajnbaher y col., 2003; Walorczyk y col., 2009; Economou y col., 2009; Kmellár y col., 2008 y Chung y col., 2010).

Como conclusión se comprobó que todos los valores estimados de incertidumbre de medición son aceptables para su empleo en el análisis de residuos de plaguicidas en alimentos según las recomendaciones del Documento SANCO No.10684/2009.

3.5.4. Sensibilidad

Para evaluar la sensibilidad del método se calcularon los LC y LD del método para cada residuo investigado. Con el fin de determinar los LD y LC se calculó el desvío estándar (Tabla 3.5 a 3.18) del menor nivel de concentración que cumplió con los criterios de aceptación establecidos para Precisión y Exactitud. Los valores de LD y LC se establecieron como múltiplos del desvío estándar (3 y 6, respectivamente), como se detalla en el *Capítulo 2. (Punto 2.4.1.)*.

Los LD y LC se presentan en la Tabla 3.19, puede verse que los analitos presentaron LC entre 0,008 mg/kg (Fenitrotión y Malatión) y 0,084 mg/kg (Endosulfán Sulfato). Los mayores LC correspondieron a Endosulfán- β ; α y sulfato; 0,041 mg/kg; 0,045 mg/kg y 0,084 mg/kg, respectivamente. El elevado LC de estos tres analitos puede deberse a que durante la ionización generan gran cantidad de iones con mucha abundancia y solo una fracción de este analito inyectado origina el ión de cuantificación, dando LC y variabilidad elevados (Lehotay, 2007; Stepan y col., 2004).

Deltametrina y Permetrina mostraron comportamientos no satisfactorios para los criterios propuestos al nivel de concentración 0,01 mg/kg. Mastovska y col. (2010); Stepam y col. (2004) mencionan estos dos analitos como piretroides de baja sensibilidad al trabajar con GC-MS.

Los LC obtenidos en el presente trabajo son menores que los Límites Máximos de Residuos (LMR) de Argentina y los recomendados por el Codex Alimentarius (Anexo A). Solo los LC de Diclorvós y Endosulfán Sulfato se encuentran por encima de los LMR establecidos por la Unión Europea.

Como conclusión el método aplicado proporciona una adecuada sensibilidad para la legislación nacional (Resolución 507/2008 – SAGPyA); europea (excepto para Endosulfán y Diclorvós) (Reglamento (CE) N° 396/2005) y para las recomendaciones del Codex.

3.6. DISCUSIÓN GENERAL

Almacenamiento y estabilidad de los patrones

Existen diferentes recomendaciones sobre el tiempo de estabilidad de los plaguicidas en solución y las formas de evaluarlo. Lehotay (2006) afirma que el tolueno en general, es el solvente de elección para la preparación de soluciones patrón de plaguicidas. Debido a que, entre otros beneficios, las soluciones son útiles por más de 10 años. Leng y Gries (2006) utilizan durante 6 meses sus soluciones de Piretroides con una concentración de 1 mg/ml, preparadas en acetonitrilo almacenándolas a -18 °C. Albero y col. (2005) preparan sus soluciones de reserva y trabajo en Acetato de Etilo, almacenándolas a 4°C durante tres meses y una semana, respectivamente. El Método EPA 8270D (EPA, 1998) indica un almacenamiento a -10 °C o menos y la renovación anual de soluciones patrón, de no encontrarse indicios previos de degradación. Por otra parte, el Documento SANCO No.10684/2009, refiere evidencias de soluciones preparadas con acetona y tolueno, cuya estabilidad sería mayor a 5 años. Sin embargo, recomienda el estudio de la estabilidad en cada caso en particular. En cuanto a las condiciones de almacenamiento todas las recomendaciones indican ausencia de luz y humedad, recipientes que impidan la evaporación y bajas temperaturas.

Para la realización de este trabajo las soluciones se almacenaron en freezer al abrigo de la luz y humedad. Las soluciones de reserva se utilizaron por tres meses y las diluciones semanalmente.

Método aplicado

Uno de los objetivos del trabajo fue la aplicación de la metodología QuEChERS, por considerarla práctica, moderna, segura y actualmente se publican muchos artículos de distintas nacionalidades aplicando técnicas basadas en los mismos fundamentos (Pizzutti y col. 2007 y 2009; Walorczyk y col., 2009; Mastovska y col. 2010; Albero y col. 2003 y 2005; Koesukwiwat y col., 2010; Kolberg y col. 2011; etc.) y es utilizada como metodología oficial (EN 15662:2008, "Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method"; AOAC Official Method

2007.01, “Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate”; Herrmann y col. 2007, 2008 y 2009).

Los métodos oficiales fueron modificados en el presente trabajo debido a las diferencias de la matriz estudiada (maíz). A continuación se realiza una breve discusión al respecto.

El procedimiento descrito por Lehotay (2007) es aplicado a matrices vegetales, como por ejemplo, naranja, uva y lechuga (AOAC Official Method 2007.01). Estas son consideradas de “alto contenido acuoso” por el Documento SANCO No.10684/2009. Mientras que el maíz es una matriz de “alto contenido de almidón y/o proteínas y bajo contenido de agua y grasas”.

Según *Pesticide Analytical Manual* (FDA, 1999) el grano de maíz entero molido tiene contenido lipídico de 3,86 % y humedad del 10,91 %. En el Método AOAC Official Method 2007.01, trabajan con naranja (lípidos 0,12 % y humedad 86,75 %), uva (lípidos 0,35-0,58 % y humedad 81-80%) y lechuga (lípidos 0,2 % y humedad 95 %).

Lehotay (2006) sugiere la aplicación del método a matrices con humedad del 75 %. La cantidad de maíz analizado fue de 5 g y el agregado de 10 mL agua, incrementó su humedad al 76 %. Con esta etapa inicial de hidratación se favorece la extracción de los residuos de plaguicidas. Además, en la extracción se añadió sulfato de magnesio (para favorecer la partición) y acetato de sodio (para tamponar a pH≈4,5; con los 15 mL de ácido acético al 1% en acetonitrilo).

La otra diferencia importante en la composición de la matriz fue el contenido lipídico. El Método AOAC Official Method 2007.01, sugiere agregar 50 mg de C18 por cada mililitro de *extracto* utilizado en la etapa de limpieza, para matrices con lípidos > 1 %. La purificación del extracto se llevó a cabo con 1 mL del extracto combinando 150 mg de sulfato de magnesio para eliminar el agua, 50 mg de PSA y de C₁₈ que remueven ácidos grasos, hidratos de carbono, etc. (Anastassiades y col., 2003(a); Lehotay y col., 2005(a), (b) y (c); Lehotay, 2006).

Durante todo el proceso se buscó mantener baja la temperatura para evitar la descomposición o volatilización de los analitos (Fussell y col., 2002; Herrmann y col., 2007, 2008 y 2009). En la hidratación del maíz se agregó agua refrigerada entre 5 - 10 °C. Del mismo modo se realizó la extracción, con 15 mL de ácido

acético al 1 % en acetonitrilo entre 5 - 10 °C. Luego las dos etapas de centrifugación se realizaron a 5 °C.

La etapa analítica se llevó a cabo utilizando cromatografía gaseosa acoplada a un detector de espectrometría de masas. El grano de maíz con su contenido de ácidos grasos, produjo los inconvenientes antes mencionados durante el análisis con GC-MS (Figuras 3.VII a 3.IX, 3.XV y 3.XVI).

Una metodología QuEChERS desarrollada por Mastovska y col. (2010) logra minimizar los efectos negativos de los ácidos grasos en la cromatografía. Este procedimiento emplea 2,5 g de maíz, en la extracción utiliza $\text{MgSO}_4/\text{NaCl}$ (salting out) y para la purificación emplea 50 mg C_{18} y 150 mg de PSA. Koesukwiwat y col (2010); reportan resultados equivalentes trabajando con semillas de lino y maníes en similares condiciones. Estas publicaciones fueron sorprendentes pero no novedosas (Anastassiades y col., 2003(a)) puesto que diversas publicaciones valoraban la incorporación del buffer (Acetato o Citrato) por la estabilización de plaguicidas de sensibilidad conocida al pH, como por ejemplo asulam, cycloxydim, ethimirol, metil tiofanato, pymetrozine, etc. (Lehotay y col., 2005(b), Lehotay, 2006 y 2007, Pizzutti y col., 2007 y 2009).

Los analitos problemáticos en este estudio fueron los Endosulfán, esto se debió a los problemas cromatográficos relacionados a los ácidos grasos (Figura 3.XV) que no se pudo eliminar con la metodología propuesta ni por medio de modificaciones en el sistema cromatográficos.

Existe otra razón, relacionada con su forma de ionización que genera muchos iones de gran abundancia y solo una fracción el ion de cuantificación, como se explicó en el *Punto 3. 5. 4.* (Lehotay, 2007; Stepan y col., 2004).

La evaluación del método aplicado se llevó a cabo según las recomendaciones de agencias internacionales y organizaciones gubernamentales con experiencia en el análisis de residuos de plaguicidas. Entre ellas SENASA, ISO (International Organization for Standardization), AOAC (Association of Official Analytical Chemists International), Codex Alimentarius (FAO/OMS), el DG SANCO (Directorate General for Health and Consumer Affairs, UE). Estas organizaciones redactan guías para normalizar métodos y establecer

procedimientos considerando idoneidad, confiabilidad y practicidad con el objetivo de favorecer el comercio.

La *Idoneidad* refiere a las buenas prácticas del laboratorio (BPL). Al respecto los ensayos y el trabajo diario del laboratorio se realizan según las recomendaciones establecidas para cualquier laboratorio de análisis (Norma ISO 19011:2005; Norma ISO 14001:2005). Sin embargo, se añaden otras relacionadas al manejo de plaguicidas, comprobación de buen funcionamiento de equipos, empleo de materiales de referencias certificados, calibraciones periódicas tanto del material como de los equipos, capacitación del personal, mantenimiento de registros, etc. (Norma ISO/IEC 17025:2005; Norma Oficial Codex CAC/GL 40, 1993; Document SANCO No.10684/2009)

La *confiabilidad* se obtuvo comparando criterios objetivos de aceptación (publicaciones científicas y recomendaciones de las organizaciones, antes mencionadas) con los resultados experimentales. Los parámetros objetivos fueron:

- Proporcionalidad entre concentración de analito y la respuesta del instrumento. Para esto se evaluaron linealidad, rango de linealidad y Curva de Calibración en matriz.

- Dispersión en una serie de resultados trabajando con diferentes muestras blanco fortificadas a un mismo nivel y a distintos niveles de concentración, evaluando la precisión a través de la reproducibilidad.

- Diferencia entre el valor hallado en el análisis y el valor esperado, analizando parámetros de exactitud y recuperación.

- Cantidad mínima de analito requerida para obtener una señal o respuesta significativa: Se determinó límite de detección y límite de cuantificación.

- Se evaluó la capacidad del método para determinar los analitos con la presencia de otras sustancias presentes en la muestra (Selectividad y especificidad).

La *Practicidad* del procedimiento aplicado es propia de las metodologías QuEChERS. Se trata de métodos multiresiduos, fácilmente adaptable a otras matrices vegetales e incluso animales. Dos analistas procesan fácilmente más de 50 muestras en un día de trabajo regular (menos de 8 hs, teniendo el material

preparado y las muestras pesadas). Los materiales empleados son habituales en el laboratorio y el extracto final es compatible para cromatografía líquida y gaseosa (Pizzutti y col. 2007 y 2009; Walorczyk y col., 2009; Mastovska y col. 2010; Albero y col. 2003 y 2005; Koesukwiwat y col., 2010; Kolberg y col. 2011; etc.). Otra característica destacable es el número reducido de etapas simples (agitar, centrifugar, etc.), lo cual reduce la variabilidad de los resultados (Anastassiades y col., 2003(a)). Sin embargo, la variabilidad en la medición de pequeños volúmenes produce un efecto negativo en la reproducibilidad (Lehotay, 2007), para lo cual se trabajó con un estándar subrogado (HCB).

Por otra parte, la instrumentación del laboratorio (GC-MS) fue clave para trabajo. Aunque los adelantos informáticos y las ventajas del empleo de este equipamiento son altamente recomendables para el análisis de residuos de plaguicidas (Norma ISO/IEC 17025:2005; Norma Oficial Codex CAC/GL 40, 1993; Document SANCO No.10684/2009), es destacable la importancia del conocimiento y la experiencia de personal en la obtención del óptimo desempeño del sistema (Lehotay, 2007).

3.7. MUESTRAS ANALIZADAS

El total de muestras recibidas en el laboratorio fueron 231, se analizaron 192 muestras. De las 39 muestras restantes 20 eran duplicados de las 192 analizadas y el resto no se procesó debido a que se remitieron al laboratorio en forma inadecuada (sin rótulos, paquetes abiertos, granos de maíz entero, etc.).

Del total de muestras analizadas 165 correspondieron a Cintas de Embarque y 27 a Terminales Portuarias. Las muestras se procesaron siguiendo la metodología descrita en el *Capítulo 2. (Figura 2.II)*.

Se realizó la inyección por duplicado y se informó el promedio en mg/kg. Para considerar válido el resultado obtenido la relación TPP/HCB (área de los picos) debía mantenerse consistente (± 2 SD) y la recuperación (R %) del control de calidad de la tanda debía encontrarse entre 70 – 120 % (*Capítulo 2. Punto 2.4.1.*).

En esta parte del trabajo Endosulfán es considerado como la suma de Endosulfán α , Endosulfán β y Endosulfán Sulfato (expresado como Endosulfán α ó β); Permetrina es la suma de sus isómeros; Cipermetrina es la suma de sus isómeros; Fenvalerato es la suma de sus isómeros y Deltametrina es la suma de sus isómeros (Resolución 507/2008 – SAGPyA; Document SANCO No. 10684/2009).

Las Tablas 3.20 y 3.21 exhiben la procedencia de las muestras remitidas al laboratorio y el número de detectadas, considerando detectadas aquellas muestras con al menos un residuo cuyo contenido fuera $\geq$ LD.

Tabla 3.20: Procedencia y número de muestras detectadas en Cintas de Embarque.

Cintas de Embarque		
Puertos	n	Detectadas
Villa Constitución	31	13 (42%)
Ingeniero White	19	10 (53%)
Rosario/San Lorenzo/San Martín	88	45 (51%)
Quequén	27	17 (63%)

En aproximadamente el 52% de las muestras procedentes de Cintas de Embarques se encontraron residuos de plaguicidas. El puerto de Quequén mostró la mayor frecuencia relativa (63%).

Tabla 3.21: Procedencia y número de muestras detectadas en Terminales Portuarias.

Terminal Portuaria		
Procedencia	n	Detectados
Alejandro Roca (Cba)	1	1
Ascensión (Bs As)	1	-
Balcarce (Bs As)	3	-
Bolívar (Bs As)	2	1
Bordenave (Bs As)	1	-
Colón (E R)	1	-
Darregueira (Bs As)	1	1
Gral. Villegas (Bs As)	4	1
Gral. Pico (Bs As)	1	-
Lobería (Bs As)	2	1
Morteros/Brinkman (Cba)	2	-
Rufino (Sta Fé)	1	1
Salta (Salta)	1	-
San Pedro (Bs As)	2	-
Tandil (Bs As)	2	1
Tucumán (Tucumán)	2	2

En Terminales Portuarias cerca del 33% de las muestras analizadas presentaron al menos un residuo de pesticida (Tabla 3.21).

Para estudiar la aplicación simultánea de diferentes agentes fitosanitarios y su posible relación con las zonas, se construyó la Tabla 3.22.

Tabla 3.22: Distribución de muestras detectadas y no detectadas (ND), según número de residuos de plaguicidas encontrados.

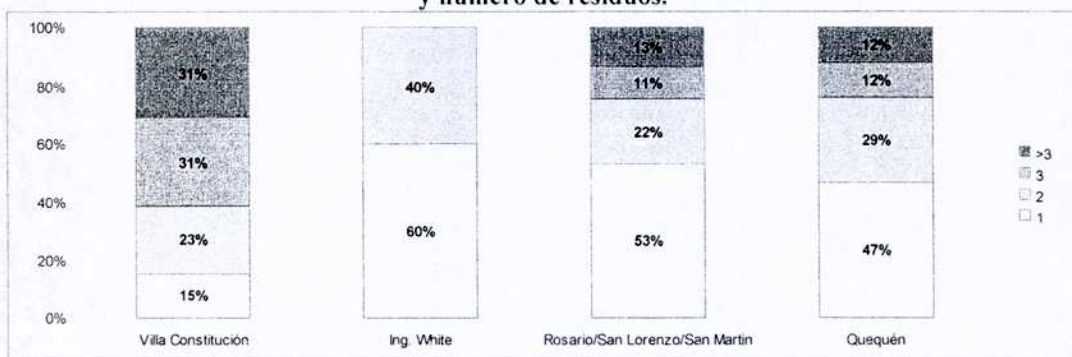
Nº residuos detectados	Número de muestras totales	Cintas de Embarque	Terminal Portuaria
ND	98	80	18
1	44	40	4
2	23	22	1
3	12	11	1
4	8	7	1
5	5	4	1
6	2	1	1

No se detectaron residuos de plaguicidas en 98 muestras (51 %; n = 192). En Terminales Portuarias el 67 % (n = 27) fue ND y en Cintas de Embarques el 48 % (n = 165).

El 53 % ($n = 50$) de las muestras detectadas presentan más de un residuo de plaguicida. En Cintas de Embarque el 47 % ($n = 40$) de las muestras presentaron 1 residuo y solo una muestra presentó 6 residuos (en Villa Constitución). Entre las muestras detectadas ($n = 9$) provenientes de Terminales Portuarias el 44% ($n = 4$) presentó 1 residuo, en el resto se presentó más de un residuo.

El Gráfico 3.I presenta la frecuencia de aparición simultánea de residuos de pesticidas encontrados en Cinta de Embarque.

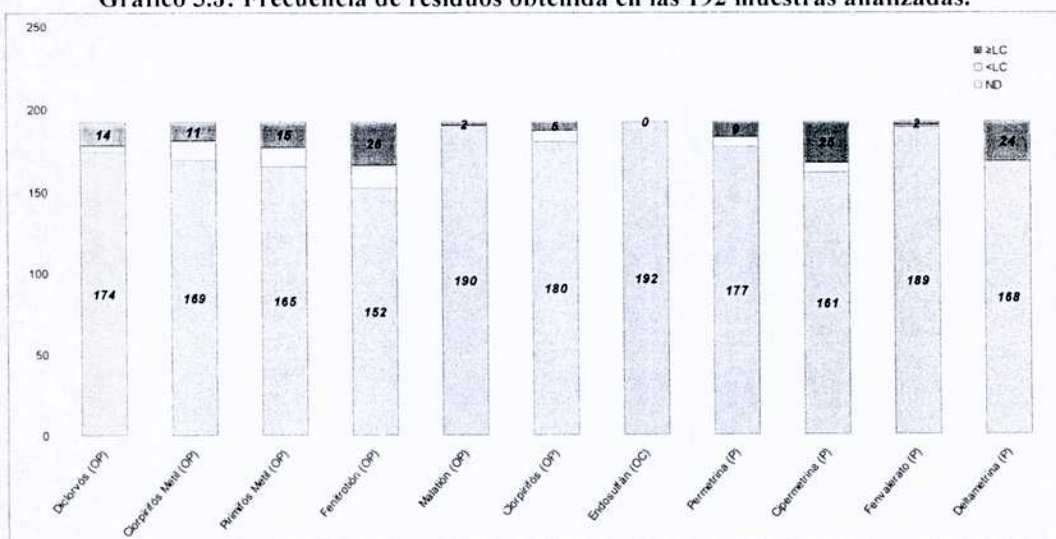
Gráfico 3.I: Distribución de muestras de Cintas de Embarque detectadas según localización y número de residuos.



En el Gráfico 3.I puede verse que en Ing. White solo se encontraron muestras con 1 y 2 residuos, mientras que las restantes localizaciones presentan muestras con 1; 2; 3 y >3 residuos. Se destaca Villa Constitución por presentar bajo porcentaje de muestras con un solo residuo y elevada frecuencia para 3 y >3 residuos.

La frecuencia de los residuos estudiados se muestra en el Gráfico 3.J.

Gráfico 3.J: Frecuencia de residuos obtenida en las 192 muestras analizadas.

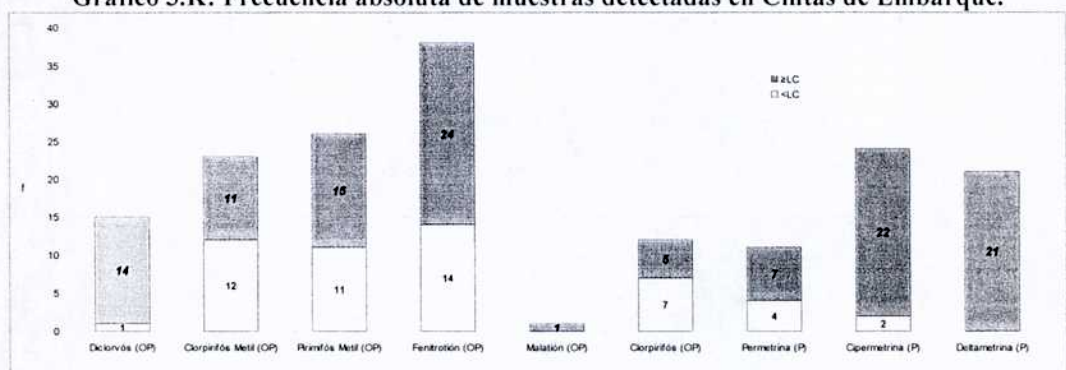


El residuo de plaguicida más frecuentemente detectado fue Fenitrotión ($n = 40$) seguido por Cipermetrina ($n = 31$). También se destacan la escasa aparición de Malatión ($n=2$), Fenvalerato ($n=3$) y la ausencia de Endosulfán. Para todos los analitos el resultado más frecuente fue ND.

Los organofosforados (OP) aparecieron en 122 determinaciones, los piretroides (P) en 73 y no se detectó organoclorados (OC).

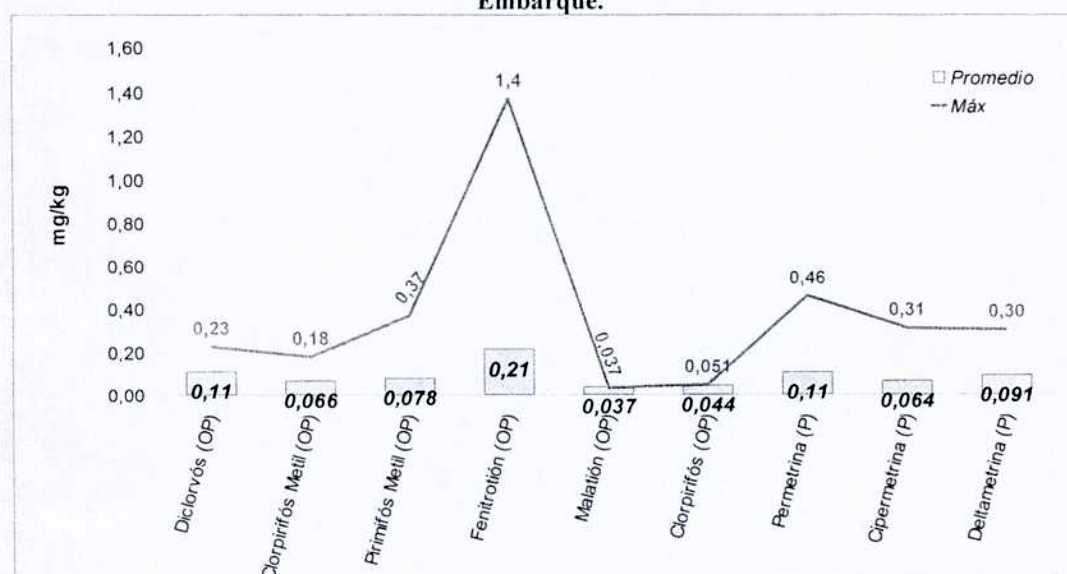
Analizando solo los casos detectados de Cintas de Embarque, nuevamente Fenitrotión ($n = 38$) fue el más frecuente, seguido por Pirimifós Metil ($n = 26$), Cipermetrina ($n = 24$) y Clorpirifós Metil ($n = 23$) (Gráfico 3.K).

Gráfico 3.K: Frecuencia absoluta de muestras detectadas en Cintas de Embarque.



En el Gráfico 3.L, se observan los promedios para los 133 valores cuantificados ($\geq LC$), correspondiente a cada residuo, para muestras de Cintas de Embarque.

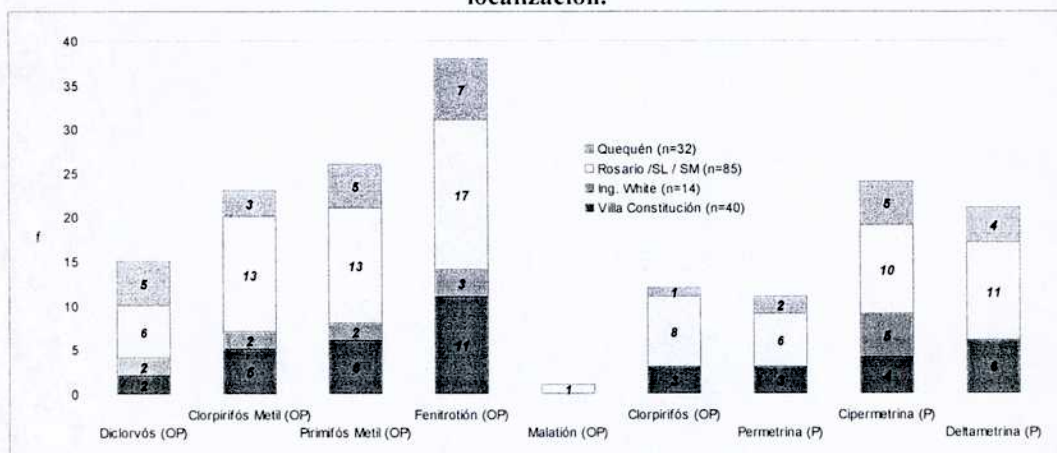
Gráfico 3.L: Niveles promedio (negrita) y máximos (rojo) observados en Cintas de Embarque.



Fenitrotión presentó el promedio más alto (0,21 mg/kg) seguido por Diclorvós (0,11 mg/kg) y Permetrina (0,11 mg/kg). El mayor valor también lo presentó Fenitrotión (1,4 mg/kg). Luego se encuentra Permetrina (0,46 mg/kg) y Pirimifós Metil (0,37 mg/kg).

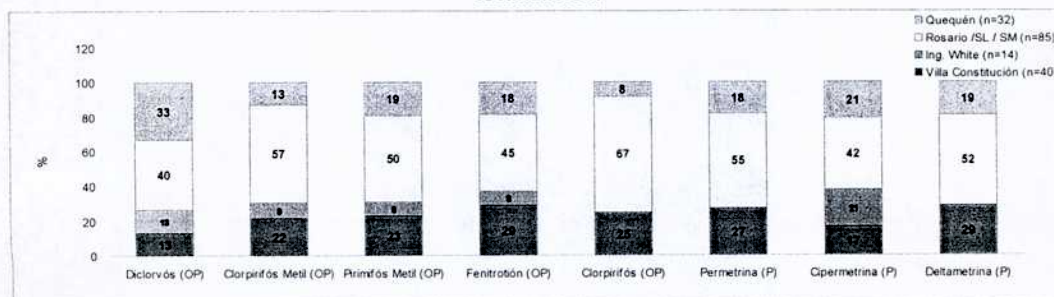
Los Gráficos 3.M y 3.N muestran la distribución de los casos detectados en Cinta de Embarque ($n = 171$) según su localización.

Gráfico 3.M: Distribución de frecuencia absoluta de analitos detectados agrupados por localización.

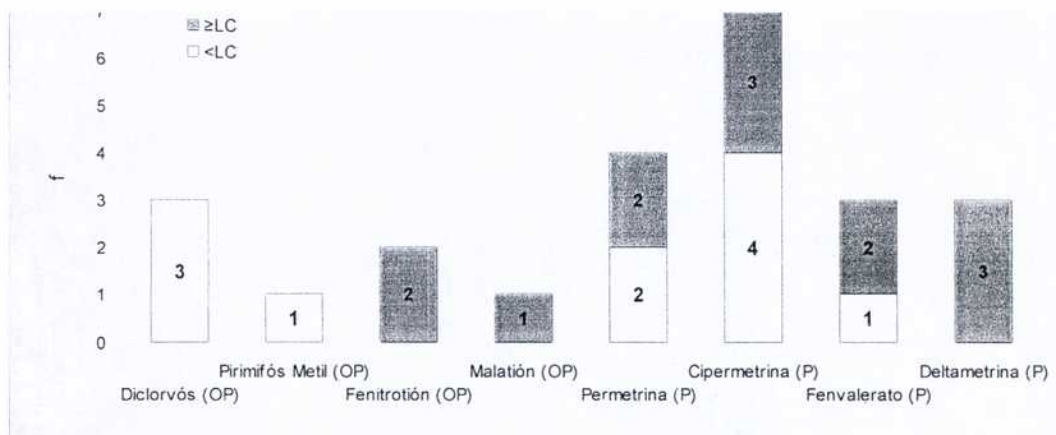


En Rosario/San Lorenzo/San Martín se detectaron 85 casos y representa el mayor porcentaje en todos los plaguicidas analizados, de 40 – 67 %; seguido por Villa Constitución ($n = 40$; 13 – 29 %); Quequén ($n = 32$; 8 – 33 %) y por último, Ing. White (14; 0 – 5 %).

Gráfico 3.N: Distribución de frecuencia relativa (%) de analitos detectados agrupados por localización.



En 9 muestras de Terminales Portuarias se detectaron residuos de pesticidas. En el Gráfico 3.O puede verse que el 54 % ($n = 13$) de los casos detectados se pudieron cuantificar ($\geq LC$).



La Tabla 3.22 exhibe los casos en los cuales los LMR se excedieron. De acuerdo a los LMR establecidos por la Unión Europea (Reglamento (CE) N° 396/2005 del Parlamento Europeo, 2005) los residuos de plaguicidas que presentaron valores superiores fueron Diclorvós (n = 14); Fenitrotión (n = 13); Permetrina (n = 5); Clorpirifós Etil (n = 1); Cipermetrina (n = 1) y Fenvalerato (n = 1).

Los LMR establecidos por el Codex (LMR_{CDX}), no fueron superados en ningún caso. Tomando la legislación Argentina, solo Cipermetrina (n = 4) presentó valores > LMR_{ARG}. En el Anexo A puede observarse que el LMR establecido por Argentina para Cipermetrina, es inferior al del Codex y de la Comunidad Europea.

Tabla 3.23: Número de determinaciones superiores a los LMR analizados.

	>LMR _{EU} [*]	>LMR _{CDX} ^{**}	>LMR _{ARG} ^{***}
Diclorvós	14	0	0
Fenitrotión	13	0	0
Clorpirifós	1	0	0
Permetrina	5	0	0
Cipermetrina	1	0	4
Fenvalerato	1	0	0

* Reglamento (CE) N° 396/2005 del Parlamento Europeo y modif.(<http://ec.europa.eu/>)

** http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp

*** Resolución 507/2008 – SAGPyA

CONCLUSIONES

- El método utilizado proporciona una adecuada selectividad, linealidad, precisión, exactitud y la estimación de la incertidumbre fue realizada para todos los residuos de pesticidas estudiados.
- La metodología es sencilla y de bajo costo (pequeños volúmenes de solvente y rápida), adecuada para organismos de control y evaluación rutinaria del cumplimiento de legislación nacional y del Codex.
- Esta metodología ha sido aplicada al estudio de 192 muestras de maíz correspondientes a la campaña 2007/2008 a los puertos Ingeniero White; Rosario; San Martín; San Lorenzo; Villa Constitución y Quequén.
- En 85 muestras se detectaron al menos un residuo de plaguicida, de las cuales 50 presentaron más de un residuo. De estas 50 muestras 23 muestras presentaron 2 residuos; 12 con 3; 8 con 4; 5 con 5 y 2 muestra con 6 residuos.
- El orden de frecuencia de aparición de los plaguicidas fue: Fenitrotión ($n = 40$) > Cipermetrina ($n = 31$) > Pirimifós Metil ($n = 27$) > Deltametrina ($n = 24$) > Clorpirifós Metil ($n = 23$) > Diclorvos ($n = 18$) > Permetrina ($n = 15$) > Clorpirifós ($n = 12$) > Fenvalerato ($n = 3$) > Malatión ($n = 2$) > Endosulfán ($n = 0$).
- Considerando la legislación nacional, solo 4 muestras presentaron niveles superiores al LMR, siendo Cipermetrina el plaguicida involucrado. Sin embargo, todas las muestras presentaron niveles permitidos según los LMR del Codex.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera-Luiz, M.M.; Martínez Vidal, J.L.; Romero-González, R.; Garrido Frenich, A. 2008. "Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1205, p. 10-16.

Akiyama, Y.; Yoshioka, N.; Tsuji, M. 2002. "Pesticide Residues in Agricultural Products Monitored in Hyogo Prefecture, Japan, FYs 1995-1999" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 85, n° 3, p. 692-703.

Albero, B.; Sánchez-Brunete, C.; Tadeo, J. L. 2003. "Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Honey by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography/Mass Spectrometry" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 86, n° 3, p. 576-582.

Albero, B.; Sánchez-Brunete, C.; Tadeo, J. L. 2005. "Multiresidue determination of pesticides in juice by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry" En: *Talanta*, vol. 66, p.917-924.

Alder, L.; Korth, W.; Patey, A. L.; Van Der Schee, H. A. 2001. "Estimation of Measurement Uncertainty in Pesticide Residue Analysis" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 84, n° 5, p. 1562 - 1574.

Anastassiades, M.; Lehotay, S. J.; Stajnbaher, D.; Schenck, F. J. 2003 (a). "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid phase extraction for the determination of pesticide residues in produce" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 86, p.412-431.

Anastassiades, M.; Mastovská, K.; Lehotay, S. J. 2003 (b). "Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides". En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1015, p. 163-184.

Anastassiades, M; Scherbaum, E. 2005. "Sample handling and clean-up procedures II" En: "Chromatographic-Mass Spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues". Fernández-Alba, A. R. (ed.). Amsterdam. Elsevier Inc. p. 75-111. ISBN: 0-444-50943-7.

Arata, A. A. 1986. "Perspectivas del Uso de Plaguicidas: Historia, Situación Actual y Necesidades Futuras" En: "Plaguicidas, Salud y Ambiente". Mexico. Albert L. A. (ed.). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. p. 3-14.

- Ávila, A. K.; Araujo, T. O.; Couto, P. R. G.; Borges, R. M. H. 2004. "Comparação da estimativa de incerteza de medição na determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com chama por diluição gravimétrica e volumétrica" Rio de Janeiro Disponible en internet: <http://www.inmetro.gov.br/>
- Banerjee, K.; Oulkar, D. P.; Dasgupta, S.; Patil, S. B.; Patil, S.H.; Savant, R.; Adsule, P. G. 2007. "Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1173, p. 98–109.
- Banerjee, K.; Oulkar, D. P.; Patil, S. B.; Jadhav, M. R.; Dasgupta, S.; Patil, S.H.; Bal, S.; Adsule, P. G. 2009. "Multiresidue Determination and Uncertainty Analysis of 87 Pesticides in Mango by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry" En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, p. 4068–4078.
- Barceló, D.; Hennion, M.C. 1997. "Trace determinations of pesticides and their degradations products in waters" Amsterdam: Elsevier Inc. 542 p. ISBN 0-444-81842-1.
- Barry, E. F.; Grob, R. L. 2007. "Columns for gas chromatography: Performance and Selection" New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. p. 1–13. ISBN 978-0-471-74043-8.
- Bettencourt da Silva, R.; Lino, M.; Santos, J.; Camões, F. 2000. "Estimation of precision and efficiency mass transfer steps for the determination of pesticides in vegetables aiming at the expression of results with reliable uncertainty" En: *The Royal Society of Chemistry*, vol. 125, p.1459–1464.
- Bodalbhai, L. H.; Yokley, R. A.; Cheung, M. W. 1998. "Analytical Method for the Determination of Atrazine and Its Dealkylated Chlorotriazine Metabolites in Urine by Gas Chromatography/Mass Selective Detection" En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46, p.161–167
- Cajka, T.; Hajslova, J.; Lacina, O.; Mastovska, K.; Lehotay, S. J. 2008. "Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection–low–pressure gas chromatography–high–resolution time–of–flight mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, p. 281–294.
- CCRP, 2009. "Informe de la 41a Reunión del Comité del CODEX sobre Residuos de Plaguicidas. Beijing (China), 20 – 25 de abril de 2009". Disponible en Internet: www.codexalimentarius.net
- Clark, M. S.; Ferris, H.; Klonsky, K.; Lanini, W. T.; Van Bruggen, A.H.C.; Zalom, F. G. 1998. "Agronomic, economic, and environmental and alternative

tomato and corn systems in northern California” En: *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol. 68, p. 51–71.

Código Alimentario Argentino, 2005. Ed. De la Canal y Asociados. Bs. As., Argentina.

Cole, D.; Mera–Orcés, V. 2003. “Intoxicaciones por plaguicidas incidencia e impacto económico” En: “Los plaguicidas impacto en producción, salud y medio ambiente en Carchi Ecuador” Quito: Yanggen, D.; Crissman, C.; Espinosa, P. (eds.). Ediciones Abya–Yala. p. 95–113.

Comisión del Codex Alimentarius, 2006. “Manual de procedimiento” Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, Roma. Decimoctava Edición. ISBN 978-92-5-305700-9. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

Coscolla, R. 1993. “Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales” Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 205p. ISBN: 84-7114-441-7

Cunha, S.C.; Fernandes, J. O.; Alves, A.; Oliveira, M. B. P. P. 2009 “Fast low–pressure gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of multiple pesticides in grapes, musts and wines”. *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p.119–126.

Cunha, S. C.; Lehotay, S. J.; Mastovska, K.; Fernandes, J. O.; Oliveira, M. B. P. P. 2007. “Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives” En: *Journal of Separation Science*, vol. 30, p. 620–632.

Cunha, S.C.; Lehotay, S. J.; Mastovska, K.; Fernandes, J. O.; Oliveira, M. B. P. P. 2010. “Sample Preparation Approaches for the Analysis of Pesticide Residues in Olives and Olive Oils” En: “Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention”. Londres. Preedy, V. R. y Watson, R. R. (ed.), Academic Press–Elsevier Inc. p. 656–666. ISBN:978–0–12–374420–3.

Chen, G.; Cao, P.; Liu, R. 2011. “A multi–residue method for fast determination of pesticides in tea by ultra performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry combined with modified QuEChERS sample preparation procedure” En: *Food Chemistry*, vol. 125, p. 1406–1411.

Chun, O. K.; Kang H. G.; Kim, M. H. 2003. “Multiresidue Method for the Determination of Pesticides in Korean Domestic Crops by Gas Chromatography/Mass Selective Detection” En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 86, n° 4, p. 823–831.

Chung, S. W. C.; Chan, B. T. P. 2010. “Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography–tandem mass spectrometry in analysis of ultra–trace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate

residues in a total diet study involving diversified food types” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, p. 4815–4824.

Dagnac, T.; Garcia-Chaoa, M.; Pulleiroa, P.; Garcia-Jaresb, C.; Llompartb, M. 2009. “Dispersive solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the multi-residue analysis of pesticides in raw bovine milk” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p. 3702–3709.

Díez, C.; Traag, W.A.; Zommerb, P.; Marinero, P.; Atienza, J. 2006. “Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1131, p. 11–23.

Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Gonzalez, L. A.; Tablada, E. M.; Díaz, M. P.; Robledo, C. W.; Balzarini, M. G. 2003. “Estadística para las Ciencias Agropecuarias” Quinta edición. Argentina. Edición Electrónica. 304p. ISBN: 987-9452-89-5

Disposición 125/2006 – SENASA, Dirección de Laboratorios y Control Técnico, Control de Residuos en productos de origen animal. 2006. “Confirmaciones de residuos de sustancias prohibidas. Incorpóranse “parámetros de validación” Martínez: 2006. Disponible en internet: <http://www.infoleg.gov.ar/>

Document SANCO No.10684/2009. 2009. “Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed”. Pihlström, Tuija (Coord.) Disponible en Internet: <http://www.ec.europa.eu/>

Dunovska, L.; Cajka, T.; Hajslova, J.; Holadova, K. 2006 “Direct determination of acrylamide in food by gas chromatography–high–resolution time–of–flight mass spectrometry” En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 578, p. 234–240.

Economou, A.; Botitsi, H.; Antoniou, S.; Tsipi, D. 2009. “Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p. 5856–5867.

Engewald, W.; Teske, J.; Efer, J. 1999. “Programmed temperature vaporiser–based injection in capillary gas chromatography” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 856, p. 259–278.

EPA, 1998. “Method 8270D: Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry, CG/MS”

EU (European Union) Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2009. <http://www.crl-pesticides-datapool.eu/>

EURACHEM/CITAC Guide CG 4, 2007. "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" Second Edition. 125 p. ISBN 0 948926 15 5.

Fagerquist, C. K.; Lightfield, A. R.; Lehotay, S. J. 2005. "Confirmatory and Quantitative Analysis of β -Lactam Antibiotics in Bovine Kidney Tissue by Dispersive Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry" En: *Analytical Chemistry*, vol. 77, p. 1473-1482.

FAO, 1985. "Directrices para el registro y control de los plaguicidas (con un plan modelo para la creación de organizaciones nacionales)" Roma. 1985. Addenda. FAO, Roma. 1988. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1988 (a). "Directivas para la vigilancia y otras actividades que se realizan después del registro en el sector de los plaguicidas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1988 (b). "Directrices para la distribución al por menor de plaguicidas con especial referencia almacenamiento en el punto de suministro a los usuarios en países en desarrollo" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1988 (c). "Directrices para el registro de agentes biológicos destinados al control de plagas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1989. "Normas revisadas sobre criterios ecológicos para el registro de plaguicidas". Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1990. "Directrices para la protección de las personas que manipulan plaguicidas en climas tropicales" FAO, Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1991. "Directrices sobre la introducción inicial y elaboración posterior de un sistema nacional sencillo de registro y control de plaguicidas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1995. "Directrices revisadas para el etiquetado correcto de plaguicidas" FAO, Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1996 (a). "Declaración de Roma sobre la Seguridad Alimentaria Mundial y Plan de Acción de la Cumbre Mundial sobre la Alimentación" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 1996 (b). "Manual sobre el almacenamiento y el control de existencias de plaguicidas. Colección FAO: Eliminación de plaguicidas n° 3" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2001 (a). "Guías sobre la organización y operación de esquemas de adiestramiento y procedimientos de certificación para operarios de equipos de aplicación de plaguicidas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2001 (b). "Guías sobre los estándares para equipos de aplicación de plaguicidas agrícolas y procedimientos de pruebas relacionados" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2001 (c). "Guías sobre los procedimientos para el registro, certificación y prueba de nuevos equipos para la aplicación de plaguicidas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2001 (d). "Guías sobre requisitos mínimos para equipos de aplicación de plaguicidas agrícolas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2001 (e). "Guidelines on the organization of schemes for testing and certification of agricultural pesticide sprayers in use" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2002 (a). "Guías sobre buenas prácticas para la aplicación aérea de plaguicidas" FAO, Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2002 (b). "Guías sobre buenas prácticas para la aplicación terrestre de plaguicidas" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO, 2004: "El Estado Mundial de Agricultura y la Alimentación 2003–2004" Roma. Edición: "Grupo de la producción y diseño editorial Servicio de Gestión de las Publicaciones FAO", ISBN 92–5–305079–9. Disponible en Internet: <ftp://ftp.fao.org/>

FAO, 2006. "Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas" Roma. ISBN 92–5–305411–5 Disponible en Internet: <ftp://ftp.fao.org/>

FAO, 2009. "Perspectivas de cosechas y situación alimentaria, Mayo 2009" Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

FAO-PNUMA, 1998. "Convenio de Rotterdam para la Aplicación del Procedimiento de Consentimiento Fundamentado Previo a Ciertos Plaguicidas y Productos Químicos Peligrosos Objeto de Comercio Internacional" Ginebra. Disponible en Internet: <http://www.pic.int>.

FAO/OMS, 2005 (a). "Establecimiento de los términos de carencia de plaguicidas en diferentes cultivos" Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe. Costa Rica. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/>

FAO/OMS, 2005 (b). "Metodología para el Establecimiento de Límites Máximos de Residuos Nacionales" Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe. Costa Rica. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/>

- FDA, 1999. "Pesticide Analytical Manual Volume I: Multiresidue Methods" (3^o Ed). US Department of Health and Human Services, Washington, DC, vol. I y II. Disponible en Internet: <http://www.fda.gov/>
- Fiddler, W.; Pensabene, J. W.; Gates, R. A.; Donoghue, D. J. 1999. "Supercritical Fluid Extraction of Organochlorine Pesticides in Eggs" En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, p. 206–211.
- Franco, D. 2006. "Productos de Maíz. Análisis de la cadena alimentaria" En: "Alimentos Argentinos" vol. 32, Disponible en Internet: www.alimentosargentinos.gov.ar/
- Fussell, R. J., Jackson-Addie, K., Reynolds, S. L., and Wilson, M. F. 2002. "Assessment of the stability of pesticides during cryogenic sample processing. 1. Apples". En: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 50, p.441–448.
- Fussell, R. J.; Hetmanski, M. T.; Macarthur, R.; Findlay, D.; Smith, F.; Ambrus, A.; Brodesser, P. J. 2007. "Measurement Uncertainty Associated with Sample Processing of Oranges and Tomatoes for Pesticide Residue Analysis". En: *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 55, p. 1062–1070.
- Gamón, M.; Concha, L.; Ten, A. 2001. "Multiresidue Determination of Pesticides in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 84, N°4, p.1209–1216.
- García, J. E. 1998. "Intoxicaciones agudas con plaguicidas: costos humanos y económicos" En: *Revista Panamericana de Salud Pública*, vol. 4, n° 6.
- Garrido Frenich, A.; Martínez Vidal, J. L.; Fernández Moreno, J. L.; Romero-González, R. 2009. "Compensation for matrix effects in gas chromatography–tandem mass spectrometry using a single point standard addition" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p.4798–4808.
- Gilbert-López, B.; García-Reyes, J. F.; Lozano, A.; Fernández-Alba, A.R.; Molina-Díaz, A. 2010. "Large-scale pesticide testing in olives by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry using two sample preparation methods based on matrix solid–phase dispersion and QuEChERS" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, p. 6022–6035.
- Grain Market Report N° 399, 2010. "Conferencia sobre Cereales 2010 del CIC Londres - 8 de junio" International Grains Council. Disponible en internet: <http://www.igc.int/>
- Grob, K.; Biedermann, M. 1996. "Vaporising systems for large volume injection or on–line transfer into gas chromatography: classification, critical remarks and suggestions" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 750, p. 11–23.

Hayama, T.; Takada, M. 2008. "Simple and rapid method for the determination of ethylenebisdithiocarbamate fungicides in fruits and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometry" En: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 392, p. 969–976.

Hercegova, A.; Domotorova, M.; Matisova, E. 2007. "Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1153, p. 54–73.

Herrera de Pablo, J. C. I.; Oar, B.A.; López Perez, R.; Vergara García, N.; Escobar García, M.A.; Pascual, G. 2007. "Evaluación de la incertidumbre de medida en el análisis de residuos de plaguicidas" En: *Libro de Resúmenes del IV Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios*. Disponible en Internet: <http://www.iberolab.org/>

Herrmann, S. S.; Poulsen, M. E. 2007. "Validation Report: Determination of pesticides in cereals using the QuEChERS method and GC-ITD" CRL for Cereals and Feeding stuff – National Food Institute – Technical University of Denmark. Disponible en Internet: <http://www.crl-pesticides.eu/>

Herrmann, S. S.; Poulsen, M. E. 2008. "Validation Report: Determination of pesticide residues in cereals by GC-MS/MS (QuEChERS method)" – CRL for Cereals and Feeding stuff – National Food Institute –Technical University of Denmark. Disponible en Internet: <http://www.crl-pesticides.eu/>

Herrmann, S. S.; Poulsen, M. E. 2009. "Validation Report: Determination of pesticide residues in cereals by GC-MS/MS (QuEChERS method)" – CRL for Cereals and Feeding stuff – National Food Institute –Technical University of Denmark. Disponible en Internet: <http://www.crl-pesticides.eu/>

Hill, A. R. C.; Harris, C. A.; Warburton, A. G. 2000. "Effects of Sample Processing on Pesticide Residues in Fruit and Vegetables" En: "Principles and Practices of Method Validation" Fajgelj, A. y Ambrus, E. (ed.). Cambridge. The Royal Society of Chemistry, p. 41–48. ISBN 0–85404–783–2.

Hill, A. R. C.; Reynolds, S. L. 1999. "Guidelines for in-house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds" En: *Analyst*, vol. 124, p.953–958. Disponible en Internet: <http://www.rsc.org/>

Hill, A. R. C.; Startin, J. R.; Fussell, R. J. 2005. "Quality control for pesticide residues Analysis (Chapter 1)". En: "Chromatographic–Mass Spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues". Fernández–Alba, A. R. (ed.). Amsterdam. Elsevier Inc. p 1 – 38. ISBN: 0–444–50943–7.

Hoh, E.; Mastovska, K. 2008. "Large volume injection techniques in capillary gas chromatography" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, p. 2–15.

Hyotylainen, T. 2008. "On–line coupling of extraction with gas chromatography" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, p. 39–50.

JMPR, 2001. "Monografías y Evaluaciones toxicológicas producidas por WHO/FAO Joint Meeting on Pesticide Residues, JMPR". Ginebre. Disponible en Internet: <http://www.inchem.org/>

Johnson, P. D. Rimmer, D. A.; Brown, R.H. 1997. "Adaptation and application of a multi–residue method for the determination of a range of pesticides, including phenoxy acid herbicides in vegetation, ased on high–resolution gel permeation chromatographic clean–up and gas chromatographic analysis with mass–selective detection" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 765, p. 3–11.

Kinsella, B.; Lehotay, S.J.; Mastovska, K.; Lightfield, A.R.; Furey, A.; Danaher, M. 2009. "New method for the analysis of flukicide and other anthelmintic residues in bovine milk and liver using liquid chromatography–tandem mass spectrometry" En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 637, p. 196–207.

Kirchner, M.; Matisova, E.; Otrekala, R.; Hercegova, A.; Zeeuw, J. 2005. "Search on ruggedness of fast gas chromatography–mass spectrometry in pesticide residues analysis" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1084, p. 63–70.

Kirchner, M.; Huskova, R.; Matisova, E.; Mocak, J. 2008. "Fast gas chromatography for pesticide residues analysis using analyte protectants" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, p. 271–280.

Kmellár, B.; Fodor, P.; Pareja, L.; Ferrer, C.; Martínez–Uroz, M. A.; Valverde, A.; Fernandez–Alba, A. R. 2008. "Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi–class vegetables by liquid chromatography–tandem mass spectrometry" *Journal of Chromatography A*, vol. 1215, p. 37–50.

Koesukwiwat, U; Lehotay, S. J.; Mastovska, K; Dorweiler, K; Leepipatpiboon, N. 2010. "Extension of the QuEChERS Method for Pesticide Residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs" En: *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, p. 5950–5958.

Koesukwiwat, U.; Sanguankaew, K.; Leepipatpiboon, N. 2008. "Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry" En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 626, p. 10–20.

Kolberg, D.; Prestes, O.; Adaime, M.; Zanella, R. 2011. "Development of a fast multiresidue method for the determination of pesticides in dry samples (wheat grains, flour and bran) using QuEChERS based method and GC–MS". En: *Food Chemistry*, vol. 125, p.1436–1442.

Krieger, R. (ed). 2010. "HAYES's Handbook of pesticide toxicology. Classes of pesticides" (3^oEd). New York: Academic Press Inc, vol.1, p. 2342. ISBN: 978–0–12–374367–1.

Kroes, R.; Muller, D.; Lambe, J., Lowik, M.R.H.; van Klaveren, J.; Kleiner, J.; Massey, R.; Mayer, S.; Urieta, I.; Verger, P., Visconti, A. 2002. "Assessment of intake from the diet" En: *Food and Chemical Toxicology*, vol. 40, p.327–385.

Kruve, A.; Kunnapas, A.; Herodes, K.; Leito, I. 2008. "Matrix effects in pesticide multi–residue analysis by liquid chromatography–mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1187, p. 58–66.

Krska, R.; Stubbings, G.; Macarthur, R.; Crews, C. 2008. "Simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their epimers in cereals and foodstuffs by LC–MS–MS" En: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391. p. 563–576.

Lacorte, S. y Fernández–Alba, A. R. 2005. "Sample introduction techniques" En: "Chromatographic–Mass Spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues" Fernández–Alba, Amadeo R. (ed.). Amsterdam. Elsevier Inc. p. 235–268. ISBN: 0–444–50943–7.

Leandro, C. C.; Fussell, R. J.; Keely, B. J. 2005. "Determination of priority pesticides in baby foods by gas chromatography tandem quadrupole mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1085, p. 207–212.

Leandro, C. C.; Hancock, P.; Fussell, R. J.; Keely, B. J. 2006. "Comparison of ultra–performance liquid chromatography and high–performance liquid chromatography for the determination of priority pesticides in baby foods by tandem quadrupole mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1103, p. 94–101.

Leandro, C. C.; Hancock, P.; Fussell, R. J.; Keely, B. J. 2007 (a). "Quantification and screening of pesticide residues in food by gas chromatography–exact mass time–of–flight mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1166. p.152–162.

Leandro, C. C.; Hancock, P.; Fussell, R. J.; Keely, B. J. 2007 (b). "Ultra-performance liquid chromatography for the determination of pesticide residues in foods by tandem quadrupole mass spectrometry with polarity switching" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1144, p. 161–169.

Lee, J. M.; Park, J. W.; Jang, G. C.; Hwang, K. J. 2008 "Comparative study of pesticide multi-residue extraction in tobacco for gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1187. p. 25–33.

Lee, P.W. (ed.). 2003. "Handbook of Residue Analytical Methods for Agrochemicals" England: John Wiley & Sons Ltd, vol. 1 y vol. 2, 1350 p.

Lehotay, S. J. 2006. "Quick, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Approach for Determining Pesticide Residues" En: *Pesticide Protocols*. Martínez Vidal, José L.; Garrido Frenich, Antonia (ed.). New Jersey. Humana Press Inc. p. 239–261. ISBN: 1–58829–410–2.

Lehotay, S. J. 2007. "Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate". En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 90, N°2, p.485–520.

Lehotay, S. J., De Kok, A.; Hiemstra, M.; Van Bodegraven. 2005 (a). "Validation of Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruit and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 88, n° 2, p. 595–598.

Lehotay, S. J., Hajslova, J. 2002 "Application of gas chromatography in food analysis" En: *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, p. 686 – 697.

Lehotay, S. J., Hiemstra, M., van Bodegraven, P., De Kok, A. 2005 (b). "Validation of a fast and easy method for the determination of more than 200 pesticide residues in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 88, p.595–614.

Lehotay, S. J.; Lee, Ch. H. 1997. "Evaluation of a fibrous cellulose drying agent in supercritical fluid extraction and pressurized liquid extraction of diverse pesticides" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 785, p. 313–327.

Lehotay, S. J., Mastovská, K., and Lightfield, A. R. 2005 (c). "Use of buffering to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 88, p.615–629.

Lehotay, S. J., Mastovská, K., and Yun, S. J. 2005 (d). "Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrices" En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 88, p.630–638.

Leng, G. y Gries, W. 2006. "Determination of Pyrethroids in Blood Plasma and Pyrethroid/ Pyrethrin Metabolites in Urine by Gas Chromatography–Mass Spectrometry and High–Resolution GC–MS" En: "Pesticide Protocols" Martínez Vidal, José L.; Garrido Frenich, Antonia (ed.). New Jersey. Humana Press Inc. p. 17–33. ISBN: 1–58829–410–2.

Lesueur, C.; Gartner, M.; Mentler, A.; Fuerhacker, M. 2008. "Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–ion trap–mass spectrometry" En: *Talanta*, vol. 75, p. 284–293.

Liska, I.; Slobodnik, J. 1996. "Comparison of gas and liquid chromatography for analysing polar pesticides in water samples" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 733, p. 235–258

Lyn, J. A.; Ramsey, M. H.; Damant, A. P.; Wood, R. 2005. "Optimising uncertainty in physical sample preparation" En: *The Analyst*, vol. 130, p.1507–1512.

MacLachlan, D. J.; Hamilton, D. 2010. "Estimation methods for Maximum Residue Limits for pesticides" En: *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 58, p. 208–218.

MacLaferty, F.W.; Turecek, F. 1993. "Interpretation of mass spectra" (4^oEd.) California: University Science Books. 387 p. ISBN 0–935702–25–3.

MAIZAR, 2008 – Asociación Maíz y Sorgo Argentino. "Oportunidades y Desafíos para las Cadenas de Maíz y Sorgo 2008/2017" – Informe Técnico – Disponible en Internet: <http://www.maizar.org.ar/>

Magnusson, B.; Naykki, T.; Hovin, H.; Krysell, M. 2003. "Handbook for calculation of measurement uncertainties in environmental laboratories" NORDTEST Report TR 537. Disponible en Internet: www.dach-gmbh.de

Mastovska, K; Dorweiler, K; Lehotay, S. J.; Wegscheid, J.; Szpylka, K. 2010. "Pesticide Multiresidue Analysis in Cereal Grains Using Modified QuEChERS Method Combined with Automated Direct Sample Introduction GC–TOFMS and UPLC–MS/MS Techniques" En *Journal Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, p 5959–5972.

Mastovska, K.; Hajslova, J.; Lehotay, S. J. 2004. "Ruggedness and other performance characteristics of low–pressure gas chromatography–mass

spectrometry for the fast analysis of multiple pesticide residues in food crops” En: Journal of Chromatography A, vol. 1054, p. 335–349.

Mastovska, K.; Lehotay, S. J. 2006. “Rapid Sample Preparation Method for LC–MS/MS or GC–MS Analysis of Acrylamide in Various Food Matrices” En: Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 54, p. 7001–7008.

Mastovska, K.; Lehotay, S. J.; Anastassiades, M. 2005. “Combination of Analyte Protectants To Overcome Matrix Effects in Routine GC Analysis of Pesticide Residues in Food Matrixes” En: Analytical Chemistry, vol. 77, p. 8129–8137.

Mastovska, K.; Lightfield, A. R. 2008. “Streamlining methodology for the multiresidue analysis of β -lactam antibiotics in bovine kidney using liquid chromatography–tandem mass spectrometry” En: Journal of Chromatography A, vol. 1202, p. 118–123.

Ministerio de Salud de la Nación, 2002. “III Informe Estadístico de Exposiciones a Tóxicos Registradas por los CIAAT’s (Centros de Información, Asesoramiento y Asistencia Toxicológica) de la REPÚBLICA ARGENTINA – AÑO 2002” – Ministerio de Salud de la Nación, 2002. Disponible en Internet: <http://www.msal.gov.ar/>

Mol, H. G. J.; Janssen, H. G. M.; Cramers, C. A.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A. T. 1995. “Trace level analysis of micropollutants in aqueous samples using gas chromatography with on–line sample enrichment and large volume injection” En: Journal of Chromatography A, vol. 703, p. 277–307.

Motohashi, N.; Nagashima, H.; Parkanyi, C.; Subrahmanyam, B.; Zhang, G. 1996 “Official multiresidue methods of pesticide analysis in vegetables, fruits and soil” En: Journal of Chromatography A, vol. 754, p. 333–346.

Nguyen, T. D.; Lee, M. H.; Lee, G. H. 2010. “Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid–liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid phase extraction as cleanup steps and gas chromatography with mass spectrometric detection” En: Microchemical Journal, vol. 95, p. 113–119.

Norma ISO/IEC 17025:2005. “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” International Organization for Standardization.

Norma ISO 950:1979 “Cereals - Sampling (as grain)” International Organization for Standardization.

Norma ISO 19011:2005 “Directrices para la auditoria de los sistemas de gestión” International Organization for Standardization.

Norma ISO 14001:2005 “Sistemas de gestión ambiental” International Organization for Standardization.

Norma Oficial Codex CAC/GL 40, 1993. “Directrices sobre buenas prácticas en el laboratorio de residuos de plaguicidas” Disponible en Internet: <http://www.codexalimentarius.net/>

Norma Oficial Codex CAC/GL 56, 2005. “Directrices para el uso de la espectrometría de masas (EM) en la identificación, confirmación y determinación cuantitativa de residuos”. Disponible en Internet: <http://www.codexalimentarius.net/>

Norma Oficial CODEX CAC/GL 59, 2006. “Directrices sobre la estimación de Incertidumbre de los resultados”. Disponible en Internet: <http://www.codexalimentarius.net/>

OMC, 1995 (a). “Acuerdo sobre la aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias” Punta del Este. Disponible en Internet: <http://www.wto.org/>

OMC, 1995 (b). “Obstáculos técnicos al comercio” OMC, Punta del Este. Disponible en Internet: <http://www.wto.org/>

OMS, 1997. “Specifications for pesticides used in public health” Séptima edición. OMS, Ginebra. Disponible en Internet: <http://www.who.int/>

ONU, 1992. “Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo” Naciones Unidas, Nueva York. Disponible en Internet: <http://www.un.org/>

Ortelli, D.; Edder, P.; Corvi, C. 2004. “Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry” En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 520, p. 33–45.

Patil, S. H.; Banerjee, K.; Dasgupta, S.; Oulkar, D. P.; Patil, S. B.; Jadhav, M. R.; Savant, R. H.; Adsule, P. G.; Deshmukh, M. B. 2009. “Multiresidue analysis of 83 pesticides and 12 dioxin–like polychlorinated biphenyls in wine by gas chromatography–time–of–flight mass spectrometry” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p. 2307–2319.

Perkin Elmer Inc. 2006 “Clarus 600 Hardware Guide” 2006. Connecticut.

Picó, Y.; Fernández, M.; Ruiz, M.J.; Font, G. 2007. “Current trends in solid–phase–based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment” En: *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 70 p. 117–131.

Pizzutti, I. R.; De Kok, A.; Hiemstra, M.; Wickert, C.; Prestes, O. D. 2009. "Method validation and comparison of acetonitrile and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soya grain by liquid chromatography–tandem mass spectrometry". En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p. 4539–4552.

Pizzutti, I. R.; De Kok, A.; Zanella, R.; Adaime, M. B.; Hiemstra, M.; Wickert, C.; Prestes, O. D. 2007. "Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1142, p. 123–136.

Plossl, F.; Giera, M.; Bracher, F. 2006. "Multiresidue analytical method using dispersive solid–phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1135, p. 19–26.

PNUMA, 1992. "Convenio sobre la Diversidad Biológica" Montreal. Disponible en Internet: <http://www.biodiv.org/>

PNUMA, 2000. Protocolo de Montreal relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono, ajustado y/o enmendado en Londres 1990, Copenhague 1992, Viena 1995, Montreal 1997, Beijing 1999 y Nairobi. 2000. Disponible en Internet: www.unep.org/

PNUMA, 2001. "Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes" Ginebra. Disponible en Internet: <http://irpte.unep.ch/pops/>

PNUMA/OMS/FAO, 1999. "Directrices para el manejo de pequeñas cantidades de plaguicidas inutilizados y caducados. Colección FAO: Eliminación de plaguicidas n° 7" Roma. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/>

Posyniak, A.; Zmudzki, J.; Mitrowska, K. 2005. "Dispersive solid–phase extraction for the determination of sulfonamides in chicken muscle by liquid chromatography" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1087, p. 259–264.

Pouiller, C. A. 2005. "Perfil descriptivo de la cadena del maíz" Dirección de Mercados Agroalimentarios - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. 22p. Disponible en Internet: www.sagpya.gov.ar

Pouiller, C. A. 2010. "Perspectivas del maíz" En: "Alimentos Argentinos. n° 50", p. 11–14. Disponible en Internet: www.alimentosargentinos.gov.ar/

Racke, K. D. 2003. "Release of pesticides into the environment and initial concentrations in soil, water, and plants" En: *Pure and Applied Chemistry*, vol. 75, p. 1905–1916.

Reglamento (CE) N° 396/2005 del Parlamento Europeo. 2005. "Relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen

vegetal y animal y que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo”
Disponible en Internet: <http://eur-lex.europa.eu/>

Resolución 138/2002 – SENASA. 2002. “Requisitos que deberán cumplir los laboratorios que soliciten autorización para ingresar en la Red de Laboratorios del SENASA. Manuales de Calidad y de Procedimientos. Control de Productos de Origen Animal– Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA)” Buenos Aires. Disponible en Internet: <http://infoleg.mecon.gov.ar/>

Resolución 507/2008 – SAGPyA. 2008. “Sustitúyase el Anexo I y Anexo II de la Resolución N° 256/03, relacionada a tolerancias o límites máximos de residuos de plaguicidas en productos y subproductos agropecuarios. Listado de productos fitosanitarios químicos y biológicos”. Buenos Aires. Disponible en Internet: <http://www.infoleg.gov.ar/>

Reynolds, S. L. 2005. “Sample handling and clean-up procedures I”. En: *Chromatographic–Mass Spectrometric Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues*. Fernández–Alba, Amadeo R. (ed.). Amsterdam. Elsevier Inc. p. 75–111. ISBN: 0–444–50943–7

Ricca, A.P. 2006. “Aprovechamiento de granos contaminados con Fumonisina B₁ para la obtención de etanol y análisis del posterior uso de las vinazas sólidas como complemento en el alimento balanceado” Santa Fé. Tesis Doctoral presentada en la Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.

SAGPyA, 2009. www.minagri.gob.ar

Sannino, A.; Bandini, M.; Bolzoni, L. 2003. “Determination of Pyrethroid Pesticide Residues in Processed Fruits and Vegetables by Gas Chromatography with Electron Capture and Mass Spectrometric Detection” En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 86, n° 1, p. 101–108.

Schenck, F. J.; Hobbs; J. E. 2004. “Evaluation of the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) Approach to Pesticide Residue Analysis” En: *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, vol. 73, p. 24–30.

Sherma, J. 2001. “Pesticide Residue Analysis (1999–2000): A Review” En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 84, n°5, p. 1303–1312.

Shoemaker, J. 2002. “Novel Chromatographic Separation and Carbon Solid–Phase Extraction of Acetanilide Herbicide Degradation Products” En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 85, N°6, p. 1331–1337.

Skoog, D. A.; Holler, J. F.; Nieman, T. A. 2001. "Espectrometría de masas molecular". En: "Principios de Análisis instrumental". (5^{ta} Ed.) Madrid. McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U. p. 537–575. ISBN: 84-481-2775-7.

Soboleva, E.; Karam, A.; Ambrus, A. 2004. "Applicability of some mass spectrometric criteria for the confirmation of pesticide residues" En: *Analyst*, vol.129, p.1123–1129.

Stajnbaher, D.; Zupancic-Kralj, L. 2003. "Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry" En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1015, p. 185–198.

Stepan, R.; Hajslová, J.; Kocourek, V.; Tichá, J. 2004. "Uncertainties of gas chromatographic measurement of troublesome pesticide residues in apples employing conventional and mass spectrometric detectors" En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 520 p. 245–255.

Stubbings, G.; Bigwood, T. 2009. "The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged and Safe) approach" En: *Analytica Chimica Acta*, vol. 637, p. 68–78.

Teixeira, H.; Proenca, P.; Alvarenga, M.; Oliveira, M.; Marques, E.P.; Vieira, D.N. 2004. "Pesticide intoxications in the Centre of Portugal: three years analysis" En: *Forensic Science International*, vol. 143, p. 199–204.

Tiryaki, O.; Baysoyu, D.; Secer, E.; Aydın, G. 2008. "Testing the Stability of Pesticides During Sample Processing for the Chlorpyrifos and Malathion Residue Analysis in Cucumber, Including Matrix Effects". En: *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 80, p.38–43.

Van Eeckhaut, A.; Lanckmans, K.; Sarre, S.; Smolders, I.; Michotte, Y. 2009. "Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays: Evaluation of matrix effects" En: *Journal of Chromatography B*, vol. 877, p. 2198–2207.

Van Hoof, F.; Van Wiele, P.; Bruchet, A.; Schmitz, I.; Bobeldiji, I.; Sacher, F.; Ventura F. and Marti I.; Marecos Domonte, M. H.; Da Costa, M. 2001. "Multiresidue Determination of Pesticides in Drinking and Related Waters by Gas Chromatography/Mass Spectrometry after Solid-Phase Extraction: Interlaboratory Study". En: *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists International*, vol. 84, N° 5, p. 1420–1430.

Verde Calvo, J. R.; Escamilla Hurtado, M. L.; Reyes Dorantes, A.; Malpica Sánchez, F. 1999. "Manual de prácticas de química analítica II" México.

Universidad Autónoma Metropolitana–Unidad Iztapalapa. p. 11–31. ISBN: 970–654–363–5.

Walorczyk, S. 2008. “Development of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry II. Improvement and extension to new analytes” En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1208, p. 202–214.

Walorczyk, S.; Gnusowski, B. 2009 “Development and validation of a multi-residue method for the determination of pesticides in honeybees using acetonitrile–based extraction and gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry”. En: *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, p. 6522–6531.

Wang, J. y Leung, D. 2009. “Applications of Ultra–performance Liquid Chromatography Electrospray Ionization Quadrupole Time–of–Flight Mass Spectrometry on Analysis of 138 Pesticides in Fruit– and Vegetable–Based Infant Foods” En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, p. 2162–2173.

WHO, 2009. “The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009” International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. Suiza. WHO Press. ISBN 978 92 4 154796 3. ISSN 1684–1042.

WHO/UNEP/ILO, 2009 “Inventory of IPCS and other WHO pesticide evaluations and summary of toxicological evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues [JMPR] through 2009” 10° ed.; Disponible en Internet: www.who.int/ipcs/

Wilkowska, A.; Biziuk, M. 2011. “Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology” En: *Food Chemistry*, vol. 125, p. 803–812.

Xia, X.; Dong, Y.; Luo, P.; Wang, X.; Li, X.; Ding, S.; Shen, J. 2010. “Determination of benzimidazole residues in bovine milk by ultra–high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry” En: *Journal of Chromatography B*, vol. 878, p. 3174–3180.

Yu, S. J. 2008. “The Toxicology and Biochemistry of Insecticides” Florida: CRC press Inc. p. 276. ISBN: 1420059750.

Zhang, K.; Wong, J. W.; Hayward, D. G.; Sheladia, P.; Krynitsky, A.J.; Schenck, F. J.; Webster, M.G.; Ammann, J. A.; Ebeler, S. E. 2009. “Multiresidue Pesticide Analysis of Wines by Dispersive Solid–Phase Extraction and Ultrahigh–Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry” En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57. p. 4019–4029.

PAGINAS WEB CITADAS

www.bolsadecereales.com

www.crl-pesticides-datapool.eu

www.dach-gmbh.de

www.faostat.org

www.fao.org

www.inchem.org

www.iso.org

www.minagri.gob.ar

www.oncca.gov.ar

www.sagpya.gov.ar

www.usda.gov

ANEXO A

Límites Máximos de Residuos (LMR)

Límites Máximos de Residuos	Codex ** (30 marzo 2009)	ARG*** (mg/kg)	EC* (mg/kg)
Diclorvós	5,00	5,00	0,01
Clorpirifós Metil	-	5,00	3,00
Pirimifós Metil	7,00	10,00	5,00
Fenitrotión	6,00	10,00	0,05
Malatión	0,05	8,00	8,00
Clorpirifós	0,05	0,05	0,05
Endosulfán	-	0,20	0,05
Permetrina	2,00	1,00	0,05
Cipermetrina	0,30	0,10	0,30
Fenvalerato	2,00	0,10	0,02
Deltametrina	2,00	1,00	2,00
* Reg. EC No 396/2005 y modif.(http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm) ** http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp *** Resolución 507/2008 Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos			

ABREVIATURAS

AAPROTRIGO Asociación Argentina Pro Trigo

AcH Ácido acético

ACS American Chemical Society (Sociedad Química Norte Americana)

ACSOJA Asociación de la Cadena de la Soja (Argentina)

ANMAT Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (Argentina)

AOAC Association of Official Agricultural Chemists (Asociación Oficial de Químicos Agrícolas – Estados Unidos)

APCI Atmospheric Pressure Chemicals Ionization (Ionización Química a Presión Atmosférica)

AR Abundance Ratios (Relación de abundancia)

ASAGIR Asociación Argentina de Girasol (Argentina)

BPA Buenas Prácticas Agrícolas

BPL Buenas Prácticas de Laboratorio

Bs. As. Buenos Aires

CI8 Octadecano unido a sílice poroso

CAS Chemical Abstracts Service (División de la ACS)

Cba. Córdoba

CCPR Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas

CE Comunidad Europea

CE/MS Capillary Electrophoresis mass spectrometry (Electroforesis Capilar acoplada a espectrometría de masas)

CI Chemicals Ionization (Ionización química)

CIAATs	Centros de Información, Asesoramiento y Asistencia Toxicológica (Argentina)
CIARA-CEC	Cámara de la Industria Aceitera de la República Argentina – Centro de Exportadores de Cereales
CL₅₀	Concentración letal 50
CNIA	Comisión Nacional de Investigación sobre Agroquímicos (Argentina)
COFEMA	Consejo Federal de Medio Ambiente (Argentina)
COFESA	Consejo Federal de Salud (Argentina)
CONICET	Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Argentina)
CV %	coeficiente de variación porcentual
DDT	Diclorodifeniltrilcloroetano
DL₅₀	Dosis letal 50
DS	desvío estándar
ECD	Electron Capture Detector (Detector de Captura de Electrónes)
EEUU	Estados Unidos
EFSA	European Food Safety Authority (Autoridad Europea de Inocuidad Alimentaria)
EI	Electronic Impact (Impacto electrónico)
EIC	extracted ion chromatogram (Cromatograma de Ión extraído)
EPA	Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos)
ESI	Electrospray Ionization (Ionización por Electrospray)
etc.	Etcétera
eV	electrón voltio
FAB	fast atom bombardment (Bombardeo por átomos rápidos)

	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAO	(Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
FDA	Food And Drug Administration (Estados Unidos)
GC/MS	Gas Chromatography/mass spectrometry (Cromatografía Gaseosa con detector de espectrometría de masas)
GC	Gas Chromatography (Cromatografía Gaseosa)
GC-MS/MS	Gas Chromatography tandem mass spectrometry (Cromatografía gaseosa con detector de espectrometría de masas en tándem)
GMR	Grain Market Report
HCB	Hexaclorobenceno
He	Helio
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Performance)
ICP	inductively coupled plasma (Plasma acoplado inductivamente)
IDA	Ingestión Diaria Admisible
IGC	International Grains Council (Consejo Internacional de Granos)
ILO	International Labour Organization (Organización Internacional del Trabajo)
INAL	Instituto Nacional de Alimentos (Argentina)
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina)
INTI	Instituto Nacional de Tecnología Industrial (Argentina)
IPCS	International Program on Chemical Safety – WHO (Programa Internacional sobre Seguridad Química – OMS)
IRAM	Instituto Argentino de Normalización y Certificación (Argentina)
ISO/IEC	International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission
ISO	International Organization for Standardization (Organización Internacional para la Estandarización)

ISTD	Patrón Interno
IUPAC	International Union Pure and Applied Chemistry (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada)
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (Reunión Conjunta de Expertos de FAO/OMS sobre Residuos de Pesticidas)
LC	Límite de Cuantificación
LC/MS	Liquid Chromatography/mass spectrometry (Cromatografía Líquida con detector de espectrometría de masas)
LC-MS/MS	Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (Cromatografía líquida con detector de espectrometría de masas en tándem)
LD	Límite de Detección
LMR	Límite máximo de residuos
LVI	large volume injection (Inyección de Grandes Volúmenes)
m/z	masa /carga
MAGyP	Ministerio de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca (Argentina)
MAIZAR	Asociación Maíz Argentino
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (desorción/ionización láser asistida por matriz)
MeCN	Acetonitrilo
MERCOSUR	Mercado Común del Sur
MINCyT	Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (Argentina)
MS	Mass Spectrometry (Espectrometría de Masas)
MSD:	Mass Spectrometry Detector (detector de espectrometría de masas)
MSF	Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures (Medidas sanitarias y fitosanitarias)

MTEySS	Ministerio del Trabajo el Empleo y la Seguridad Social (Argentina)
NaAc	Acetato de Sodio
ND	No detectado
NEA	Nordeste Argentino
NOA	Noroeste Argentino
NOEL ó NOAEL	Not obserbale effect level ó Not obserbale adberse effect level (Nivel sin efecto adverso observable)
NPD	Nitrogen Phosphorus Detector (Detector de Nitrógeno y Fósforo)
OC	Organoclorado
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico)
OIT	Organización Internacional del Trabajo
OMC	Organización Mundial del Comercio
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONCA	Oficina Nacional de Control Comercial Agropecuario (Argentina)
OP	organofosforados
OPS	Organización Panamericana de la Salud
OTC	Agreement on Technical Barriers to Trade (Acuerdo sobre las barreras Técnicas al Comercio)
P	Piretroides
p.a	pro análisis
PENCER	Proyecto Nacional de Cereales; Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina)
PNUMA	Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente
PP:	Polipropileno

PSA:	Amina Primaria secundaria
psi	pound per square
PTV	programmable temperature vaporiser (Inyector de temperatura programable)
R%	recuperación porcentual
R²	coeficiente de determinación
RAE	Real Academia Española
Res.	Resolución
RRT	relative retention time (Tiempo de retención relativo)
RSD	Relative Standard Deviation (desviación estándar relativa)
SAGPyA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación (Argentina)
SANCO	Directorate General for Health & Consumers (Dirección General de Salud y Consumidores)
SAyDS	Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable (Argentina)
SENASA	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Argentina)
SFC/MS	Supercritical Fluid Chromatography mass spectrometry (Cromatografía de Fluido Supercrítico acoplado a espectrometría de masas)
SI	Le Système International d'Unités (Sistema Internacional de Unidades)
SIM	selected ion monitoring (Monitoreo de ión seleccionado)
SPE-d	Extracción en fase sólida dispersa
SRT	Superintendencia de Riesgos del Trabajo (Argentina)
Sta. Fe	Santa Fé
TIC	total ion chromatogram o total ion current (Cromatograma de iones totales)

TOF time of flight (Tiempo de Vuelo)

TPP Trifenil-fosfato

U incertidumbre expandida

US\$ dollar norteamericano

UNEP United Nations Environment Programme (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente)

USDA United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)

v/v volumen en volumen

WHO World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)