



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Cálculo de Factores de Procesado de Residuos
de Plaguicidas en la Elaboración de Alimentos
Transformados de Frutas y Hortalizas.
Biodisponibilidad *In Vitro* e Ingestión Estimada

Dña. Sandra Cermeño Olmos
2016



Dr. José Oliva Ortiz, Profesor Titular del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología de la Universidad de Murcia y Dr. Miguel Ángel Cámara Botía, Profesor Titular del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología de la Universidad de Murcia, como directores de la Tesis Doctoral titulada "CÁLCULO DE FACTORES DE PROCESADO DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN LA ELABORACIÓN DE ALIMENTOS TRANSFORMADOS DE FRUTAS Y HORTALIZAS. BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO* E INGESTIÓN ESTIMADA." realizada por D^a Sandra Cermeño Olmos.

AUTORIZAN:

La presentación a trámite de la citada Tesis dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa ante el tribunal que se designe.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, firmamos la presente en Murcia a veinte de septiembre de dos mil dieciséis.

Fdo.: Dr. José Oliva Ortiz

Fdo.: Dr. Miguel Ángel Cámara Botía

La mayoría de la gente dice que el intelecto es lo que hace a un gran científico. Están equivocados: es el carácter.

Albert Einstein

Agradecimientos:

Hace algún tiempo que pensaba cuál sería la mejor forma de poder agradecer a todas las personas que de alguna manera han contribuido al desarrollo de esta Tesis. Es muy difícil expresar con palabras todo lo que han significado para mí en el transcurso no sólo de este trabajo, sino de mis años en el Departamento como alumna interna. He tenido la suerte de dar con profesores que se han convertido en mucho más que eso, gracias por darme la oportunidad de crecer personal y profesionalmente y por aprender tantas cosas.

Mi agradecimiento a mis directores de Tesis, los Drs. José Oliva Ortiz y Miguel Ángel Cámara Botía, por guiarme a lo largo de todo el proceso, por sus consejos y recomendaciones.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Alberto Barba Navarro, por su apoyo, confianza y la paciencia infinita que ha tenido todo este tiempo.

A las Dras. Juana Mulero Cánovas y Pilar Zafrilla Rentero, Profesoras de Nutrición y Dietética de la Universidad Católica de Murcia por su ayuda durante la realización de esta Tesis.

A todas las personas que conforman la Sección de Análisis Instrumental del Centro Nacional de la Conserva, por su colaboración en el trabajo analítico.

Quiero agradecer la oportunidad de haber conocido a la ya Dra. Gracia Martínez Orenes por las "digestiones" compartidas que de otro modo hubiesen sido algo pesadas, el apoyo recibido, pero sobre todo por su amistad.

A todos mis amigos y amigas, por confiar en mí desde el principio y estar siempre que lo he necesitado, aún en la distancia.

Agradecer a toda mi familia el estar ahí; a mis padres, aguantando los días en los que ni yo misma me soportaba. En especial a mi abuela, por el apoyo y cariño constante.

Y como no, a Joselu, por su paciencia, su optimismo, y sobre todo por motivarme a seguir adelante en los momentos de desesperación.

Trabajo financiado por el proyecto de investigación 15257/P1/10
Fundación Séneca
Agencia de Ciencia y Tecnología Región de Murcia



ÍNDICE

ÍNDICE

1. OBJETO Y SÍNTESIS.	1
2. INTRODUCCIÓN.	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.	37
3.1. Materiales	39
3.1.1. Plaguicidas estudiados	39
3.1.1.1. Insecticidas	39
3.1.1.1.1. Abamectina	39
3.1.1.1.2. Cipermetrina	41
3.1.1.1.3. Clorpirifos	43
3.1.1.1.4. Deltametrina	44
3.1.1.1.5. Flonicamida	46
3.1.1.1.6. Hexitiazox	47
3.1.1.1.7. Imidacloprid	48
3.1.1.1.8. Indoxacarb	50
3.1.1.1.9. λ -Cialotrina	51
3.1.1.1.10. Pimetrocina	53
3.1.1.1.11. Piridaben	54
3.1.1.1.12. Piriproxifén	56
3.1.1.1.13. Tebufenocida	57
3.1.1.1.14. Tiacloprid	59
3.1.1.1.15. Spinosad	60
3.1.1.2. Fungicidas	62
3.1.1.2.1. Azoxistrobin	62
3.1.1.2.2. Boscalid	64
3.1.1.2.3. Bupimirato	65
3.1.1.2.4. Ciproconazol	66
3.1.1.2.5. Ciprodinil	68
3.1.1.2.6. Dietofencarb	69
3.1.1.2.7. Difenconazol	71
3.1.1.2.8. Fludioxonil	72
3.1.1.2.9. Flusilazol	74
3.1.1.2.10. Kresoxim-metil	75
3.1.1.2.11. Metalaxil	77
3.1.1.2.12. Miclobutanil	78
3.1.1.2.13. Penconazol	80
3.1.1.2.14. Tebuconazol	81
3.1.1.2.15. Triflumizol	83

3.1.1.2.16. Trifloxistrobin	84
3.1.2. Material vegetal	86
3.1.2.1. Albaricoque	87
3.1.2.1.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	87
3.1.2.2. Melocotón	88
3.1.2.2.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	89
3.1.2.3. Calabacín	90
3.1.2.3.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	91
3.1.2.4. Lechuga	92
3.1.2.4.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	92
3.1.2.5. Tomate	93
3.1.2.5.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	94
3.1.2.6. Naranja	95
3.1.2.6.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	96
3.1.2.7. Uva de vinificación	97
3.1.2.7.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra	98
3.1.3. Reactivos y disolventes	98
3.1.4. Aparatos e instrumentación	99
3.2. Métodos	100
3.2.1. Elaboración de conservas, zumo y vino	100
3.2.2. Extracción de residuos. Método QuEChERS	104
3.2.3. Análisis de residuos	106
3.2.4. Validación del método analítico	107
3.2.4.1. Identificación, confirmación y cuantificación	107
3.2.4.2. Linealidad de respuesta del detector	108
3.2.4.3. Límites de detección y de cuantificación	108
3.2.4.4. Precisión y exactitud	109
3.2.4.5. Controles de calidad	109
3.2.5. Cálculo de los factores de procesado	109
3.2.6. Estudio de biodisponibilidad <i>in vitro</i>	110
3.2.7. Cálculo de la ingestión diaria estimada	111
3.2.8. Estudio estadístico	113

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

.....	115
4.1. Estudio 1. Albaricoque	118
4.1.1. Validación analítica	118
4.1.1.1. Validación en albaricoque	118
4.1.1.2. Validación en albaricoque en conserva	122
4.1.1.3. Comparación entre las validaciones	124
4.1.2. Residuos	126
4.1.2.1. Residuos en albaricoque	126
4.1.2.2. Residuos en albaricoque procesado	127
4.1.3. Controles de calidad en los análisis de albaricoque	129
4.1.4. Factores de procesado	129
4.1.5. Ensayos de biodisponibilidad	131
4.1.5.1. Efecto matriz	131
4.1.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	134
4.2. Estudio 2. Melocotón	135
4.2.1. Validación analítica	135
4.2.2. Residuos	140
4.2.2.1. Residuos en melocotón	140
4.2.2.2. Residuos en melocotón procesado	142
4.2.3. Controles de calidad en los análisis de melocotón	143
4.2.4. Factores de procesado	143
4.2.5. Ensayos de biodisponibilidad	144
4.2.5.1. Efecto matriz	144
4.2.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	147

4.3. Estudio 3. Calabacín.....	148
4.3.1. Validación analítica	148
4.3.2. Residuos	153
4.3.2.1. Residuos en calabacín.....	153
4.3.2.2. Residuos en calabacín procesado.....	154
4.3.3. Controles de calidad en los análisis de calabacín.....	156
4.3.4. Factores de procesado	156
4.3.5. Ensayos de biodisponibilidad	157
4.3.5.1. Efecto matriz.....	157
4.3.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	160
4.4. Estudio 4. Lechuga	160
4.4.1. Validación analítica	160
4.4.2. Residuos	165
4.4.2.1. Residuos en lechuga.....	165
4.4.2.2. Residuos en lechuga procesada.....	166
4.4.3. Controles de calidad en los análisis de lechuga.....	168
4.4.4. Factores de procesado	168
4.4.5. Ensayos de biodisponibilidad	169
4.4.5.1. Efecto matriz.....	169
4.4.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	171
4.5. Estudio 5. Tomate	173
4.5.1. Validación analítica	173
4.5.2. Residuos	177
4.5.2.1. Residuos en tomate.....	177
4.5.2.2. Residuos en tomate procesado.....	178
4.5.3. Controles de calidad en los análisis de tomate.....	178
4.5.4. Factores de procesado	179
4.5.5. Ensayos de biodisponibilidad	180
4.5.5.1. Efecto matriz.....	180
4.5.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	182
4.6. Estudio 6. Naranja	182
4.6.1. Validación analítica	182
4.6.2. Residuos	186
4.6.2.1. Residuos en naranja.....	186
4.6.2.2. Residuos en naranja procesada.....	188
4.6.3. Controles de calidad en los análisis de naranja.....	189
4.6.4. Factores de procesado	190
4.6.5. Ensayos de biodisponibilidad	191
4.6.5.1. Efecto matriz.....	191
4.6.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	194
4.7. Estudio 7. Uva y vino	194
4.7.1. Validación analítica	194
4.7.1.1. Validación del método en uva.....	194
4.7.1.2. Validación del método en vino.....	198
4.7.2. Residuos	201
4.7.2.1. Residuos en uva.....	201
4.7.2.2. Residuos en vino.....	202
4.7.3. Controles de calidad en los análisis de uva y vino.....	203
4.7.4. Factores de procesado	204
4.7.5. Ensayos de biodisponibilidad	206
4.7.5.1. Efecto matriz.....	206
4.7.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado	209
4.8. Estudio 8. Cálculos de ingestión.....	209
4.8.1. Albaricoque	210
4.8.2. Melocotón	211
4.8.3. Calabacín	213
4.8.4. Lechuga.....	214
4.8.5. Tomate.....	215

4.8.6. Naranja.....	216
4.8.7. Vino.....	218
5. RESUMEN Y CONCLUSIONES	221
6. BIBLIOGRAFÍA	227
7. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.	241
7.1. Tablas.....	243
7.2. Figuras	248
8. SIGLAS.	253



1. OBJETO Y SÍNTESIS.

1. OBJETO Y SÍNTESIS.

El ataque de las plagas y enfermedades a nuestros cultivos, responsables de pérdidas superiores a un tercio de la producción agrícola, hace que el uso de los plaguicidas en el momento actual siga siendo una necesidad, aún más marcada en los países en desarrollo.

A pesar de que el uso de plaguicidas es todavía el medio más eficaz para evitar dichas pérdidas, debemos hacer un esfuerzo y dirigir parte de nuestras investigaciones a minimizar todo lo posible el impacto negativo que el uso de plaguicidas tiene sobre la población consumidora y por tanto sobre la seguridad alimentaria.

En este sentido, en la presente Memoria se estudian y calculan los factores de procesado de los residuos de insecticidas y fungicidas, seleccionados por su novedad de uso, especificidad y toxicidad, en frutas (albaricoque, melocotón, naranja y uva de vinificación) y hortalizas (calabacín, lechuga y tomate) comercializadas en fresco y manufacturadas como conservas, zumos, congelados y de cuarta gama. En todos los casos, los tratamientos fitosanitarios realizados en campo fueron bajo condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas (BPA y CPA).

También se estudia la biodisponibilidad *in vitro* de los plaguicidas estudiados, tanto en las matrices en fresco, como en las manipuladas. Con los datos obtenidos y su comparación con las ingestiones diarias estimadas (IDE) se pretende establecer el riesgo real de ingestión de los plaguicidas, cubriendo así, un aspecto importante de la seguridad alimentaria para los consumidores de diferentes ámbitos.

Con el trabajo desarrollado, se ha pretendido alcanzar los siguientes objetivos:

1. Validar la metodología analítica necesaria para la determinación de los plaguicidas objeto de estudio, utilizando un método de extracción normalizado y su identificación y cuantificación por cromatografía líquida y de gases y espectrometría de masas.

2. Determinar los residuos remanentes en los productos agrícolas, tanto en fresco, como en las diferentes etapas de la manipulación para su conservación o transformación; estableciendo las diferencias entre tratamientos bajo BPA y CPA.

3. Definir y calcular los factores de procesado de los residuos de plaguicidas en las diferentes matrices y en todas las etapas de fabricación de alimentos en conserva o de su transformación.

4. Estudiar la biodisponibilidad *in vitro* de los plaguicidas seleccionados, mediante simulación de la digestión gastro-intestinal y dialización a través de membranas semipermeables.

5. Definir la ingestión diaria estimada (IDE) de cada plaguicida en cada producto vegetal, corrigiéndola con los valores de biodisponibilidad, para compararla con la ingestión diaria admisible (IDA) y controlar este aspecto de la seguridad alimentaria.

El trabajo realizado y los objetivos perseguidos, se pueden sintetizar en el siguiente esquema de trabajo (Figura 1.1.):

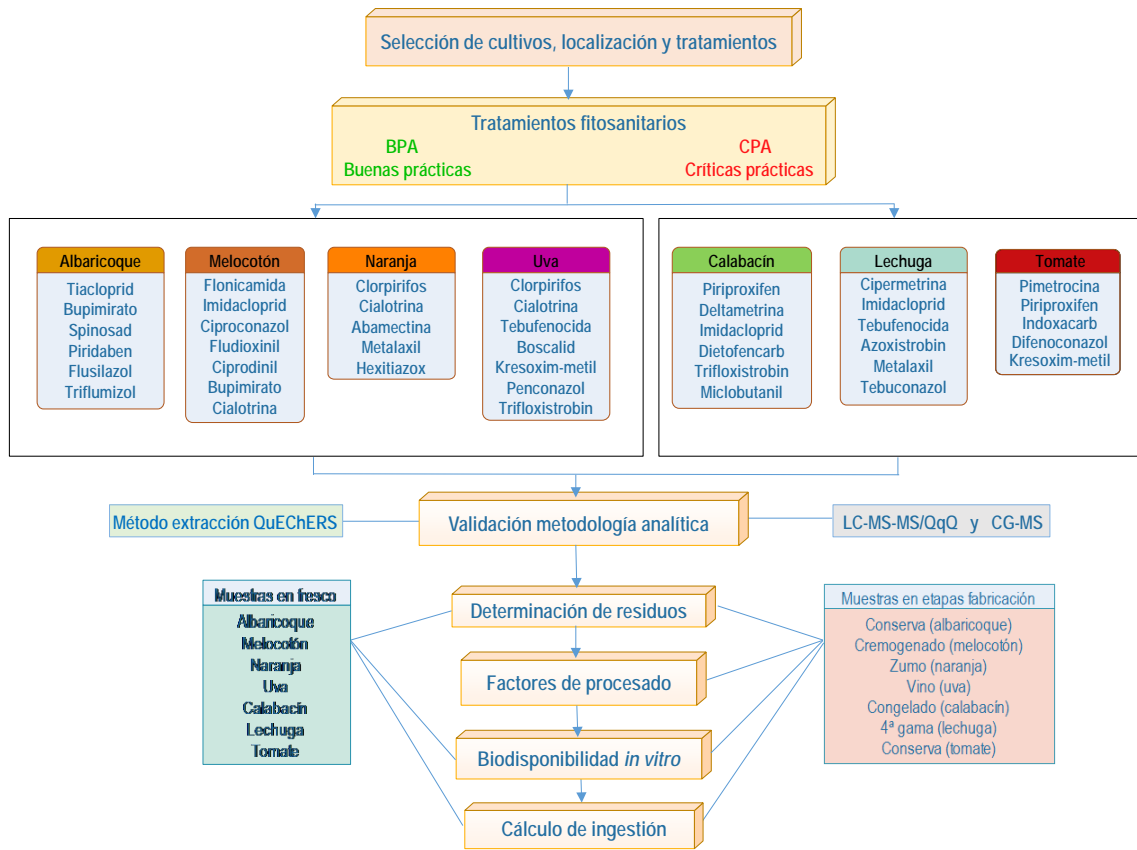


Figura 1.1. Esquema del trabajo realizado.



2. INTRODUCCIÓN.

2. INTRODUCCIÓN.

Actualmente la población mundial supera los 7.200 millones de personas y las estimaciones más recientes de Naciones Unidas indican que para el año 2030 será de más de 8.200 millones y en 2050 superará los 9.300 millones. Aunque la tasa de crecimiento anual ha disminuido en estos años, el constante aumento de la población mundial hace necesario un incremento en la producción agrícola que garantice su alimentación. Dentro de este incremento se contempla tanto el aumento del suelo dedicado a la agricultura, cómo un mejor uso del agua y principalmente un aumento de los rendimientos de los cultivos.

En los cuatro últimos decenios, el aumento de los rendimientos representó cerca del 70 por ciento del incremento de la producción de los cultivos en los países en desarrollo, aunque en los años noventa se apreció una disminución de su crecimiento. La progresión de los rendimientos seguirá siendo el factor subyacente que permitirá los incrementos en la producción de cultivos en el futuro. En los países en desarrollo, representará aproximadamente un 70 por ciento del crecimiento en la producción de cultivos hasta el año 2030.

Se espera que el crecimiento del uso de agroquímicos en los países en desarrollo sea del 1,1 por ciento anual a lo largo de los tres próximos decenios, y que continúe la desaceleración que ya se está produciendo. En conjunto, se estima que el 80 por ciento aproximadamente de los futuros incrementos en la producción de cultivos en países en desarrollo tendrán que proceder de la intensificación: mayores rendimientos, aumento de cultivos múltiples y períodos de barbecho más cortos.

Por consiguiente, el aumento de la producción agrícola es una necesidad, siendo preciso ampliar tanto las áreas cultivadas, como el rendimiento de las

explotaciones agrícolas, en donde el ataque de las numerosas plagas y enfermedades de las plantas que merman las cosechas, hace que el uso de los plaguicidas en el momento actual siga siendo una necesidad, aún más marcada en los países en desarrollo (FAO, 2002).

Para el siglo XXI, se necesita una segunda revolución doblemente verde en tecnología agrícola. Los incrementos de la productividad siguen siendo vitales, pero tienen que combinarse con la protección o restauración medioambientales, mientras que las nuevas tecnologías tienen que ser asequibles para los pobres y desnutridos y deben estar dirigidas a satisfacer sus necesidades. La biotecnología promete ser un medio para mejorar la seguridad alimentaria y reducir las presiones sobre el medio ambiente, siempre que se aborden los peligros medioambientales observados de la propia biotecnología. Las variedades modificadas genéticamente (resistentes a la sequía, anegamiento, acidez del suelo, salinidad y temperaturas extremas) podrían ayudar a conseguir un cultivo sostenible en zonas marginales y a recuperar tierras empobrecidas para la producción. Las variedades resistentes a los insectos dañinos pueden reducir la necesidad de utilizar plaguicidas.

No obstante, a pesar de los múltiples esfuerzos por parte de Administraciones y técnicos agrícolas, el uso de plaguicidas es hoy día el medio más eficaz para evitar la pérdida de cosechas producidas por plagas y enfermedades en nuestros cultivos. Por esta razón, debemos hacer un esfuerzo y dirigir parte de nuestras investigaciones a minimizar todo lo posible el impacto negativo que el uso de plaguicidas tiene sobre la población consumidora y por tanto sobre la seguridad alimentaria.

FAO, define el término plaguicida como 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 reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, 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 la deterioración durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes,

nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos para animales. (FAO, 2006)

El uso de los plaguicidas se remonta a muchos años atrás, en los que se conocían las propiedades de diversos productos para combatir las plagas y las enfermedades de las plantas. Recordemos en su evolución, el inicio con la utilización de sustancias naturales (piretrinas, azufre, arsénico, etc.) hasta el final con el uso de sustancias de síntesis (organoclorados, organofosforados, etc.).

La lucha contra las plagas y enfermedades de las plantas es uno de los métodos más importantes y efectivos para aumentar la productividad de las explotaciones agrícolas, ya que las pérdidas causadas por las plagas, estimadas en los años 70 en más del 30% de la producción potencial mundial, aún son muy elevadas. Por todo ello, las ventas de plaguicidas han aumentado en los últimos treinta años de manera considerable; si bien en las dos últimas décadas este aumento se ha estabilizado.

En España, el consumo de fitosanitarios en agricultura durante el período 1995-2010 experimentó un continuo crecimiento, alcanzando su máximo en 2002, con una posterior tendencia decreciente hasta valores similares a 1996 (Figura 2.1.) (MAGRAMA, 2014).

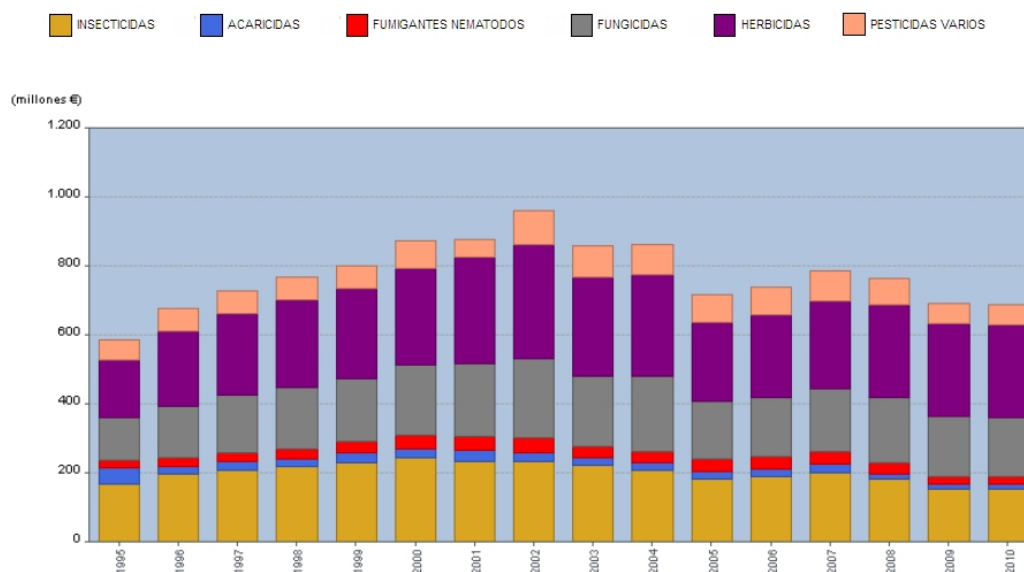


Figura 2.1. Consumo de fitosanitarios en agricultura en España 1995-2010.

De acuerdo con la Memoria Anual de 2005 de la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas (AEPLA), el consumo total de plaguicidas en España durante ese año fue de 96.359,56 toneladas de plaguicidas. Por regiones, Murcia ocupa el tercer lugar en el consumo de plaguicidas, detrás de Andalucía y la Comunidad Valenciana, con un 10,86% del total de ventas nacionales.

El consumo de plaguicidas, expresado en millones de euros tanto a nivel europeo como nacional, viene recogido en las Figuras 2.2. y 2.3.

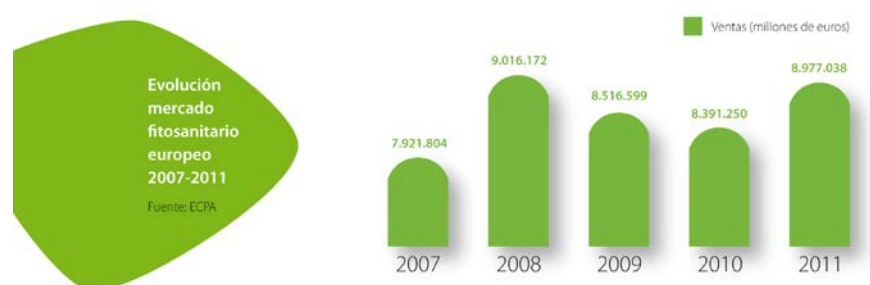


Figura 2.2. Consumo de plaguicidas en Europa.

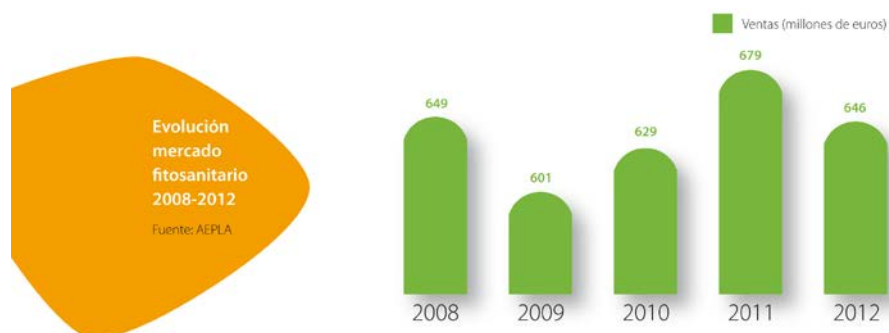


Figura 2.3. Consumo de plaguicidas en España.

En este contexto, no podemos olvidar que el uso de plaguicidas conlleva un riesgo para la salud en diversos sectores de la población. En primer lugar, para quienes trabajan en la fabricación, manipulación y aplicación de estos productos, y en segundo, para la población que puede incorporar al organismo, de manera directa o indirecta, residuos de plaguicidas mediante la ingestión de alimentos. Finalmente, no debemos

olvidar la posible contaminación del medio ambiente, por el uso indebido de estos contaminantes.

Los incrementos de la productividad siguen siendo vitales, pero tienen que combinarse con la protección o restauración medioambientales, por ello, desde hace muchos años el objetivo no es destruir la plaga, sino mantenerla por debajo de umbrales de tolerancia de tal manera que la producción agrícola sea rentable y sostenible. Por ello, se ha sugerido por las organizaciones internacionales (FAO, OMS, etc.) que los distintos países, además de fomentar la lucha integrada, incrementen el uso de medios biológicos y otras actividades que puedan servir para disminuir la aplicación de productos químicos, y desarrollen también procedimientos legales que permitan estudiar los plaguicidas antes de que se autorice su uso. Así, las autoridades competentes pueden certificar, mediante la evaluación científica de los resultados, que el producto sirve para el fin para el que se ha recomendado su utilización, y de seguirse las orientaciones técnicas específicas, no ocasionarían riesgos innecesarios para la salud del hombre o el medio donde vive.

La política de seguridad alimentaria que desarrolla la Unión Europea (UE) tiene por objeto garantizar a los ciudadanos una alimentación segura y nutritiva procedente de plantas y animales sanos y, al mismo tiempo, ofrecer las mejores condiciones posibles al sector alimentario, que es el mayor de Europa en términos de producción y empleo. Hay que tener en cuenta que la industria agroalimentaria es el segundo sector económico de la UE, emplea a 48 millones de personas y representa para la economía europea unos 750.000 millones € anuales.

La prioridad es proteger la salud a lo largo de toda la cadena agroalimentaria y en cada etapa del proceso de producción, desde el campo hasta el consumidor, previniendo la contaminación de los alimentos y fomentando su higiene, la información alimentaria, la salud de vegetales y animales y su bienestar. Sus objetivos esenciales son tres:

- Una alimentación humana y animal segura y nutritiva.
- Un alto grado de sanidad y bienestar animal y de protección de los vegetales.

- Una información adecuada y transparente sobre el origen, el contenido y el uso de los alimentos a través del etiquetado.

La tarea de garantizar que los alimentos cumplan las normas de calidad higiénico-alimentaria va más allá de las fronteras de la UE ya que buena parte de lo que consumimos procede de otros países. La Unión Europea es un mercado único en el que las mercancías, y por tanto los alimentos, pueden circular y venderse libremente en todo su territorio. De este modo hay más competencia y el consumidor puede elegir entre una mayor variedad, a precios más bajos que si los alimentos se pudieran vender solamente dentro de un país. Pero, para garantizar la armonización del mercado único, se deben establecer unas mismas normas y criterios de calidad y seguridad alimentaria aplicables para todos los alimentos destinados al consumo dentro del territorio de la UE (CE, 2014).

Si cada producto tuviera que controlarse de acuerdo con unas normas distintas en cada país, no habría libre comercio y los productores de algunos países podrían aprovecharse de ventajas competitivas que serían injustas. Además, la política agrícola en su conjunto es competencia de la UE, que tiene así la posibilidad de influir en la calidad y la seguridad de nuestros alimentos a través de las distintas normas y directivas que puedan compaginar una adecuada y sostenible producción agrícola.

La exhaustiva normativa agrícola y alimentaria de la UE, permite que los ciudadanos europeos tengan uno de los mayores niveles de seguridad alimentaria del mundo. Los controles obligatorios a lo largo de la cadena agroalimentaria garantizan que las plantas y los animales estén sanos y que los alimentos y piensos sean seguros y de alta calidad, estén etiquetados adecuadamente y cumplan los requisitos estrictos de la UE. Tengamos en cuenta que no pueden anunciarse propiedades saludables de los alimentos sin que se hayan demostrado científicamente y lo haya autorizado la Comisión Europea.

En el mercado global actual son muchos los factores que hay que tener en cuenta para mantener el cumplimiento de esos requisitos. Por ejemplo:

- Prevenir la entrada y la propagación de enfermedades animales y vegetales en la UE.

- Impedir que las enfermedades de los animales se transmitan al hombre (más de doscientas pueden transmitirse a través de la cadena alimentaria).
- Garantizar que se mantengan en toda la UE unas normas comunes para proteger al consumidor y prevenir la competencia desleal.
- Proteger el bienestar de los animales.
- Garantizar a los consumidores una información clara e inequívoca del contenido y el origen de los alimentos.
- Contribuir a la seguridad alimentaria mundial y dar a la población acceso suficiente a alimentos seguros y de calidad. Según las previsiones, para 2030 habrá que alimentar a 8.000 millones de personas con una mayor demanda de dietas ricas en carne. Para atender esta necesidad, la producción alimentaria mundial deberá crecer como mínimo un 40 %, y el 80 % de ese incremento deberá proceder de una agricultura más intensiva.

En lo referente al riesgo por ingesta de los plaguicidas, debemos señalar que la Unión Europea (UE) tiene reglamentado un límite máximo de residuos de plaguicidas (LMR) en todos los alimentos en fresco destinados al consumo humano o animal, con el fin de proteger la salud de los mismos (CE, 2008). El Reglamento reúne y armoniza, en un solo texto, los límites aplicables a los diferentes productos de alimentación humana o animal, y fija un límite máximo aplicable por defecto. Para asegurarse de que los LMR sean lo más bajos posibles, quienes soliciten la aprobación de un plaguicida deben presentar información científica sobre las cantidades mínimas de plaguicida necesarias para proteger una cosecha y el nivel de residuos que quede en la cosecha después de dicho tratamiento. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), verifica luego que tal residuo sea seguro para todos los grupos de consumidores europeos, incluyendo grupos vulnerables, tales como bebés, niños y vegetarianos. Cuando haya un riesgo establecido para cualquier grupo de consumidores, la solicitud de LMR será desestimada y el plaguicida no se podrá utilizar en ese cultivo.

Por consiguiente, la seguridad de los alimentos prevalece sobre la protección de las plantas. En muchos casos, la cantidad de plaguicida necesario es muy inferior al

nivel máximo que se sigue considerando seguro. En tales casos, los LMR se fijan en el nivel inferior, asegurándose así de que sólo se utilice la cantidad (mínima) necesaria de plaguicida. La autoridad nacional competente define cómo y cuándo se puede utilizar el plaguicida y tales datos constan en la etiqueta del plaguicida. Las autorizaciones se conceden con carácter nacional porque las condiciones locales y ambientales y la existencia de plagas (y por lo tanto el uso de plaguicidas) pueden variar. Por ejemplo, en los Estados miembros del sur, donde las temperaturas son más altas, hay más insectos y se necesitan más insecticidas. En otras partes de la UE, más húmedas, las condiciones son más proclives a las plagas fúngicas, por lo que son más necesarios los fungicidas. Estas diferencias de uso y tratamiento son consideradas al determinar los LMR.

En el caso de alimentos manipulados, transformados o en conserva, la UE aún no ha establecido de forma exhaustiva LMR para dichos alimentos, aunque ya se está trabajando en este tema; por lo que los resultados obtenidos en el trabajo presentado en esta Tesis pueden ser de gran ayuda para futuras legislaciones.

Para que se cumplan los LMR, la industria alimentaria y las organizaciones de productores, así como también los gobiernos y organizaciones no gubernamentales, han desarrollado en los últimos años una gran variedad de códigos, normas y reglamentos sobre buenas prácticas agrícolas (BPA), con el objetivo de codificar las prácticas de una gran cantidad de productos a nivel de explotación agrícola.

Trabajando con buenas prácticas agrícolas nos aseguramos que nuestro producto cumplirá con los controles fijados por la UE y no superarán los LMR. En el caso de que no se respeten los plazos de seguridad de los plaguicidas y no se hayan seguido las normas de aplicación (dosis, vehículos, etc.), no podremos asegurar que nuestro producto cumpla con los requisitos para poder ser comercializado.

El control analítico de residuos de plaguicidas en alimentos es la principal herramienta para asegurar que se cumplen las normas de seguridad y, por tanto, asegurar que no se superarán los LMR. Continuamente se revisan y buscan nuevos métodos analíticos para mejorar la sensibilidad, selectividad y fiabilidad en el análisis de residuos de plaguicidas asegurando así la salud de los consumidores. Un método es fiable cuando podemos asegurar que se ha conseguido un correcto procedimiento de

validación. El método empleado debe cumplir científicamente los criterios establecidos en la validación, para que sea aceptado y utilizado para determinar el cumplimiento de los LMR; además de ser económico, sencillo y rápido. Cuando se pretende validar un método analítico se pueden utilizar diferentes guías metodológicas como referencia (Fajgelj & Ambrus, 2000). Entre las guías internacionales más utilizadas, se pueden destacar las elaboradas por la Dirección General de Sanidad y Consumo de la UE (DG SANCO), Asociación Internacional Oficial de Químicos Analíticos (AOAC International), red de organizaciones EURACHEM y la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) (Alder, Hill, Holland, Lantos, Lee, Macneil, et al., 2000; Hill & Reynolds, 1999).

Actualmente, la más relevante es la denominada "guía SANCO", promovida por la Comisión Europea a través de su Dirección General de Sanidad y Consumo, que recoge recomendaciones para la realización de análisis fiables de residuos de plaguicidas en productos. Los criterios recomendados en ella son los aceptados para la vigilancia de los residuos de plaguicidas en la UE. En ellos se describen el control de calidad analítico; así como los requisitos, parámetros y valores para apoyar la validez de los resultados (DG SANCO., 2015). Estas recomendaciones complementan la norma europea ISO/IEC 17025:2005, que especifica los requisitos generales en las competencias para llevar a cabo ensayos y/o calibraciones, incluida la toma de muestras; cubriendo los ensayos y calibraciones realizados mediante métodos estandarizados, métodos no estandarizados y aquellos desarrollados en los laboratorios (ISO., 2005).

El uso de sistemas de detección de espectrometría de masas (MS) acoplados a técnicas analíticas de cromatografía de gases (GC) y de líquidos (LC) ha permitido el desarrollo de métodos analíticos multirresiduales en matrices vegetales que satisfacen la necesidad de control de los productos que se comercializan a los mínimos niveles de cuantificación, generando resultados analíticos seguros y de calidad (Abdel-Ghany, Hussein, El Azab, El-Khatib, & Linscheid, 2016; Dedola, Cabizza, & Satta, 2014; Garrido Frenich, Arrebola Liébanas, Egea González, & Martínez Vidal, 2003; Kiljanek, Niewiadowska, Semeniuk, Gawel, Borzecka, & Posyniak, 2016; Tran, Eide, Nickols, Cromer, Sabaa-Srur, & Smith, 2012). La mayoría de los plaguicidas se analizan por cromatografía líquida y espectrometría de masas (LC-MS/MS), pero algunos plaguicidas, especialmente los insecticidas piretroides, se analizan por cromatografía de

gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS/MS) (Kiljanek, Niewiadowska, Semeniuk, Gawel, Borzecka, & Posyniak, 2016).

En la revisión bibliográfica realizada, se han encontrado diferentes metodologías para el análisis de los insecticidas estudiados en este trabajo. Así, se han analizado residuos de spinosad por HPLC con detector ultravioleta-visible (UV) (Vuik, 1991; Yeh, Schwedler, Schelle, & Balcer, 1997) y por espectrometría de masas (EM) (Angioni, Porcu, & Pirisi, 2011; Sannino, 2007); también por cromatografía líquida con ionización por electrospray acoplada a un espectrómetro de masas (ESI)-MS/MS utilizando el método QuEChERS para la extracción (Morales, Ruiz, Oliva, & Barba, 2011; Ruiz, Morales, Barba, & Oliva, 2012). En el caso de piridaben, se encuentran trabajos en los que los análisis se realizaron por LC-MS/MS utilizando el método QuEChERS (Tran, Eide, Nickols, Cromer, Sabaa-Srur, & Smith, 2012). Igualmente, la determinación de tiacloprid se realiza mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas por electrospray (Yanez, Bernal, Nozal, Martin, & Bernal, 2013) o por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrómetro de masas (UPLC-MS/MS), empleando el método QuEChERS para la extracción (Zhang, Xu, Dong, Liu, Li, Li, et al., 2013).

De la misma forma para imidacloprid y flonicamida se encuentran trabajos donde analizan residuos en pepino por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (HPLC-MS/MS), utilizando, de nuevo, el método QuEChERS para la extracción (Abdel-Ghany, Hussein, El Azab, El-Khatib, & Linscheid, 2016); en vid, se utilizó imidacloprid para el tratamiento de insectos chupadores, las muestras se extrajeron mediante el método QuEChERS y los análisis se realizaron con cromatografía líquida de alta resolución con detector de diodo (Mohapatra, Kumar, & Prakash, 2015). En el estudio de dos variedades de tomate se determinaron los residuos de 28 plaguicidas (insecticidas y fungicidas) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas-masas, destacando el uso de λ -cialotrina, clorpirifos, deltametrina, piridaben, entre otros (Dedola, Cabizza, & Satta, 2014). Para el análisis de residuos de indoxacarb, imidacloprid y clorpirifos en matriz de manzana se empleó el método QuEChERS y los análisis se realizaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas-masas (LC-MS/MS) (Tiryaki, 2016). Para abamectina, el método se basa en la extracción por QuEChERS y posterior análisis por

cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas por electrospray (Ruiz, Morales, Barba, & Oliva, 2012).

En el caso de los fungicidas, para el análisis de bupirimato se usa cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas por electrospray (Bordagaray, Garcia-Arrona, & Millan, 2013; Soler, Manes, & Pico, 2005). Para flusilazol, el método se basa en la extracción asistida por ultrasonidos con dispersión en fase sólida y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas por electrospray (Garcia-Valcarcel & Tadeo, 2011). Para analizar flusilazol y triflumizol, se ha empleado cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS) (Coscolla, Yusa, Beser, & Pastor, 2009); y para la determinación de residuos de este último, cromatografía líquida de alto rendimiento con el método del estándar externo (Cai, Gao, & Guo, 1999).

Para el análisis de residuos de boscalid, difenoconazol, azoxistrobin, fludioxonil, ciprodinil, tebuconazol, bupimirato, metalaxil, entre otros, se utilizó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas-masas (GC-MS/MS) (Dedola, Cabizza, & Satta, 2014). Para miclobutanil se utilizó cromatografía líquida con trampa de iones acoplada a espectrometría de masas y el método utilizado en la extracción fue el método QuEChERS (Gilbert-Lopez, Garcia-Reyes, & Molina-Diaz, 2012). Para la determinación de boscalid y kresosim-metil se utilizó una modificación del método QuEChERS para la extracción y el análisis se realizó con cromatografía líquida acoplada a un triple cuadrupolo masas-masas (Martinez, Morales, Maestro, Cermeño, Oliva, & Barba, 2015).

Dado que no es posible emplear un único método de extracción para todas las combinaciones posibles de plaguicidas-matrices, se han desarrollado procedimientos de extracción multiresiduales para la determinación simultánea de residuos de plaguicidas en productos vegetales y alimentos.

En el trabajo experimental presentado en esta Tesis, se ha empleado el método de extracción QuEChERS, acrónimo que indica sus principales características: **Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged** y **Safe** (Rápido, fácil, barato, eficaz, robusto y seguro). Se puede considerar una técnica de preparación y purificación de muestras para el análisis múltiple de residuos de plaguicidas en alimentos y ofrece una

alternativa sencilla y rápida a las tradicionales extracciones líquido-líquido y extracción en fase sólida.

En el año 2003 se publica por primera vez y aporta un nuevo enfoque en el análisis de múltiples residuos de plaguicidas para diversos alimentos básicos (Anastassiades, Lehotay, Stajnbaher, & Schenck, 2003). Desde su publicación se han introducido distintas versiones con el objetivo de incluir el mayor número de plaguicidas y matrices posibles (Anastassiades, Scherbaum, Taşdelen, & Stajnbaher, 2007; Ferreira, Ferreira, Talamini, Facco Jde, Rizzetti, Prestes, et al., 2016; M. Liu, Xie, Li, Meng, Zhang, Hu, et al., 2016; Morales, Ruiz, Oliva, & Barba, 2011; Payá, Anastassiades, Mack, Sigalova, Tasdelen, Oliva, et al., 2007; Rizzetti, Kemmerich, Martins, Prestes, Adaime, & Zanella, 2016).

En general, el procedimiento se basa en extracción con acetonitrilo, partición con sales y control del pH por tampones. El extracto primario se puede someter a una purificación en fase sólida en dispersión mediante adición de una amina secundaria y otros componentes, según requiera el caso. Este método abarca desde plaguicidas altamente polares, menos polares, así como los muy ácidos o básicos y matrices muy variadas en composición, con alto y bajo contenido en grasa. El extracto puede ser analizado tanto por CG como por CL. Actualmente, está reconocido internacionalmente por FAO, UE, USDA y muchos laboratorios de plaguicidas.

La presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos varía con la naturaleza de las moléculas de los mismos, el tipo y características del material vegetal y los factores medioambientales. Dado que los plaguicidas son una de las mayores aportaciones para incrementar la productividad agrícola y que su uso en la actualidad es necesario, se debe recurrir a algunas alternativas para reducir su presencia en los alimentos. Así, se ha encontrado que el lavado con agua o disoluciones de sal o algunos productos químicos (cloro, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, ozono, ácido acético, etc.) y detergentes produce una eficaz reducción del nivel de plaguicidas (Bajwa & Sandhu, 2014). Las diferentes etapas de preparación como el pelado y corte, eliminan los residuos de la parte exterior. Los procesos de manipulación de los alimentos con tratamientos térmicos como pasteurización, escaldado, hervido, cocción al vapor, etc., se han relacionado con el incremento de la degradación de diferentes plaguicidas dependiendo de sus características químicas y de la duración del

tratamiento. Muchas otras técnicas de transformación o industrialización como refinado, fermentación y curado, han demostrado su eficacia para disminuir los niveles residuales de plaguicidas para una extensa variedad de productos alimenticios. Análogamente, la molienda, el horneado y la elaboración de vino o cerveza son procesos eficaces en la reducción de la concentración de residuos de plaguicidas en los productos finales (Duhan, Kumari, & Gulati, 2010; Uygun, Senoz, Ozturk, & Koksel, 2009).

La velocidad a la que los plaguicidas se disipan o degradan está estrechamente relacionada con sus propiedades físico-químicas, la naturaleza del material agrícola o alimentario en el que está y las condiciones ambientales. Los plaguicidas pueden ser degradados por fotólisis, hidrólisis, oxidación y reducción, metabolismo, temperatura y el pH.

En frutas y vegetales, la mayoría de los residuos de plaguicidas son retenidos en la superficie de la piel. Esta es la razón por la que la mayoría de los residuos son eliminados en el lavado, pelado o con los tratamientos con disoluciones químicas como vinagre, bicarbonato sódico, sal común o alcohol. Los plaguicidas pueden introducirse en las frutas y vegetales durante diferentes fases de la producción. Algunos plaguicidas son utilizados antes de la floración, otros mientras los frutos están en crecimiento y otros tras la cosecha; así pues, la localización de los residuos de plaguicidas en la misma fruta puede ser diferente. Una gran cantidad de plaguicidas sistémicos pueden ser absorbidos dentro de la pulpa. Los niveles de los residuos en frutas y verduras o en sus manipulados, dependen de las propiedades de partición de los plaguicidas entre las distintas partes del vegetal.

Para conocer el comportamiento de los residuos de plaguicidas, además de los estudios en campo, son necesarios también los realizados en vegetales transformados, así como su disipación o concentración a lo largo de los procesos de transformación. Incluso cuando los productos fitosanitarios se utilizan correctamente (BPA), los residuos en los vegetales y productos derivados son inevitables. Dado que muchos de ellos son procesados antes de que lleguen al consumidor, el estudio de la disipación de los residuos durante estos procesos permite una mejor estimación de la exposición y un cálculo más realista de la ingesta de las sustancias activas de productos fitosanitarios y/o sus metabolitos, y, por lo tanto, una mejor evaluación del riesgo.

Además, estos estudios pueden proporcionar resultados relativos a los residuos en productos básicos empleados posteriormente para fabricar productos de alimentación animal, preparados cosméticos, etc. (Jankowska, Kaczynski, Hrynko, & Lozowicka, 2016; Navarro, García, Navarro, Oliva, & Barba, 1997; Payá, Oliva, Cámara, & Barba, 2007a; Payá, Oliva, Cámara, & Barba, 2007c).

Los resultados de estudios de residuos en procesos de transformación, no solo contribuyen a dar una estimación más realista de la ingesta alimentaria y una mejor comparación de la exposición entre países, sino que también pueden ayudar a lograr una implantación más amplia del control de LMR a nivel nacional e internacional, a través del establecimiento de factores de procesado, obtenidos, entre otros medios, mediante la relación entre los niveles de residuos del producto agrícola procesado y el mismo en fresco (DG SANCO, 1997).

Desde una óptica muy simplista, podríamos definir Factor de Procesado de residuos de plaguicidas (FP) como la relación entre la concentración de un plaguicida en el alimento original cosechado y su concentración en el producto elaborado o manipulado, o en cualquiera de sus etapas de fabricación.

Los diferentes estudios de procesado de alimentos muestran que, en la mayoría de los casos, las operaciones tecnológicas dan lugar a grandes reducciones en los niveles de residuos de plaguicidas en los alimentos preparados, especialmente en los procesos de troceado, pelado, lavado y calentamiento. Estas disminuciones se producen por reacciones de hidrólisis, enzimáticas o redox y por degradaciones asociadas a cambios de temperatura, acción de microorganismos, etc. Con el pelado de los cítricos, así como en otras frutas, se alcanzan niveles prácticamente indetectables en su parte comestible. Sin embargo, la piel de estas frutas se utiliza con frecuencia en la producción de piensos o aceites esenciales, entre otros, pudiendo presentar importantes concentraciones de los residuos respecto a la fruta entera (Keikotlhaile, Spanoghe, & Steurbaut, 2010; Matencio, Oliva, Cámara, Barba, Romero, & Abellán, 2004; Navarro, Barba, Oliva, Navarro, & Pardo, 1999; Payá, Oliva, & Barba, 2009; Payá, Oliva, Cámara, & Barba, 2007b).

Así, se ha comprobado que las diferentes etapas de manipulación de los alimentos vegetales, pueden alterar el contenido inicial de residuos en nuestros

alimentos. Por ejemplo, el lavado con agua; las frutas y verduras son siempre lavadas antes de su consumo y además las verduras se suelen pelar y cocinar antes de comerlas.

El lavado ha sido el procedimiento más efectivo para eliminar residuos de plaguicidas y minimizar su ingesta en la dieta. El lavado prolongado no causa ningún cambio en los niveles de residuos. En algunos plaguicidas, como bitertanol y procimidona, el lavado no afecta a sus niveles presentes (Bajwa & Sandhu, 2014).

El lavado con disoluciones salinas (cloruro sódico) es un método conveniente para disminuir los contaminantes de las superficies de los alimentos, particularmente de frutas y verduras. Este procedimiento está recomendado para su práctica en uso doméstico. Aunque no se han encontrado diferencias significativas entre el lavado salino y un lavado ordinario con agua del grifo. El lavado con disoluciones químicas, por ejemplo, agua clorada (lejía) u otros químicos comúnmente utilizados para la desinfección de frutas y verduras, pueden tener un importante papel en la eliminación de los residuos de plaguicidas. La velocidad de degradación de los plaguicidas aumenta al aumentar el pH y la temperatura.

Se ha comprobado que los residuos de plaguicidas en manzanas frescas y sus productos procesados se reducen con el uso de aguas cloradas y aguas ozonizadas, siendo las cloradas las que mejores resultados aportaban. La eficacia obtenida en el lavado con agua ozonizada depende de los niveles de ozono disueltos. Sin embargo, otros estudios muestran que el lavado con agua ozonizada produce los mejores resultados en fresas, reduciendo del 36-75 % de los residuos frente al 19-68 % cuando se empleaba agua del grifo. A pesar de ello, el lavado con ultrasonidos eliminó más del 90% de residuos, siendo éste el tratamiento más efectivo para asegurar la máxima reducción de residuos de plaguicidas (Lozowicka, Jankowska, Hrynko, & Kaczynski, 2016).

Otros procesos que ayudan a disminuir el contenido de residuos de plaguicidas son: el lavado, cortado, cocción, etc. Algunos estudios comparan los efectos del lavado, pelado y la cocción en los niveles de los residuos para patatas y zanahorias, encontrando que el pelado es el método más efectivo para eliminar los plaguicidas de los vegetales, siguiéndole el proceso de fritura. Llevar a ebullición las frutas y verduras

nos asegura una reducción de los niveles de residuos de los plaguicidas más solubles en agua.

Los alimentos son sometidos en muchas ocasiones a tratamientos con calor durante su preparación y preservación de los mismos. Estos tratamientos pueden incluir la pasteurización, la ebullición o los métodos empleados en cocina, dependiendo de la naturaleza del alimento y el fin al que esté destinado. La pérdida de residuos de plaguicidas durante los tratamientos térmicos puede ser debida a la evaporación, co-distilación, degradación térmica lo que varía dependiendo de la naturaleza química de cada plaguicida. Se debe tener en cuenta que no todos los procesos que se llevan a cabo favorecen la eliminación de los residuos de plaguicidas, por ejemplo, cuando las frutas son secadas en horno se produce una concentración de los residuos de plaguicidas (Liang, Liu, Ding, & Liu, 2014).

Para la elaboración de las conservas de frutas y verduras se encontró que, en la mayoría de los casos, las operaciones que conducen al enlatado producen una disminución gradual de los niveles de los residuos, principalmente debido a la evaporación, degradación y co-distilación. En algunos casos, el nivel de residuos no varía ya que la disminución que se produce en el lavado se compensa con la concentración que experimenta cuando se seca. (Bajwa & Sandhu, 2014; N. Liu, Dong, Chen, Xu, Liu, Duan, et al., 2016).

En la elaboración de zumos, se observa que, en estudios realizados en zumo y pulpa de zanahorias y tomates, el mayor porcentaje de residuos de plaguicidas queda contenido en la pulpa, excepto para mancozeb que se encuentra en el zumo. Los plaguicidas que presentan una gran solubilidad en agua estaban presentes en una gran extensión en el zumo. El comportamiento y el destino del residuo varía con el plaguicida y el cultivo empleado (Hadjikinova, Prokopov, & Taneva, 2006; Romeh, Mekky, Ramadan, & Hendawi, 2009)

En los estudios encontrados sobre la elaboración de vino se observa que los residuos de plaguicidas presentan una reducción significativa de los residuos en la fermentación de la uva a vino. Además, se produce una mayor reducción de los residuos en vino tinto que en la vinificación de vino blanco. Las etapas más importantes en la pérdida de residuos de plaguicidas son la clarificación del mosto, la

fermentación y el trasiego. Durante la elaboración del vino, la reducción de residuos presentes en la uva ocurre debido a la hidrólisis y a la absorción de materia en suspensión. A pesar de que se encontró que el pK_{ow} afecta al proceso de vinificación, no se demostró que hubiese una correlación entre la solubilidad de los plaguicidas y su desaparición (Pazzirota, Martin, Mezcua, Ferrer, & Fernandez-Alba, 2013).

Los procesos de cocción, pasteurización y esterilización aumentan las tasas de degradación y volatilización de los residuos. Finalmente, el almacenamiento en frío, en conserva o como zumo, ralentiza las reacciones causantes de la disminución de los residuos de plaguicidas (DG SANCO, 1997; Pose, Cancho, Rial, & Simal, 2006).

Los factores de procesado (FP), que representan la relación entre los niveles de residuos en el producto procesado y el respectivo producto sin elaborar, nos permiten indicar si los residuos aumentan o disminuyen durante el proceso (FEDIOL, 2015). Dependiendo del tipo de procesado y de las propiedades físico-químicas de los plaguicidas, los residuos pueden aumentar (o disminuir) en los productos elaborados.

Actualmente no existen unos FP armonizados a nivel de la UE; sin embargo, algunos de los estados los aplican, aunque con criterios diversos mientras que otros utilizan directamente el LMR de los cultivos primarios.

Es evidente que los plaguicidas pueden generar efectos tóxicos en el ser humano. Su biodisponibilidad en el organismo depende de su toxico-cinética: absorción, distribución, metabolismo y eliminación. Todos estos procesos quedan influenciados por factores externos como son: temperatura ambiental, tiempo de exposición, etc.; o bien por la naturaleza de la sustancia química. También lo hacen por factores propios de cada individuo (edad, sexo, dotación genética, estado de salud, estado nutricional, estilos de vida, vía principal de absorción, etc.) (Fait & Colosio, 1998; Ramírez & Lacasaña, 2001).

Desde el punto de vista de la exposición alimentaria, actualmente se utilizan modelos probabilísticos de exposición para calcular la cantidad de posibles sustancias químicas nocivas ingeridas por una población humana, como por ejemplo residuos de plaguicidas, productos químicos que se encuentran en los alimentos, o presentes en el medio ambiente (como dioxinas, cadmio, plomo, mercurio, etc.). Generalmente se

emplean dos tipos de modelos: el primero para el cálculo de la ingestión a corto plazo, y el segundo para el cálculo a largo plazo.

Estos modelos sólo se pueden utilizar cuando se dispone de datos sobre cantidades de alimentos consumidos y concentraciones de las sustancias químicas presentes en este alimento. Los datos de consumo de alimentos utilizados son proporcionados por las encuestas de consumo de alimentos; en general, estos datos son adecuados para el cálculo del consumo de la mayoría de productos químicos. Sin embargo, este criterio no se aplica a los productos químicos presentes en los alimentos rara vez consumidos. Para los datos de concentración, se debe realizar previamente una evaluación de la exposición para constatar si la exposición se puede calcular utilizando estos modelos.

La EFSA editó en 2012 una guía sobre el uso de la metodología probabilística para establecer el modelo de la exposición alimentaria a residuos de plaguicidas. En ella, se proponen dos ensayos, uno de ejecución optimista y otro pesimista para las evaluaciones de la exposición aguda y crónica (EFSA, 2012). En la ejecución del modelo optimista, las principales incertidumbres de las evaluaciones se producen usando supuestos que se espera den lugar a estimaciones más bajas de la exposición, mientras que en el modelo pesimista estas incertidumbres son tratadas de manera tal que se espera que resulte en una sobreestimación de exposición. Esto proporciona un rango de exposición real y una herramienta para la toma de decisiones. Cuando en el modelo optimista la estimación de la exposición es superior al valor de referencia basado en la salud -por ejemplo, la Ingestión Diaria Admisible (IDA) para exposición crónica o la Dosis de Referencia Aguda (DRfA) para exposición aguda- la exposición real será mayor y se deben tomar medidas de reducción del riesgo. En caso de que en los modelos pesimistas los resultados sean inferiores a los valores de referencia, se puede estar seguro de que la verdadera exposición será aún más baja y no son necesarias medidas de reducción del riesgo.

Estudios realizados en Francia con más de 300 plaguicidas en alimentos que cubrían el 90 % de la dieta de adultos y niños, muestran que el 37% de las muestras contenían al menos uno o más residuos de plaguicidas, principalmente en frutas y sus zumos. Para el 90 % de los plaguicidas, los niveles de exposición estaban por debajo de la IDA tanto para el modelo optimista como para el pesimista. Bajo el modelo

pesimista (que tiende a sobreestimar los niveles de exposición) sólo uno de los plaguicidas empleado superó la IDA para los consumidores de cerezas y endivias. Bajo el modelo optimista (que sobrestima la exposición) no se puede excluir un riesgo crónico con algunos de los plaguicidas empleados. Para ellos, se necesitan análisis más sensibles de los principales contribuyentes de los alimentos con el fin de mejorar la evaluación de la exposición (Nougadere, Sirot, Kadar, Fastier, Truchot, Vergnet, et al., 2012).

Estos modelos actualmente dan lugar a la estimación más realista de la ingesta de sustancias químicas a través de los alimentos. No obstante, hay que tener en cuenta que existen parámetros muy importantes, como la biodisponibilidad de los plaguicidas que todavía acercan más a la ingesta real de los contaminantes en el organismo humano.

La biodisponibilidad alude a la porción de la dosis de un fármaco administrado de manera exógena, que llega hasta el órgano o tejido en el que lleva a cabo su acción. Desde un punto de vista toxicológico podemos asegurar que es conveniente conocer la biodisponibilidad de una sustancia peligrosa, ya que ésta “mide el acceso fisicoquímico de un tóxico a los procesos biológicos de los organismos” (US EPA, 2006). Como determinar la concentración en un tejido resulta excesivamente invasivo, se acepta el valor de la concentración del mismo en el plasma. Puede expresarse en porcentaje o en tasas. Este concepto se utiliza para cuantificar el grado en que una sustancia es aprovechada por el organismo.

Para los residuos de plaguicidas este valor viene implícito en los estudios de toxicidad por ingestión que se realizan en los animales de experimentación al registrar una sustancia, pero se aplica la sustancia en estado puro, sin mezclar con los alimentos, y se ha demostrado ampliamente en el campo farmacéutico que la presencia de los alimentos puede disminuir sensiblemente, o en algunos casos aumentar, la biodisponibilidad de un xenobiótico para el organismo. Por tanto, el estudio de la biodisponibilidad de un residuo embebido en el medio que llega al organismo es esencial para determinar la dosis que realmente penetra en él y juzgar qué capacidad tiene de afectar al consumidor a través de los alimentos.

Los plaguicidas pueden ingresar en el organismo humano por vía oral, dérmica o pulmonar. En esta etapa, comienza el proceso conocido como ADME o absorción, distribución, metabolismo y eliminación del xenobiótico en un organismo. La absorción es, por tanto, la barrera que debe superar el plaguicida para llegar a su diana celular y la biodisponibilidad el proceso que mide esa capacidad de superación.

La biodisponibilidad depende fundamentalmente de la vía de administración; en primer lugar, la mayor biodisponibilidad la presenta la vía intravascular (intravenosa o intrarterial), debido a su modo de administración, a continuación, la vía intramuscular y sublingual, seguidas por la oral y por último la rectal. Además, en la vía oral, es en la que mayores interacciones se encuentran (Hodgson, 2001; Johnson, 1997; Ross, Driver, Cochran, Thongsinthusak, & Krieger, 2001). En la dieta que contiene residuos de plaguicidas, es fundamental por tanto determinar la biodisponibilidad vía oral de estos productos para conocer su absorción y poder extraer consecuencias toxicológicas para el consumidor.

Los factores que influyen en la biodisponibilidad oral son:

- ✓ pH. Se modifica a lo largo del tubo digestivo, encontrando los valores más bajos en el estómago y aumentando a lo largo del intestino. Se debe tener en cuenta que el pH condiciona el grado de ionización.
- ✓ Vaciado gástrico. Limita el grado y la velocidad de absorción de los xenobióticos que se absorben en el intestino.
- ✓ Motilidad intestinal. Se debe tener en cuenta ya que cuando disminuye la motilidad intestinal aumenta la absorción.
- ✓ Presencia de los alimentos. Van a hacer que el xenobiótico permanezca más o menos tiempo en el estómago, influyendo en su absorción. Hay alimentos que limitan la absorción formado complejos insolubles con el agente externo, también alimentos que compiten con los mecanismos de transporte celular en la absorción de la sustancia, otros que aumentan la secreción gástrica, haciendo que las sustancias inestables en medio ácido se degraden con más facilidad o los de gran componente graso que pueden vehiculizar mejor a los agentes externos a través de las membranas lipoprotéicas del endotelio gastrointestinal.

- ✓ Metabolismo presistémico. Se debe al metabolismo que pueden sufrir las sustancias antes de ser absorbidas.
- ✓ Efecto de primer paso hepático. Una parte de la dosis se metaboliza en el hígado, antes de distribuirse por la circulación sistémica, pero una vez que ha pasado las barreras celulares de la vía de absorción.
- ✓ Microflora bacteriana. El metabolismo bacteriano puede afectar la degradación de los xenobióticos y provocar una disminución presistémica.

En nuestro caso, nos interesa el efecto de la presencia de alimentos, ya que los residuos de plaguicidas en la dieta nunca penetran aisladamente. Además, se debe tener en cuenta la influencia de las propiedades fisicoquímicas de las sustancias, sobre todo su estructura y su liposolubilidad, que determinarán en gran medida su capacidad para atravesar las barreras biológicas. Por todo ello, recogemos en esta Tesis los estudios de biodisponibilidad para residuos de plaguicidas en diferentes matrices vegetales, tanto en fresco como procesadas.

Los diferentes trabajos realizados sobre biodisponibilidad se pueden agrupar en aquellos que la estudian mediante métodos probabilísticos, teniendo en cuenta las relaciones estructura-actividad del compuesto (Blaauboer, 2002, 2003; Gubbels-van Hal, Blaauboer, Barentsen, Hoitink, Meerts, & van der Hoeven, 2005; Gülден, Dierickx, & Seibert, 2006; Gülден & Seibert, 2005; Valcke, Chaverri, Monge, Bravo, Mergler, Partanen, et al., 2005); los que trabajan con métodos *in vivo* utilizando animales de experimentación o incluso monitorizando a voluntarios (Nolan, Rick, Freshour, & Saunders, 1984; Sabbioni & Neumann, 1990; Timchalk, Nolan, Mendrala, Dittenber, Brzak, & Mattsson, 2002; Woollen, 1993) y los que trabajan con métodos *in vitro* empleando tejidos celulares o modelos de laboratorio (Gad, 2000; Poet, Wu, Kousba, & Timchalk, 2003). Sin embargo, muy pocos han considerado la influencia de los alimentos en la biodisponibilidad oral de los plaguicidas, y de éstos la mayoría la han estudiado en animales (Khan, Kacew, Dupont, Stratton, & Wheeler, 1987; Mathew, Kacew, & Khan, 1998; Sandermann, Arjmand, Gennity, Winkler, Struble, & Aschbacher, 1990; Sandermann, Musick, & Aschbacher, 1992).

En general, se suelen utilizar dos tipos de modelos para el estudio de la biodisponibilidad oral en fármacos y xenobióticos, *in vivo* e *in vitro*. Los modelos *in vivo*

con animales de experimentación son los más fácilmente correlacionables con los humanos; de hecho, se puede aplicar el mismo factor de seguridad citado en los estudios toxicológicos de registro de una sustancia, pero plantean problemas de coste, tiempo y ética. En cambio, los *in vitro* son aceptables en el estadio inicial de una investigación por ser buenos indicadores de lo que ocurre en un medio fisiológico y por contra son mucho más económicos, sencillos y rápidos (Chiou & Barve, 1998).

Los ensayos *in vitro* de biodisponibilidad oral se realizan frecuentemente con montajes de bolsas y cánulas en laboratorio para imitar los compartimentos gastrointestinales y vasos del organismo, con cultivos celulares o con membranas de diálisis (Artursson & Borchardt, 1997; Audus, Bartel, Hidalgo, & Borchardt, 1990). La alternativa habitual es el uso de una membrana semipermeable a modo de intestino delgado, porque es el epitelio donde se produce mayoritariamente la absorción oral, al ser el más preparado celularmente por la presencia de sus microvellosidades *in vivo* para que así ocurra (Bollinger, Tsunoda, Ledoux, Ellersieck, & Veum, 2005; Gil-Izquierdo, Zafrilla, & Tomás Barberán, 2002; Miller, Schricker, Rasmussen, & Van Campen, 1981; Schricker, Miller, Rasmussen, & Van Campen, 1981). Esta membrana se coloca dentro de un dispositivo adecuado, de manera que se dispone en un lado la disolución a estudiar, en este caso el alimento fortificado, y se mide su aparición en el lado opuesto, o sea, en el interior de la membrana, una vez que ha logrado traspasar la superficie de la membrana por difusión pasiva (Artursson, 1990). La permeabilidad de esta membrana es el factor fundamental para que estos experimentos sean correlacionables, ya que la característica esencial de las membranas biológicas es que son semipermeables (Artursson & Karlsson, 1991; Camenisch, Alsenz, Van de Waterbeemd, & Folkers, 1998; Camenisch, Folkers, & Van de Waterbeemd, 1998). Para estudiar este proceso adecuadamente, hay disponibles membranas comerciales, celulósicas, de permeabilidad aproximada a las condiciones fisiológicas y en monocapa, como el epitelio intestinal.

No son abundantes los estudios que abordan la biodisponibilidad de plaguicidas en alimentos, mientras que existen más referencias en el caso de otros contaminantes como los metales. Así, se ha estudiado la biodisponibilidad de metales pesados en los alimentos destinados al consumo con modelos *in vitro* (Velasco-Reynold, Navarro-Alarcon, Lopez, Perez-Valero, & Lopez-Martinez, 2008; C. Wang, Duan, & Teng, 2014),

aunque también los hay en modelos *in vivo* (Juhasz, Smith, Weber, Rees, Rofe, Kuchel, et al., 2006).

En el caso de plaguicidas se han realizado estudios de biodisponibilidad *in vivo* en ratas, en semillas de algodón y aceites para ver la eliminación del insecticida C¹⁴-etiación en presencia de deltametrina y dimilin, (Abdel-Gawad, Mahdy, Hashad, & Elgemeie, 2014). Se han usado, en el caso de los residuos de plaguicidas organofosforados, los niveles de dialquifosfatos en orina como biomarcadores de la exposición humana a dichos plaguicidas, ya que se conoce que los plaguicidas organofosforados se degradan en los productos alimenticios a dialquifosfatos. Dado que no existían estudios de la biodisponibilidad de los mismos se estudió la biodisponibilidad del O,O-dimetilfosfato. Se encontró que no era metabolizado por la rata ni en los microsomas hepáticos humanos, además presentaba una gran biodisponibilidad lo que sugiere que la medición de dimetilfosfato como biomarcador de la exposición de organofosforados puede conducir a una sobreestimación de la exposición humana (Forsberg, Rodriguez-Proteau, Ma, Morre, Christensen, Maier, et al., 2011). Por último, se estudió la biodisponibilidad en ratas para el insecticida clorpirifos, encontrándose en más de un 8% en diferentes órganos, lo que indicaba que los residuos eran altamente biodisponibles (Abdel-Gawad & Taha, 2011).

Se ha estudiado la influencia de la matriz de uva y vino en la biodisponibilidad *in vitro* de distintos plaguicidas observando que el mayor efecto debido a la matriz lo daba la uva, seguido del vino y en último lugar las disoluciones en agua; los insecticidas que mayor porcentaje de dialización tenían eran fenoxicarb y piriproxifen en el vino (Payá, Mulero, Oliva, Camara, & Barba, 2013). También se ha estudiado la biodisponibilidad *in vitro* de insecticidas reguladores del crecimiento en cítricos y frutas de hueso y sus procesados. Para la mandarina se encontraron valores inferiores al 15% de dializado, siendo en las disoluciones de estándares los más elevados, seguidas de las muestras procesadas y finalmente de las muestras en fresco. Los porcentajes más elevados de dialización se encuentran para fenoxicarb y piriproxifen. Se observa que cuanto mayor es la cantidad de plaguicida digerido, mayor es la cantidad dializada. Para mandarinas, melocotones y albaricoques no se obtuvieron resultados para la biodisponibilidad *in vitro* en las muestras enriquecidas en las concentraciones que se encuentran en los productos destinados a la venta (frescos y procesados). En las disoluciones con estándares la diálisis comenzó a los 0,25 mg/kg; ésta es una

aproximación a la digestión de los plaguicidas y la absorción en los seres humanos. (Martínez, Cermeño, Morales, Maestro, Oliva, & Barba, 2015; Payá, Mulero, Oliva, Barba, Morillas, & Zafrilla, 2006; Payá, Mulero, Oliva, Cámara, Zafrilla, & Barba, 2007; Payá, Oliva, Zafrilla, Cámara, & Barba, 2009).

Finalmente, debemos resaltar la importancia que tiene el cálculo de la ingestión diaria estimada (IDE), realizada en función de la información de encuestas de consumo y anuarios estadísticos de los países consumidores de estos alimentos, en el concepto de seguridad alimentaria y evaluaciones de riesgo, área rápidamente desarrollada en los últimos años.

La evaluación del riesgo se centra en una comparación numérica contra un valor conocido de toxicidad, obtenido a partir de resultados del efecto de los residuos en estudios toxicológicos realizados con animales de experimentación y aplicando posteriormente los correspondientes factores de seguridad para los seres humanos (Ferrier, Nieuwenhuijsen, Boobis, & Elliott, 2002; Harris, Renfrew, & Woolridge, 2001; Schneider, Ollroge, Clauberg, & Schuhmacher-Wolz, 2007; Tomerlin & Petersen, 2004).

La evaluación de la exposición es una parte principal del proceso de evaluación de riesgos. Sólo la ingestión de cantidades significativas toxicológicamente puede dar lugar a efectos adversos para la salud, incluso para sustancias muy tóxicas. En el caso de los residuos de plaguicidas en alimentos, esta evaluación se basa en tres aspectos principales (Ferrier, Nieuwenhuijsen, Boobis, & Elliott, 2002; Renwick, 2002; Schneider, Ollroge, Clauberg, & Schuhmacher-Wolz, 2007):

- La forma de determinar cuantitativamente la presencia de una sustancia química en los distintos alimentos y dietas, entre ellos su destino durante los procesos dentro de la cadena de producción de alimentos.
- La forma de determinar los patrones de consumo de cada uno de los alimentos que contengan los residuos.
- La forma de integrar tanto la probabilidad de los consumidores de comer grandes cantidades de alimentos, como que los residuos estén presentes en estos alimentos en niveles significativos.

De estos puntos, el primero ha sido abordado en los diferentes estudios expuestos en la parte experimental de esta tesis; el segundo punto se trata con estadísticas proporcionadas por el Instituto Nacional de Estadística de España (INE), diferenciando entre el ámbito nacional, local y medios urbano y no urbano; el tercero se ha enfocado asumiendo que los residuos que se encontraban en los productos finales de campo y procesado llegaban al consumidor y por tanto conociendo su ingesta, se puede obtener la ingesta diaria estimada (IDE) de los residuos de plaguicidas estudiados en esta Tesis y compararla con el valor de IDA establecido para cada uno.

La ingesta de residuos de plaguicidas en los alimentos estimada se compara con la IDA, para poder decidir si desde el punto de vista de salud pública es aceptable un LMR. Debemos indicar que al utilizar los LMR como índices de las concentraciones de residuos para predecir la ingesta, se produce una sobreestimación de la cantidad ingerida (FAO/OMS, 1993).

Se debe tener en cuenta que hoy la estimación del riesgo considera que la dosis ingerida del residuo es la absorbida, obviando toda una serie de factores de absorción y metabolismo, previos a que el plaguicida llegue a su lugar sistémico y pueda producir un efecto en el organismo humano. Por tanto para evaluar con exactitud el riesgo toxicológico asociado a la ingesta de residuos de plaguicidas en alimentos, es preciso (Harris, Renfrew, & Woolridge, 2001; Luetzow, 2003):

- Obtener estimaciones adecuadas de la presencia y cantidad de un determinado residuo en un alimento y en la dieta en general.
- Evaluar los patrones de consumo de alimentos que contengan estas sustancias, especialmente los sectores de la población de alto consumo o más sensibles a la acción de los residuos.
- Desarrollar y aplicar herramientas para predecir con fiabilidad el riesgo derivado del consumo de alimentos que contengan residuos de plaguicidas.

Estos objetivos se deben integrar en un sistema de evaluación de la exposición rentable que permita categorizar con fiabilidad los productos fitosanitarios según los riesgos toxicológicos que implique la ingesta de sus residuos con los alimentos.

Inevitablemente, esto pasa por una recopilación exhaustiva de los resultados que se deriven de estudios enfocados de esta manera.

El riesgo, es decir, la probabilidad de que se produzcan efectos tóxicos y su magnitud, depende de la dosis y de las características de cada sustancia. Por ello, una evaluación de riesgo debe integrar, además de caracterizarlo, la identificación de grupos especiales de riesgo, si es que los hay. La evaluación de riesgos es el primer paso del proceso global de análisis de riesgos, que incluye la gestión y la comunicación de riesgos. Como resultado de las acciones de tipo legislativo, se han regulado los contenidos máximos de muchas de estas sustancias en los alimentos y se han adoptado planes de prevención y vigilancia. Finalmente, la comunicación de riesgos ha de realizarse como un proceso interactivo de intercambio de información y de opiniones entre los evaluadores del riesgo, los gestores del riesgo, los consumidores y todos los grupos que puedan tener intereses de cualquier tipo en estos temas.

Las IDA y los LMR no son valores fijos de manera permanente. En el momento de realizar la valoración son determinados mediante un grupo de expertos en cada Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas. Por ello, pueden ser modificados cuando aparecen nuevos datos. En 1982, se revisó la posibilidad de que se produzcan efectos perjudiciales sobre la salud como consecuencia de la exposición a los residuos de varios plaguicidas en los alimentos; ya entonces se concluyó que, según los niveles de ingesta de residuos encontrados, no había necesidad de cambiar los criterios ni los principios generales para estimar las IDA. En conclusión, los criterios recomendados para valorar la ingesta de residuos de plaguicidas son también válidos para evaluar la ingesta concurrente de varios residuos.

Estudios realizados en el sur de Corea, donde es muy común el consumo de los vegetales en crudo mostraron que en más del 1 % se superaban los LMR (principalmente en verduras de hoja como la lechuga). Entre los plaguicidas que se encontraban en mayor frecuencia podemos destacar azoxistrobin y dimetomorf. Para evaluar el riesgo se calcularon tanto la IDE como la IDA, obteniendo proporciones de IDE a IDA entre el 0,003 y el 30,4% (Park, Kim, Choi, Kang, Kim, Yang, et al., 2016). Para estudios con residuos de trifloxistrobin y tebuconazol en ginseng, se encontró que los valores calculados de IDE eran muy inferiores a los de IDA. Por lo tanto, es muy

poco probable que el consumo de ginseng pueda causar problemas sanitarios (Y. Wang, Wang, Gao, Liu, Cui, & Li, 2015).

En el trabajo realizado en esta Memoria, se intenta aportar información sobre la evolución de los residuos de algunos insecticidas y fungicidas empleados usualmente en los diferentes cultivos estudiados, en función de la práctica agrícola seguida en cuanto al uso de fitosanitarios. También se aborda la variación de dichos niveles residuales en el proceso de elaboración de congelados, conservas en almíbar, cremogenado, elaboración de zumo y vino; así como el cálculo de los factores de procesado de los residuos en dichas transformaciones. Finalmente se estudia el proceso de biodisponibilidad tanto de disoluciones patrón, como de las diferentes matrices vegetales, con el fin de conseguir esclarecer la influencia que puede tener la matriz en donde van absorbidos los residuos en su posible adsorción en las paredes intestinales durante su ingesta, comparando la ingesta estimada (IDE) y la corregida por la biodisponibilidad.



3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. MATERIALES.

3.1.1. PLAGUICIDAS ESTUDIADOS.

A continuación se resumen las principales características y propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas estudiados (FAO, 2008; Macbean, 2013).

3.1.1.1. INSECTICIDAS.

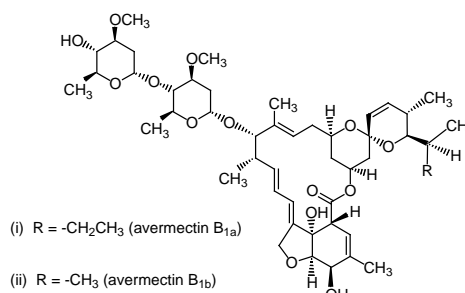
Definidos como sustancias químicas de origen mineral u orgánico capaces de producir la muerte de los insectos. Se han estudiado los siguientes compuestos:

3.1.1.1.1. Abamectina.

Insecticida y acaricida de contacto y acción estomacal. Tiene actividad sistémica limitada en la planta, pero exhibe movimiento translaminar. Actúa estimulando la liberación del ácido- γ -amino butírico, un inhibidor neurotransmisor, por lo que causa parálisis. Se produce de manera aislada en el suelo en la fermentación del Actinomycete *Streptomyces avermitilis*.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Abamectina.



Nombre químico según IUPAC: Mezcla de (10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5'S,6S,6'R,8R,12S,13S,20R,21R,24S) -6'-[(S)-sec-butil]-21,24-dihidroxi-5',11,13,22-tetrametil-2-oxo-(3,7,19-trioxatetraciclo[15.6.1.14,8.020,24] pentacosa-10,14,16,22-tetraeno)-6-espiro-2'-(5',6'-dihidro-2'H-piran)-12-il2,6-dideoxi-4-O-(2,6-dideoxi-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosil)-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosido y (10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5'S,6S,6'R,8R,12S,13S,20R,21R,24S)-21,22-dihidroxi-6'-isopropil-5',11,13,22-tetrametil-2-oxo-(3,7,19-trioxatetraciclo [15.6.1.14,8.020,24]pentacosa-10,14,16,22-tetraeno)-6-espiro-2'-(5',6'-dihidro-2'H-piran)-12-il2,6-dideoxi-4-O-(2,6-dideoxi-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosil)-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosido.

Propiedades físico-químicas.

Mezcla que contiene $\geq 80\%$ abamectina B_{1a} y $\leq 20\%$ abamectina B_{1b}. La fórmula molecular para abamectina B_{1a} es C₄₈H₇₂O₁₄ y la de abamectina B_{1b} es de C₄₇H₇₀O₁₄.

Se presenta en cristales incoloros a amarillo pálidos. Su punto de fusión es de 161,8 a 169,4 °C, su presión de vapor inferior a $3,7 \times 10^{-3}$ mPa (25 °C), su densidad de 1,18 g/cm³ (22 °C) y su solubilidad en agua 7-10 g/l (20 °C). En metanol 19,5 y en acetona 100 g/l (21 °C). Es estable a la hidrólisis en soluciones acuosas a pH casi neutro (25 °C) y sensible a ácidos fuertes y bases.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de fases móviles de ácaros, minadores de hojas, insectos chupadores, escarabajos, etc. Puede ser fitotóxico para frutas de pepita cuando se mezcla con captan.

Formulaciones.

El tipo más común es: EC (Emulsión concentrada).

Marcas comerciales.

Agrimec, Dynamec y Vertimec (Syngenta). Marisol (Gowan Española Fitosanitarios SL).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 10 y para ratones de 13,6 mg/kg; su nivel de efectos no observables (NOEL) en ratas (104 semanas) es de 1,5 mg/kg de peso corporal mientras que a corto plazo (18 semanas) disminuye seis veces; la ingesta diaria admisible (IDA) es de 0,0025 mg/kg de peso corporal por día y la dosis de referencia aguda (DRfA) de 0,005 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial mutagénico en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

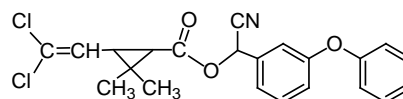
Se elimina rápidamente (80 a 100 % en 96 horas), principalmente por las heces. La degradación/metabolismo en las plantas es similar y se produce principalmente por fotólisis en las superficies. Se une fuertemente al suelo, con una rápida degradación por los microorganismos. No presenta bioacumulación.

3.1.1.1.2. Cipermetrina.

Insecticida no sistémico que actúa rápidamente por contacto y acción estomacal además de tener una acción anti-alimentación. Actúa sobre el sistema nervioso del insecto, y perturba la función de las neuronas por la interacción con el canal de sodio. Presenta una buena actividad residual en las plantas que han sido tratadas.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Cipermetrina.



Nombre químico según IUPAC: (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales inodoros de color amarillo-marrón formando un sólido semi-viscoso a temperatura ambiente. Presenta una presión de vapor de $2,00 \times 10^{-4}$ mPa (20 °C); su punto de fusión varía de 61 a 83 °C (dependiendo de la relación de

isómeros); una densidad de 1,24 g/cm³ (20 °C) y una solubilidad en agua de 0,004 mg/l (pH 7), siendo en cloroformo, acetona y ciclohexanona superior a 450 g/l a 20 °C. Es relativamente estable a la luz y térmicamente estable.

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla destacan una amplia gama de insectos, especialmente lepidópteros, también coleópteros, dípteros, hemípteros. Se utiliza en el control de moscas, mosquitos, cucarachas y otras plagas de insectos en salud pública. También se usa como ectoparasiticida animal.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), GR (Granulado), ULV (Líquidos de ultra bajo volumen) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Basathrin (BASF), *Cymbush* y *Cymerator* (Syngenta), *Cekumetrin 10EC* (Cequisa).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda de 250-4150 mg/kg y un NOEL (2 años) de 7,5 mg/kg para ratas. Tiene establecida una IDA de 0,05 mg/kg de peso corporal/día y una DRfA de 0,2 mg/kg de peso corporal. Su isómero alfa es el más activo y de mayor toxicidad.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

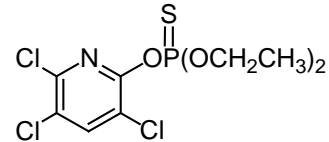
La absorción y eliminación en mamíferos son rápidas. Los niveles de residuos más altos, se encontraron en grasa corporal, consecuentemente con su naturaleza lipofílica. La vida media en la grasa de ratas varía de 3 a 12 días. Se pueden encontrar residuos en suelo y aguas superficiales, aunque su degradación biológica es bastante rápida y no es acumulativa.

3.1.1.1.3. Clorpirifos.

Insecticida fosforado no sistémico, de contacto y acción estomacal y respiratoria. Inhibidor de la colinesterasa.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Clorpirifos.



Nombre químico según IUPAC: O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros. Su punto de fusión es de 42 a 43,5 °C; presenta una presión de vapor de 2,7 mPa (25 °C), una densidad de 1,44 g/cm³ (20 °C) y una solubilidad en agua de 1,4 mg/l (25 °C), siendo mucho mayor en disolventes orgánicos. Su hidrólisis aumenta con el pH y la presencia de cobre.

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla destacan: coleópteros, dípteros, homópteros y lepidópteros. También se utiliza para el control de plagas domésticas (*Blattellidae*, *Muscidae*, *Isoptera*), mosquitos (larvas y adultos) y en los alojamientos de los animales.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: CS (Cápsulas en suspensión), DP (Polvo seco), EC (Emulsión concentrada), GR (Granulado), ULV (Líquidos de ultra bajo volumen), WG (Gránulos dispersables en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Dursban y Lorsban (Dow AgroSciences) y *Agromil* (Westrade).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda para ratas comprendida entre 135-163 mg/kg, aunque para conejos es de 1000-2000 mg/kg; su NOEL para ratas es de 1 mg/kg de peso corporal diaria (2 años). Presenta un NOEL oral agudo para seres humanos de 1,0 mg/kg de peso corporal diario. Su IDA es de 0,001 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,005 mg/kg, de peso corporal. No es teratogénico ni genotóxico.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

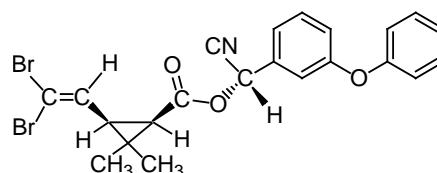
En mamíferos, tras su administración oral, se metaboliza rápidamente, produciéndose la excreción principalmente en la orina. En las plantas no es absorbido a través de las raíces. En el suelo, clorpirifos se degrada a una velocidad moderada, influenciada por las condiciones climáticas y la luz.

3.1.1.1.4. Deltametrina.

Insecticida no sistémico que actúa rápidamente por contacto y acción estomacal. Como todos los piretroides, bloquea los canales de sodio, inhibiendo la transmisión de los impulsos nerviosos.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Deltametrina.



Nombre químico según IUPAC: (S)- α -ciano-3-fenoxibencil (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropancarboxilato.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros. Su punto de fusión es de 100-102 °C; presenta una presión de vapor de $1,24 \times 10^{-5}$ mPa (25 °C); su densidad es de 0,55 g/cm³ (25 °C) y su solubilidad en agua inferior a 0,2 g/l (25 °C), siendo mucho mayor en disolventes orgánicos. Es extremadamente estable a la exposición al aire, y más en medio ácido que en medio alcalino.

Aplicaciones.

Se trata de un insecticida potente, eficaz por contacto e ingestión contra una amplia gama de plagas (Coleópteros, heterópteros, homópteros, lepidópteros, tisanópteros, acrididos, noctuidos, etc.). También para las plagas de granos almacenados y la madera (*Blattodea*, *Culicidae*, *Muscidae*).

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DP (Polvo seco), EC (Emulsión concentrada), EW (Emulsión aceite en agua), GR (Granulado), HN (Termonebulizable), PO (Vertido directo dorsal epicutáneo), SC (Suspensión concentrada), SL (Concentrados solubles), TB (Tabletas), ULV (Líquidos de ultra bajo volumen), WG (Gránulos dispersables en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Decis (Bayer CropScience), *Delta* (Nagarjuna Agrichem) y *Deltamix* (Agrimix).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda para ratas entre 135-5000 mg/kg. El NOEL (2 años) para ratones es de 12, en ratas 1 y en perros 1 mg/kg de peso corporal diario. Presenta una IDA de 0,01 mg/kg de peso corporal/día y una DRfA de 0,01 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial mutagénico ni teratogénico para ratones, ratas y conejos.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

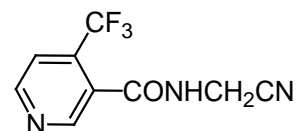
En ratas, tras su administración oral, se produce la eliminación en 2-4 días. En las plantas, no se produce absorción a través de hojas y raíces. En el suelo, sufre degradación microbiana en 1-2 semanas. Es fuertemente adsorbido por los coloides del suelo y no hay riesgo de lixiviación. No influye sobre la microflora del suelo y el ciclo del nitrógeno.

3.1.1.1.5. Flonicamida.

Insecticida con actividad sistémica y translaminar, de control a largo plazo. Inhibe la alimentación, aunque aún no se ha determinado su bioquímica.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Flonicamida.



Nombre químico según IUPAC: N-cianometil-4-trifluorometil-nicotinamida.

Propiedades físico-químicas.

Es un polvo blanco cristalino e inodoro. Su punto de fusión es de 157,5 °C; presenta una presión de vapor de $9,43 \times 10^{-4}$ mPa (20 °C), una densidad de 1,531 g/cm³ (20 °C) y una solubilidad en agua de 5,2 g/l (20 °C).

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla destaca como aficida selectivo; también es eficaz contra algunos insectos chupadores.

Formulaciones.

El tipo más común es: WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Turbine (FMC, Ishihara Sangyo), *Teppeki* (Belchim).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda en ratas macho de 884 mg/kg y en hembras de algo más del doble; su NOEL en ratas (90 días) es de 60 mg/kg de peso corporal día. Sus IDA y DRfA son de 0,025 mg/kg de peso corporal por día y 0,025 mg/kg de peso corporal, respectivamente. Negativo en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

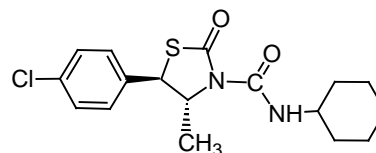
Se mantiene estable y no presenta degradación o reacción. Presenta un valor DT_{90} en suelos entre 1,5 a 8,7 días. No presenta problemas de residuos en cultivos de rotación. La naturaleza de sus residuos puede afectar a las materias primas de origen animal.

3.1.1.1.6. Hexitiazox.

Acaricida no sistémico de contacto y acción estomacal; posee buena actividad translaminar. Tiene actividad ovicida, larvicida y ninfocida. No es activo para los adultos, pero los huevos puestos por las hembras tratadas son inviables.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Hexitiazox.



Nombre químico según IUPAC: (4*RS*,5*RS*)-5-(4-clorofenil)-*N*-ciclohexil-4-metil-2-oxo-1,3-tiazolidina-3-carboxamida.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros. Su punto de fusión es de 108,0-108,5 °C; su presión de vapor de 0,0034 mPa (20 °C) y su solubilidad en agua es 0,5 g/cm³ (20 °C), siendo mayor en disolventes orgánicos. Es estable a la luz, al aire y al calor, tanto en medios alcalinos como ácidos.

Aplicaciones.

Control de huevos y larvas de muchos ácaros fitófagos (particularmente *Panonychus*, *Tetranychus*, y *Eotetranychus spp.*) en fruta, cítricos y vegetales como viñas y algodón.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), FU (Generador de

humo) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Nissorun y *Savey* (Nippon Soda), *Cesar* (Bayer CropScience) y *Zeldox* (Syngenta).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda para ratas y ratones mayor de 5000 mg/kg; un NOEL para ratas de 23,1 mg/kg y para perros de 2,87 mg/kg de peso corporal diariamente (2 años). Su IDA es de 0,03 mg/kg de peso corporal por día. No es teratogénico, ni mutagénico en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

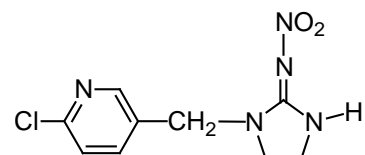
Se excreta en la orina y heces como un derivado de la carboxamida. En el suelo, se somete a la oxidación, generando los correspondientes compuestos hidroxilo y carbonilo.

3.1.1.1.7. Imidacloprid.

Insecticida sistémico con actividad translaminar, de contacto y acción estomacal. Actúa como un antagonista mediante la unión a receptores nicotínicos postsinápticos en el sistema nervioso central de los insectos. Se absorbe fácilmente por la planta y es distribuido vía xilema o acropetal, con buena acción sistémica en la raíz.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Imidacloprid.



Nombre químico según IUPAC: (EZ)-1-(6-cloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidin-2-ilidenoamina.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros con un débil olor característico. Su punto de fusión es de 144 °C, presenta una presión de vapor de 4×10^{-7} mPa (20 °C), su densidad es de 1,54 g/cm³ (23 °C) y su solubilidad en agua 0,61 g/l (20 °C), siendo en diclorometano diez veces más. Es estable a la hidrólisis a pH 5-11.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de los insectos chupadores, pulgones, trips, mosca blanca, insectos del suelo, termitas y escarabajos. No tiene ningún efecto sobre los nematodos y los ácaros. También se utiliza en controles de pulgas en perros y gatos.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DP (Polvo seco), FS (Suspensión concentrada para tratamiento de semillas), GR (Granulado), SC (Suspensión concentrada), SL (Concentrados solubles), WG (Gránulos dispersables en agua), WP (Polvo humectable) y WS (Polvo dispersable).

Marcas comerciales.

Confidor y *Gaucho* (Bayer CropScience) y *Mogambo* (Crop Health).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda en ratas de 450 mg/kg; su NOEL (2 años) para las ratas macho es 100, para hembras 300 y en ratones 330 mg/kg de peso corporal al día. La IDA es de 0,06 mg/kg de peso corporal/día y la DRfA de 0,08 mg/kg de peso corporal, en perros (90 días). No presenta potencial mutagénico o teratogénico.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En ratas y tras su administración oral, se produce su absorción completamente desde el tracto gastrointestinal y tan solo el 15% se elimina rápidamente en la orina (96% en 48 horas) como compuesto original. En las plantas se metaboliza por pérdida

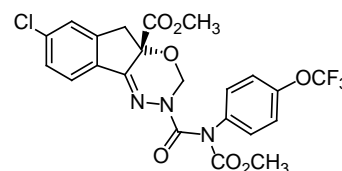
del grupo nitro, la hidroxilación en el anillo de imidazolidina, la hidrólisis a ácido 6-cloronicotínico y la formación de conjugados. En el suelo muestra una adsorción media y se aceleran sus procesos metabólicos por la vegetación. Tanto imidacloprid como sus metabolitos son clasificados como inmóviles; si se utiliza como se recomienda, no se produce lixiviación en las capas más profundas del suelo. Es estable a hidrólisis bajo condiciones estériles; siendo la luz solar y la actividad microbiana factores importantes para su degradación.

3.1.1.1.8. Indoxacarb.

Insecticida activo por contacto e ingestión. El componente activo, bloquea los canales de sodio en las células nerviosas. Los insectos afectados dejan de comer, presentan mala coordinación, parálisis y finalmente mueren.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Indoxacarb.



Nombre químico según IUPAC: Metil (S)-N-[7-cloro-2,3,4a,5-tetrahidro-4a-(metoxi-carbonil)indeno[1,2-e][1,3,4]oxadiacin-2-ilcarbonil]-4'-(trifluorometoxi) carbanilato.

Propiedades físico-químicas.

De los dos enantiómeros (S y R), designados como DPX-KN128 y DPX-KN127, que contiene el racemato, sólo el enantiómero S tiene actividad insecticida y es el conocido con el nombre común. Los nuevos procesos de síntesis han permitido la producción comercial de una mezcla enriquecida de aproximadamente 3:1 del enantiómero activo. Esta mezcla enriquecida tiene el código DPX-MP062 y es el ingrediente activo en todos los productos actualmente formulados.

Se trata de un polvo blanco con punto de fusión de 88,1 °C, una presión de vapor de $2,5 \times 10^{-5}$ mPa (25 °C), una densidad de 1,44 g/cm³ (20 °C) y una solubilidad en agua de 0,20 mg/l (25 °C) y quinientas veces superior en disolventes orgánicos.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de un amplio espectro de lepidópteros y la mezcla resulta efectiva en el control de sus larvas.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: SC (Suspensión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Avaunt y Steward (DuPont).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas macho de 1732 y para ratas hembra de 268 mg/kg; su NOEL para ratas oscila entre 40-60 ppm (2 años). Tiene una IDA de 0,006 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,125 mg/kg de peso corporal. Es negativo para el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En ratas, tras su administración oral, la mayor parte de la dosis se excreta dentro de las primeras 96 horas. En suelos, se considera moderadamente persistente.

3.1.1.1.9. λ-Cialotrina.

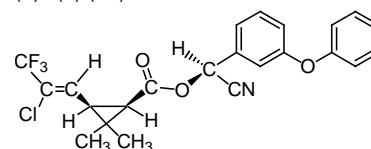
Insecticida no sistémico de contacto y acción estomacal, con propiedades repelentes. Actúa sobre el sistema nervioso de los insectos y perturba la función de las neuronas por la interacción con el canal de sodio. Posee elevada persistencia.

Nomenclatura y estructura.

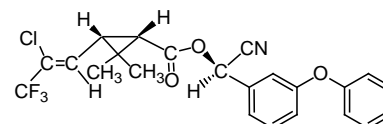
Nombre común: λ -cialotrina.

Nombre químico según IUPAC: 3-(2-cloro-3,3,3-trifluoro-1-propenil)-2,2-dimetil-ciano(3-fenoxifenil) metil ciclopropanecarboxilato.

(S) (Z)-(1R)-cis-



+



(R) (Z)-(1S)-cis-

Propiedades físico-químicas.

Es un sólido incoloro (marrón oscuro/verde endurecido al fundir). Su punto de fusión es de 49,2 °C, su presión de vapor de 2×10^{-4} mPa (20 °C), su densidad es de 1,33 g/cm³ (25 °C) y presenta una solubilidad en agua de 0,005 mg/l (20 °C), mientras que en acetona, metanol, tolueno y hexano es superior a 500 g/l. Es estable a la luz y al almacenamiento durante más de seis meses a temperatura ambiente.

Aplicaciones.

Controla un amplio espectro de plagas de insectos, por ejemplo, pulgones, escarabajos, trips, larvas de lepidópteros, coleópteros, etc. Proporciona un buen control de los virus de plantas por insectos. También se utiliza para el control de plagas de insectos en salud pública.

Formulaciones.

Las más comunes son: CS (Cápsulas en suspensión), EC (Emulsión concentrada), EW (Emulsión aceite en agua), ULV (Líquidos ultra bajo volumen), WG (Gránulos dispersables en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Icon, Karate y Warrior (Syngenta).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda en ratas entre 56-79 mg/kg; su NOEL (1 año)

para perros es de 0,5 mg/kg diariamente. Su IDA es de 0,0025 mg/kg de peso corporal por día y su DRfA de 0,005 mg/kg de peso corporal (EFSA, 2014). No se han observado efectos mutagénicos en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

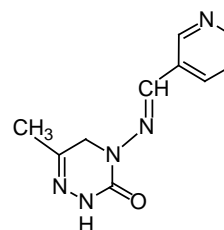
En ratas, tras su administración oral, es eliminado rápidamente en orina y heces. En el suelo se degrada rápidamente. Se adsorbe fuertemente al suelo y a la materia orgánica. No sufre lixiviación en suelos y sufre una rápida disipación en agua.

3.1.1.1.10. Pimetrocina.

Insecticida selectivo contra homópteros, inhibe la alimentación, aunque su bioquímica no está identificada.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Pimetrocina.



Nombre químico según IUPAC: 2-dimetilamino-5,6-dimetilpirimidin-4-il dimetil-carbamato.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros. Su punto de fusión es de 217 °C; presenta una presión de vapor inferior a 4×10^{-3} mPa (25 °C); su densidad es de 1,36 g/cm³ (20 °C) y su solubilidad en agua es 0,29 g/l (pH 6,5, 25 °C); en etanol 2,25 y en hexano inferior a 0,001 g/l a 20 °C. Es estable al aire.

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla destacan pulgones y mosca blanca, siendo susceptibles tanto en etapas juveniles como de adultos.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DP (Polvo dispersable), GR (Granulado), WG (Gránulos dispersables en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Chess y Plenum (Syngenta).

Aspectos toxicológicos.

Se ha establecido una dosis oral y aguda de 5820 mg/kg y un NOEL (2 años) de 3,7 mg/kg de peso corporal diario, para ratas. Presenta una IDA de 0,03 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,1 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial mutagénico, incluido el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

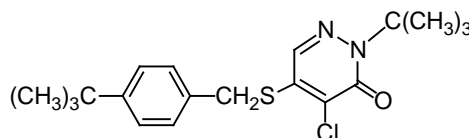
En animales, se metaboliza y elimina rápida y eficientemente (principalmente a través de los excrementos), no produciéndose acumulación en la mayoría de los principales productos alimenticios de origen animal. Las rutas metabólicas son similares para todas las especies. En suelos, es adsorbido rápida y fuertemente y presenta baja movilidad y bajo potencial de lixiviación. Es ligeramente volátil.

3.1.1.1.11. Piridaben.

Es un insecticida-acaricida no sistémico, activo contra todos los estadios de desarrollo, especialmente en las etapas de larvas y ninfas.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Piridaben.



Nombre químico según IUPAC: 2-ter-butil-5-(4-ter-butil-benziltio)-4-clorpiridazin-3(2H)-ona.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros, con un punto de fusión de 111-112 °C, una densidad de 1,2 g/cm³ (20 °C) y una solubilidad en agua de 0,012 mg/l (24 °C) (en hexano es de 10 g/l). Es estable a 50 °C durante 90 días, e inestable a la luz.

Aplicaciones.

Activo en el control de ácaros: *aleyrodidae*, *aphididae*, *cicadellidae* y *thysanoptera*, en cultivos extensivos, frutales, ornamentales y hortalizas, etc. Actúa en todos los estados del desarrollo de los ácaros, especialmente a dosis bajas contra estados larvarios y ninfales. También controla la población de la siguiente generación. Resulta eficaz contra algunos homópteros (moscas blancas, pulgones, etc.) y tisanópteros (trips), pero no contra lepidópteros, dípteros, himenópteros ni coleópteros.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), SC (Suspensión concentrada) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Sanmite (Nissan), *Dinomite* (Vapco) y *Podio* (Afrasa).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda en ratas entre 820-1350 mg/kg, y en ratones de 383-424 mg/kg; en conejos es superior a 2000 mg/kg. Su NOEL para perros (52 semanas) es de 0,5 mg/kg de peso corporal diario. Se ha calculado una IDA de 0,01 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,05 mg/kg de peso corporal. No se han observado efectos teratogénicos en ratas ni conejos, ni mutagénicos en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Las dosis administradas oralmente en ratas, cabras y gallinas, se excretan

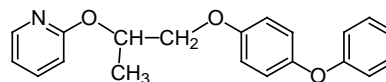
principalmente en las heces. El metabolismo es complejo, con al menos 30 productos de degradación. En las plantas, tras la aplicación en cítricos y manzanas, se degrada fotoquímicamente de forma gradual y no se transloca a la pulpa.

3.1.1.1.12. Piriproxifén.

Insecticida que mimetiza a la hormona juvenil, perteneciente al grupo de las piridinas. Suprime la embriogénesis e inhibe la metamorfosis y reproducción. También produce desequilibrios en la fisiología endocrina de la diapausa, con lo que los insectos se ven expuestos a condiciones ambientales desfavorables. Actúa por contacto e ingestión.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Piriproxifén.



Nombre químico según IUPAC: 4-fenoxifenil (*RS*)-2-(2-piridiloxi)propil éter.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales o líquido viscoso, de color amarillo pálido a marrón y débil olor. Su punto de fusión es 47 °C; su tensión de vapor es menor de 0,013 mPa (23 °C); su densidad es igual a 1,24 g/cm³ (25 °C). Posee una solubilidad en agua de 0,54 mg/l (20 °C), siendo casi cien veces mayor en disolventes orgánicos. Es estable al calor y a la luz.

Aplicaciones.

Recomendado para el control de mosca blanca y trips, en cítricos entre otros y de insectos relacionados con la salud pública (moscas, escarabajos, mosquitos, pulgas) en establos, gallineros, pantanos, etc. Los mejores resultados se obtienen cuando se aplica sobre insectos en estado larvario. No es recomendable aplicar si conviven individuos en distintos estados de desarrollo. Su efecto de choque aumenta si se mezcla con aceite mineral.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), GR (Granulado) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Sumilarv y *Admiral* (Sumitomo) y *Atominal* (Sumitomo, Philagro).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL_{50} oral y aguda >5000 mg/kg y un NOEL de 7,04 mg/kg peso (2 años) en ratas. La IDA es de 0,1 mg/kg de peso corporal/día en perros (1 año). Por su bajo perfil de toxicidad, no se ha establecido dosis de referencia aguda. No presenta genotoxicidad, carcinogénesis (ratas y ratones) ni teratogénesis. Sin efectos en la reproducción en ratas.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

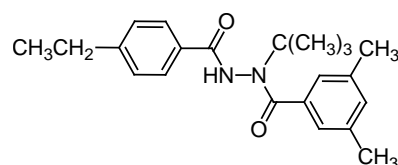
Posee elevada persistencia lo que aumenta la posibilidad de que entre en contacto con el insecto o de que sea ingerido por él.

3.1.1.1.13. Tebufenocida.

Insecticida agonista de ecdisona que actúa mediante la unión al receptor de la hormona de la muda de insectos (ecdisona), por lo que acelera letalmente el proceso de muda.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Tebufenocida.



Nombre químico según IUPAC: 1-(1,1-dimetil)-2-(4-etilbenzil) hidracida del ácido 3,5-dimetilbenzoico.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en polvo blanco apagado. Su punto de fusión es 191 °C, su presión de vapor $<1,56 \times 10^{-4}$ mPa (25 °C), su densidad es 1,03 g/cm³ (20 °C), su solubilidad en agua es 0,83 ppm (25 °C) y es ligeramente soluble en disolventes orgánicos. Es estable a 94 °C durante 7 días y a la luz en una disolución de pH 7 (25 °C); estable en la oscuridad, en agua estéril durante 30 días (25 °C).

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla cabe destacar las larvas de lepidópteros.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DP (Polvo dispersable), GR (Granulado), SC (Suspensión concentrada), SU (Suspensión ultra-bajo volumen) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Confirm y *Mimic* (Dow AgroSciences).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas y ratones >5000 mg/kg, un NOEL para ratas de 5,5 mg/kg de peso corporal diario (2 años). Muestra una IDA de 0,02 mg/kg de peso corporal por día y no se ha considerado necesario establecer su DRfA. Negativo para el test de Ames y ensayos mutagénicos y teratogénicos.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

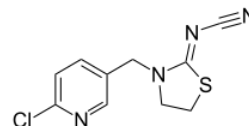
En ratas y plantas, se han encontrado pequeñas cantidades de metabolitos resultantes de la oxidación de los sustituyentes alquilo del anillo aromático. Los estudios de disipación de campo no indican movilidad por debajo de los 30 cm.

3.1.1.1.14. Tiacloprid.

Derivado de la tiazolidina (cloronicotinilos). Perteneciente al grupo de las nitroguanidinas, con actividad insecticida por vía sistémica y residual; actúa por contacto e ingestión sobre insectos chupadores y masticadores.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Tiacloprid.



Nombre químico según IUPAC: (Z)-N-(3-[(6-cloro-3-piridinil)-metil]-1,3-tiazolan-2-iliden) cianamida.

Propiedades físico-químicas.

Se encuentra formando una suspensión de color blanco a beige claro con un olor débil característico. Su pH es 6,5 - 8,5 a 100 % (23 °C), su temperatura de ignición es >600 °C, presenta una densidad de 1,19 g/cm³ (20 °C) y es soluble en agua.

Aplicaciones.

Entre las plagas que controla destacan gusanos de manzanas y peras, escarabajo de la patata, mosca blanca, polilla oriental del melocotonero, pulgones y otros insectos en cultivos y plantaciones de albaricoquero, entre otros.

Formulaciones.

El tipo más común es SC (Suspensión concentrada).

Marcas comerciales.

Bariard (Bayer CropScience) y *Calypso* (Bayer CropScience).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda de entre 300-500 mg/kg y un NOEL de 25

mg/kg para ratas. Se ha calculado una IDA de 0,01 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,03 mg/kg de peso corporal. No se han observado efectos teratogénicos a bajas dosis. No presenta actividad mutagénica o genotóxica.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En estudios de 2 años en ratas, se observó la degeneración del hígado y necrosis, mostrando el hígado como órgano diana de su toxicidad. La principal preocupación es el desarrollo de tumores de tiroides que ocurre después de una exposición prolongada. Desaparece rápidamente del medio ambiente con una vida media en suelos que oscila de 9 a 16 días; no presentando potencial de lixiviación en aguas subterráneas. En el medio ambiente acuático sufre una rápida degradación biótica (vida media de 12 a 20 días).

3.1.1.1.15. Spinosad.

Pertenece a una nueva clase de insecticidas denominada *espinosinas*, integrada exclusivamente por los metabolitos secundarios derivados de la bacteria *S. spinosa*. Es una lactona macrocíclica, compuesta de cuatro anillos cíclicos a los cuales se adhieren dos moléculas de azúcares en sus extremos. Es un insecticida de ingestión y contacto que actúa sobre el sistema nervioso central de las larvas y adultos de insectos, causándoles parálisis (Pineda, Schneider, & Martínez, 2007).

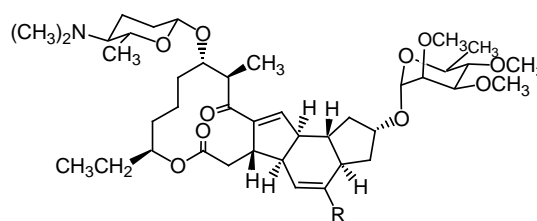
Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Spinosad.

Nombre químico según IUPAC: Es una mezcla en proporción 50-95% de spinosyn A y un 5-50% de spinosyn D.

Spinosyn A: (2R, 3aS, 5aR, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bR) 2-(6-deoxi- 2,3,4-tri-O-metil- α -L-manopiranosiloxi) 13-(4-dimetilamino-2,3,4,6-tetradexoi- β -D-eritropiranosiloxi) 9-etil-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadecahidro-14-metil-1H-8-oxaciclododecabasindaceno 7,15-diona.

Spinosyn D: (2S, 3aR, 5aS, 5bS, 9S, 13S, 14R, 16aS, 16bS) 2-(6-deoxi- 2,3,4-tri-O-metil- α -L-manopiranosiloxi)13-(4-dimetilamino-2,3,4,6-tetradexoi- β -D-eritropiranosilo-



spinosyn A, R = H-

spinosyn D, R = CH₃-

xi)9-etil-2,3,3a,5a,5b,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16a,16b-hexadecahidro-4,14-dimetil-1H-8-oxaciclododeca bas-indaceno-7,15-diona.

Propiedades físico-químicas.

Es un sólido cristalino, de apariencia blanquecina y con olor similar al de tierra mojada (Thompson, Dutton, & Sparks, 2000). Su punto de fusión es de 84-99,5 °C (spinosad A) y de 161,5-170 °C (spinosad D); presenta una tensión de vapor de 3×10^{-5} mPa (25 °C) para spinosad A y $2,0 \times 10^{-5}$ mPa (25 °C) para el spinosad D. Su densidad es de 0,512 g/cm³ (20 °C). El isómero A, presenta una solubilidad en agua de 235 mg/l (pH 7; 20 °C) y el D de 0,33 mg/l (pH 7; 20 °C). Es estable a la hidrólisis en disoluciones acuosas con pH 5 y 7.

Aplicaciones.

Activo en el control de trips: *Lepidoptera*, *Himenoptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, *Thysanoptera* e *Isoptera*. Dada su alta efectividad, se ha utilizado intensivamente en crucíferas, hortalizas, gramíneas y frutales. También para el control de plagas urbanas en césped y ornamentales; sin olvidar su efectividad como cebo en moscas de la fruta.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: SC (Suspensión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Conserve (Dow AgroSciences), *SpinTor* (Dow AgroSciences) y *Success* (Dow AgroSciences).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL₅₀ oral y aguda en ratas entre 3783 y 5000 mg/kg y en conejos >2000 mg/kg. El NOEL establecido para perros (13 semanas) es de 5 mg/kg de peso corporal diario y para ratas de 9 a 10 mg/kg de peso corporal diario. El perfil toxicológico evaluó una IDA de 0,024 mg/kg de peso corporal por día; no

considerándose necesario evaluar la DRfA. No se han observado efectos teratogénicos ni mutagénicos.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Presenta una baja toxicidad en mamíferos, se metaboliza rápidamente y es eliminado principalmente en la orina y las heces. Los metabolitos son conjugados de glutatión y N- y O- desmetilados macrólidos. No hay residuos de spinosad en carne, leche o huevos. En las superficies de las plantas, la degradación se produce principalmente por fotólisis.

3.1.1.2. FUNGICIDAS.

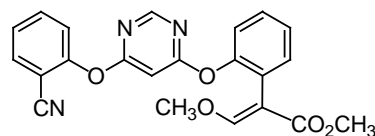
Definidos como sustancias químicas de origen mineral u orgánico para el tratamiento de las enfermedades producidas por hongos, impidiendo tanto la germinación de las esporas como la reproducción del hongo. Se han estudiado los siguientes compuestos:

3.1.1.2.1. Azoxistrobin.

Fungicida con propiedades protectoras, curativas, erradicantes, translaminares y sistémicas. Impide la germinación de esporas y el crecimiento micelial, y también muestra actividad antiesporulante. Inhibe la respiración mitocondrial mediante el bloqueo de la transferencia de electrones entre dos citocromos.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Azoxistrobin.



Nombre químico según IUPAC: Metil (2E)-2-(2- [6-(2-cianofenoxi)pirimidin-4-iloxi]fenil)-3-metoxiacrilato.

Propiedades físico-químicas.

Se trata de un sólido blanco, con punto de fusión de 116 °C y presión de vapor de $1,1 \times 10^{-7}$ mPa (20 °C); su densidad es 1,34 g/cm³ (20 °C). Presenta una

solubilidad en agua de 6 mg/l (20 °C), baja solubilidad en hexano y *n*-octanol, moderada en metanol, tolueno y acetona y elevada en acetonitrilo y diclorometano. Es estable a la hidrólisis.

Aplicaciones.

Controla gran cantidad de patógenos como royas y mildius (*Erysiphe graminis*, *Puccinia* spp, *Leptosphaeria nodorum*, *Septoria tritici*, etc.).

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: GR (Granulado), SC (Suspensión concentrada), SE (Suspo-Emulsión) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Amistar y *Ortiva* (Syngenta) y *ZX* (Barclay).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas >5000 mg/kg. El NOEL para ratas (2 años) es de 18 mg/kg de peso corporal diario. Se estableció una IDA de 0,2 mg/kg de peso corporal por día. No se consideró necesario establecer una DRfA. No presenta actividad genotóxica, carcinogénica o neurotóxica. No se han observado efectos adversos en la capacidad de reproducción. Además, no posee ningún efecto sobre los parámetros de fertilidad ni sobre el desarrollo del feto o el lactante.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

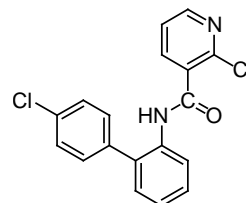
En ratas es excretado de forma mayoritaria por las heces. En cabras y gallinas, también se excreta rápidamente, presentando bajos residuos en la leche, carne o huevos. En suelos, se disipa más rápidamente en campo que en laboratorio, presentando de baja a moderada movilidad en el suelo; no encontrando normalmente residuos del producto ni de sus principales productos de degradación en el suelo bajo los 15 cm superiores.

3.1.1.2.2. Boscalid.

Fungicida foliar. Inhibe el complejo II, en la cadena de transporte mitocondrial de electrones.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Boscalid.



Nombre químico según IUPAC: 2-Cloro-N-(4'-clorobifenil-2-il)nicotinamida.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales blancos inodoros, su punto de fusión es de 142,8-143,8°C y su presión de vapor es de $7,2 \times 10^{-4}$ mPa. Tiene una densidad de 1,38 g/cm³ (20 °C), su solubilidad en agua es de 4,6 mg/l (20 °C), en metanol es de diez veces más y en acetona supera las cuarenta veces más. Es estable a la hidrólisis y a la fotólisis acuosa.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de oídio, *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Sclerotinia* spp. y *Monilia* spp. en distintas frutas y verduras.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: SC (Suspensión concentrada), SE (SuspoEmulsión) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Collis (en mezcla con kresoxim-metil), *Cantus* y *Endura* (BASF) .

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda >5000 mg/kg. El NOEL establecido para ratas

es de 5 mg/kg de peso corporal diario. La evaluación toxicológica proporcionó una IDA de 0,04 mg/kg de peso corporal por día, no considerándose necesaria la evaluación de la DRfA. No presenta efectos mutágenos en ensayos sobre microorganismos ni cultivos de células de mamíferos. En estudios de larga duración, la sustancia causa formación de tumores en el tiroides en ratas. En ratones (suministrando la sustancia como alimento) no se observaron efectos cancerígenos.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

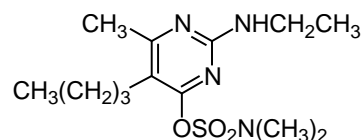
En los animales tiene una excreción rápida, principalmente por las heces. En el suelo se degrada de manera moderada.

3.1.1.2.3. Bupimirato.

Fungicida preventivo y curativo de acción específica contra cenicilla polvorienta en una amplia gama de cultivos. Se trata de una pirimidina sistémica con actividad fungicida específica frente a oídio. El ingrediente activo se absorbe en el hongo e inhibe la enzima adenosina-deaminasa (ADA-asa), involucrada en la síntesis de ácidos nucleicos dentro de sus células. Se caracteriza por su triple actividad: sistémica, translaminar y fumigante.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Bupimirato.



Nombre químico según IUPAC: 5-butil-2-etilamino-6-metilpirimidin-4-il dimetil-sulfamato.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales de color canela pálido. Su punto de fusión es de 50-51 °C, su densidad es de 1,2 g/cm³ y su solubilidad en agua 22 mg/l (25 °C); es soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos comunes, excepto las parafinas. Es estable en disoluciones básicas diluidas, pero se hidroliza muy fácilmente en ácidos diluidos. Se descompone rápidamente por la radiación ultravioleta y es inestable al almacenamiento prolongado a más de 37 °C.

Aplicaciones.

Puede ser utilizado en el control preventivo y curativo de: cenicillas, oídio y otras micosis producidas por *Erisifales* en cultivos de cucurbitáceas y leñosos como albaricoque.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Nimrod (Makhteshim-Agan).

Aspectos toxicológicos.

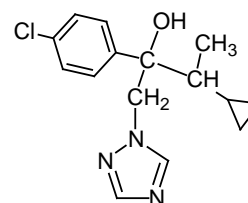
Presenta una DL₅₀ oral y aguda para las ratas, ratones y conejos superior a 4000 mg/kg; el NOEL en ratas (2 años) es de 100 mg/kg de peso corporal mientras que a corto plazo (90 días) es de 1000 mg/kg de peso corporal en ratas y 15 mg/kg diarios en perros. El perfil toxicológico proporcionó una IDA de 0,05 mg/kg de peso corporal por día. No se consideró necesario establecer la DRfA. No presenta teratogénesis, carcinogénesis ni mutagénesis, en los animales ensayados.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En los mamíferos, el 68% de la dosis se elimina en la orina a las 24 horas, el resto se elimina al cabo de 10 días. En el suelo, el principal producto de degradación es etirimol. Se ha comprobado su toxicidad para organismos acuáticos, pudiendo causar efectos nocivos en el ambiente acuático a largo plazo.

3.1.1.2.4. Ciproconazol.

Fungicida sistémico con acción protectora, curativa y erradicante. Se absorbe rápidamente por la planta y es un esteroide inhibidor de la desmetilación.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Ciproconazol.

Nombre químico según IUPAC: (2RS,3RS;2RS,3SR)-2-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-1-(1H-1,2,4- triazol-1-il)butan-2-ol.

Propiedades físico-químicas.

Es un sólido incoloro, mezcla de dos diastereoisómeros (1:1). Presenta un punto de fusión de 106,2-106,9 °C; su presión de vapor es de $2,6 \times 10^{-2}$ mPa (25 °C) y tiene una densidad de 1,25 g/cm³; su solubilidad en agua es de 93 mg/l (22 °C) y en acetona y metanol cuatro veces más. Tras el almacenamiento durante 2 años, su descomposición es inferior al 5%; es estable en disoluciones acuosas y se hidroliza lentamente en HCl 1 N y NaOH. Es estable hasta los 360 °C.

Aplicaciones.

Fungicida sistémico y foliar para el control de *Septoria*, roya, oídio, *Rhynchosporium*, *Cercospora* y *Ramularia*.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: SC (Suspensión concentrada), SL (Concentrados solubles) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Alto y *Atemi* (Syngenta), *Caddy* (Bayer CropScience).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 1020-1333 mg/kg y para conejos de 200-218 mg/kg. Presenta un NOEL (1 año) para perros de 1 mg/kg de peso corporal diario. Su perfil toxicológico proporcionó una IDA de 0,02 mg/kg de peso

corporal por día y una DRfA de 0,02 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial mutagénico en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

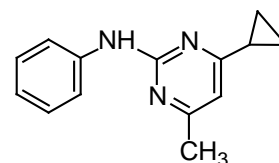
En mamíferos, después de la administración oral, se absorbe rápidamente, se metaboliza y excreta. No presenta bioacumulación. En diferentes cultivos, las vías metabólicas son similares y el principal residuo es la propia materia activa. En el suelo, se degrada moderadamente rápido, no presenta acumulación y tiene potencial de lixiviación.

3.1.1.2.5. Ciprodinil.

Fungicida sistémico con absorción en las plantas después de la aplicación foliar y el transporte a través del tejido y vía acropetal en el xilema. Inhibidor de la biosíntesis de metionina y la secreción de enzimas hidrolíticas. No presenta resistencia cruzada a bencimidazoles, carbamatos, dicarboximidas, imidazoles, morfolinás, quinolinás, estrobilurinas o triazoles. Impide el crecimiento micelial y la penetración tanto en el interior como en la superficie de la hoja.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Ciprodinil.



Nombre químico según IUPAC: 4-ciclopropil-6-metil-N-fenil-pirimidin-2-amina.

Propiedades físico-químicas.

Es un polvo fino de color beige con olor débil. Su punto de fusión es de 75,9 °C; presenta una presión de vapor de $5,1 \times 10^{-1}$ mPa (modificación cristalina A) o $4,7 \times 10^{-1}$ mPa (modificación cristalina B) (25 °C). Tiene una densidad de $1,21 \text{ g/cm}^3$ (20 °C), su solubilidad en agua es 13 mg/l (pH 7, 25 °C), en etanol es diez veces mayor y en acetona sesenta. Es hidrolíticamente estable.

Aplicaciones.

Controla una amplia gama de patógenos, tales como *Tapesia yallundae* y *T. acuformis*, *Erysiphe* spp., *Pyrenophora teres*, *Rhynchosporium secalis*, *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Venturia* spp. y *Monilinia* spp.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Chorus, *Unix* y *Switch* (mezcla con fludioxinil) (Syngenta) y *Amtrak* (Barclay).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas >2000 mg/kg y un NOEL para ratas (2 años) de 3 mg/kg y para perros (1 año) de 65 mg/kg de peso corporal diario. Tiene una IDA de 0,03 mg/kg de peso corporal por día. No presenta potencial mutagénico, teratogénico ni oncogénico (EFSA, 2013).

Aspectos metabólicos y medioambientales.

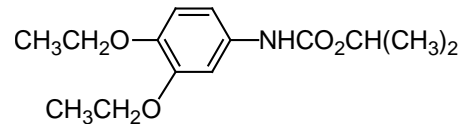
Después de su administración oral, se absorbe rápida y casi completamente y es eliminado por la orina y heces. Los residuos en los tejidos fueron bajos y no hubo evidencia de acumulación. En el suelo, la formación de residuos fijos representa la principal vía para su disipación. En los experimentos de lixiviación y adsorción/desorción, el compuesto resultó ser inmóvil en el suelo.

3.1.1.2.6. Dietofencarb.

Fungicida sistémico con acción protectora y curativa. Inhibe la mitosis mediante la unión a β -tubulina. Se absorbe rápidamente en las hojas y raíces, y es translocado por toda la planta.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Dietofencarb.



Nombre químico según IUPAC: 3,4-dietoxifenilcarbamato de isopropilo.

Propiedades físico-químicas.

Es un sólido cristalino entre blanco y marrón claro. Su punto de fusión es de 100,3 °C y su tensión de vapor de 8,4 mPa (20 °C); su densidad es de 1,19 g/cm³ (23 °C) y presenta una solubilidad en agua de 26,6 mg/l (20 °C) y en metanol cinco veces superior.

Aplicaciones.

Destaca en el control de cepas resistentes a bencimidazol de *Botrytis* spp. Además tiene actividad secundaria contra el oídio (*Cercospora*, *Venturia*).

Formulaciones.

El tipo más común es: WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Sumico (Sumitomo) y *Sumifol D* (Kemogard).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas >5000 mg/kg y no se ha establecido el NOEL para animales de laboratorio. Se establece una IDA de 0,43 mg/kg de peso corporal por día y no se consideró necesario establecer una dosis aguda de referencia. No presenta potencial mutagénico en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Después de su administración oral a ratas, el 98,5-100% se excreta en un plazo

de 7 días. Es fácilmente degradado en las plantas, así como en el suelo.

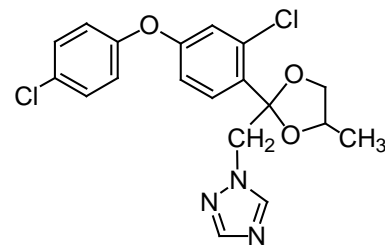
3.1.1.2.7. Difenoconazol.

Fungicida sistémico con acción preventiva y curativa. Es absorbido por las hojas, por vía acropetal, presenta una fuerte translocación translaminar. Inhibidor de la desmetilación de los esteroides. Impide la biosíntesis de ergosterol de la membrana celular, deteniendo el desarrollo del hongo.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Difenoconazol.

Nombre químico según IUPAC: cis-trans-3-cloro-4-[4-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-2-il]fenil4-clorofenil éter.



Propiedades físico-químicas.

Se presenta como cristales de color blanco a beige. La relación de composición de cis a trans para transformar isómeros está en el rango 0,7 a 1,5. Su punto de fusión es de 82-83 °C; presenta una presión de vapor de $3,3 \times 10^{-5}$ mPa (25 °C) y su densidad es 1,40 g/cm³ (20 °C). Su solubilidad en agua es de 15 mg/l (25 °C), en etanol de treinta y acetona sesenta veces más. Es térmica e hidrolíticamente estable.

Aplicaciones.

Proporciona una actividad duradera, preventiva y curativa contra *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*, incluyendo *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Cercosporidium*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Mycosphaerella*, *Phoma*, *Ramularia*, *Rhizoctonia*, *Septoria*, *Uncinula*, *Venturia* spp., *Erysiphaceae*, entre otros.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DS (Polvo para tratamiento seco de semillas), EC (Emulsión concentrada), FS (Suspensión concentrada para tratamiento de semillas), SC

(Suspensión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Dividend (tratamiento de semillas) y *Score* (Syngenta).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 1453 mg/kg. El NOEL para ratas (2 años) es de 1,0 mg/kg y para perros (1 año) de 3,4 mg/kg de peso corporal diario. Se propone una IDA de 0,01 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,16 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial teratogénico ni mutagénico.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

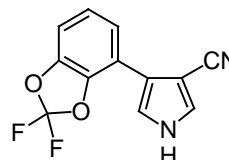
Después de su administración oral, difenoconazol se elimina rápidamente y prácticamente en su totalidad en la orina y las heces. Los residuos en los tejidos no son significativos y no hay evidencia de una posible acumulación. Se inmoviliza prácticamente en el suelo, debido a su gran adsorción en las partículas del mismo; presenta bajo potencial de lixiviación en la capa superior del suelo. La tasa de disipación es lenta y depende de la velocidad de aplicación.

3.1.1.2.8. Fludioxonil.

Fungicida no sistémico con actividad residual a largo plazo. Inhibe la MAP quinasa en la transducción de señal osmótica. Se absorbe en los tejidos de las plantas y tiene limitadas propiedades curativas. Inhibe principalmente la germinación de los conidios y, en menor medida, el tubo de germen y el crecimiento del micelio.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Fludioxonil.



Nombre químico según IUPAC: 4-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-4-il)pirrol-3-carbonitrilo.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en forma de cristales amarillentos. Su punto de fusión es de 199,8 °C, su presión de vapor de $3,9 \times 10^{-4}$ mPa (25 °C) y su densidad es de 1,54 g/cm³ (20 °C). Su solubilidad en agua es de 1,8 mg/l (25 °C) y en acetona cien veces más. Prácticamente no sufre hidrólisis a 70 °C entre pH 5 y 9.

Aplicaciones.

Sus principales usos son: tratamiento de semillas, control de *Fusarium* spp., *Microdochium*, *Rhizoctonia*, *Tilletia*, *Pyrenophora* y *Septoria*; como fungicida foliar, control de *Botrytis*, *Monilinia*, *Sclerotinia* y *Alternaria*; sobre césped y también como un tratamiento post-cosecha en fruta de hueso.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DS (Polvo tratamiento seco de semillas), FS (Suspensión concentrada para semillas), SC (Suspensión concentrada), WG (Gránulos dispersables en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Celest (semillas), *Géoxe* (foliar) y *Switch* (en mezcla con ciprodinil) (Syngenta).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas y ratones >5000 mg/kg. El NOEL establecido para ratas (2 años) es de 40 mg/kg y para perros (1 año) 3,3 mg/kg de peso corporal diario. Tiene una IDA de 0,37 mg/kg de peso corporal por día. No se consideró necesario establecer su DRfA. No presenta potencial mutagénico, teratogénico ni oncogénico.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Es rápidamente absorbido desde el tracto gastrointestinal hacia la circulación general y excretado casi completamente, a través de las heces. En general, el compuesto se metaboliza ampliamente. La formación de desechos ligados es la

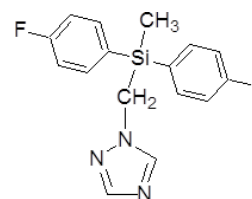
principal vía de degradación en el suelo y en los experimentos de lixiviación y adsorción/desorción, resultó ser inmóvil en el suelo.

3.1.1.2.9. Flusilazol.

Fungicida triazólico, que actúa a través de la inhibición del complejo enzimático citocromo P-450. Pertenece a la familia DMI que impide la biosíntesis del ergosterol inhibiendo la C-14 desmetilación. Posee acción translaminar. Penetra en la planta rápidamente después de la aplicación y se transloca por el xilema.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Flusilazol.



Nombre químico según IUPAC: bis (4-fluorofenil)(metil)(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) silano.

Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales blancos e inodoros. Su punto de fusión es de 53-55 °C, su densidad es de 1,3 g/cm³ (20 °C) y su solubilidad en agua 45 mg/l para pH 7,8, aumentando cuando baja el pH. Es fácilmente soluble en muchos disolventes orgánicos. Es estable en condiciones normales de almacenamiento; también a la luz y a temperaturas de hasta 310 °C.

Aplicaciones.

Flusilazol se utiliza para el control del oídio, *Podosphaera tridactyla* (oídio de los frutales de hueso), monilia, sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola*) y roya asiática de la soja, entre otros usos.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), EW (Emulsión de aceite en agua), SC (Suspensión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Nustar y Olymp (DuPont).

Aspectos toxicológicos.

Tiene una DL_{50} oral y aguda de 674-1100 mg/kg en ratas; el NOEL en ratas (2 años) es de 10 mg/kg y para perros (1 año) es de 5 mg/kg de peso corporal diario. Se ha calculado una IDA y una DRfA de 0,002 mg/kg de peso corporal por día y 0,005 mg/kg de peso corporal, respectivamente. No se han observado efectos mutagénicos. Mostró potencial carcinogénico para ratones, aunque aún se desconoce el posible resultado para seres humanos. Presenta efectos reproductivos adversos y repercusiones en el desarrollo de dos especies (ratón y conejo).

Aspectos metabólicos y medioambientales.

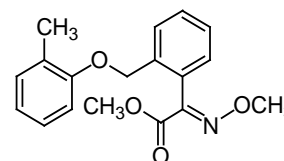
Es importante destacar que flusilazol posee elevada persistencia en el suelo.

3.1.1.2.10. Kresoxim-metil.

Fungicida de contacto, preventivo, curativo y erradicante. Inhibe la producción y germinación de las esporas y el crecimiento del micelio del hongo. Esto lo logra a través de la inhibición de la respiración mitocondrial de los hongos a través del bloqueo de la transferencia de electrones entre la mitocondria b y el citocromo c.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Kresoxim-metil.



Nombre químico según IUPAC: metil (E)-metoximino[α -(o-toliloxi)-o-tolil]acetato.

Propiedades físico-químicas.

Se encuentra en forma de cristales blancos, ligeramente aromáticos. Su punto de fusión es 101,6-102,5 °C, su presión de vapor de $2,3 \times 10^{-3}$ mPa (20 °C) y su

densidad es de 1,23 g/cm³ (20 °C). Su solubilidad en agua es de 2 mg/l (20 °C) y es relativamente estable a pH 5.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de la sarna en las manzanas y las peras (*Venturia spp.*); oídio en manzanas (*Podosphaera leucotricha*), vid (*Uncinula necator*), cucurbitáceas (*Sphaerotheca fuliginea*) y remolacha azucarera (*Erysiphe betae*); moho (*Erysiphe graminis*), escaldadura (*Rhynchosporium secalis*), helmintosporiosis (*Pyrenophora teres*) y mancha de la gluma (*Septoria nodorum*) en cereales y moho en las verduras (*Leveillula taurica*, *Erysiphe spp.*, *Alternaria spp.*).

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: SC (Suspensión concentrada), SE (Suspo-Emulsión) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Stroby (BASF, Nissan), *Collis* (en mezcla con boscalid) (BASF) y *Ardent* (Makhteshim).

Aspectos toxicológicos.

Su clasificación se basa en una DL₅₀ oral y aguda >5000 mg/kg y un NOEL (3 meses) comprendido entre 500-2000 ppm, para ratas. Presenta un IDA de 0,4 mg/kg de peso corporal por día y no se consideró necesario establecer DRfA. No presenta potencial teratogénico, dando negativo en el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Es muy tóxico para peces y ligeramente tóxico para aves y abejas. En el aire está presente únicamente como partículas, las cuales son eliminadas de la atmósfera por precipitación húmeda y seca. Administrado oralmente, se distribuye ampliamente y se elimina, principalmente por las heces y la orina; no presenta bioacumulación. En el

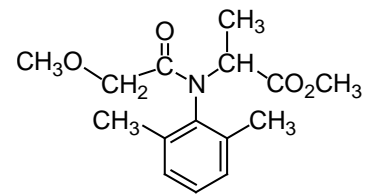
suelo es rápidamente degradado bajo condiciones aeróbicas, con una vida media menor a un día; además es muy móvil.

3.1.1.2.11. Metalaxil.

Fungicida sistémico con acción protectora y curativa, se absorbe a través de las hojas, tallos y raíces. Inhibe la síntesis de proteínas en los hongos, por la interferencia con la síntesis de ARN ribosomal.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Metalaxil.



Nombre químico según IUPAC: metil N-(metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-D-alaninato.

Propiedades físico-químicas.

Se trata de un fino polvo blanco. Su punto de fusión es de 63,5-72,3 °C, su presión de vapor es de 0,75 MPa (25 °C) y tiene una densidad de 1,20 g/cm³ (20 °C). Presenta una solubilidad en agua de 8,4 g/l (22 °C) y cincuenta veces más en etanol y acetona. Es estable hasta los 300 °C y en medios neutros y ácidos a temperatura ambiente.

Aplicaciones.

Se utiliza para el control de las enfermedades causadas por *Peronosporales* en el aire y el suelo. Las aplicaciones al suelo solo se utilizan para controlar los patógenos del suelo que causan la pudrición del tallo y la raíz.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DS (Polvo para tratamiento seco de semillas), FS (Suspensión concentrada para tratamiento de semillas), GR (Granulado) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Ridomil (Syngenta), *Duet* (Devidayal), *Metalasun* (Sundat) y *Agrilaxil* (Sapac Agro).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 633 mg/kg; su NOEL para ratas es de 2,5 mg/kg y para perros de 8 mg/kg de peso corporal diario. Su perfil toxicológico dio lugar a una IDA y una DRfA de 0,08 mg/kg de peso corporal por día y 0,5 mg/kg de peso corporal, respectivamente. No presenta actividad oncogénica, mutagénica ni teratogénica.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En mamíferos, después de su administración oral, se absorbe rápidamente y es eliminado casi completamente en la orina y las heces. Los residuos en los tejidos fueron en general bajos y no hubo evidencia de acumulación o retención. Es fotolíticamente estable en agua y en las superficies del suelo.

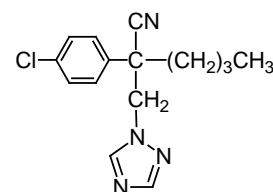
3.1.1.2.12. Miclobutanil.

Fungicida sistémico con acción protectora y curativa. Inhibe la biosíntesis de ergosterol (inhibidor de desmetilación de esteroides). Es translocado hacia arriba en la planta.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Miclobutanil.

Nombre químico según IUPAC: (RS)-2-(4-clorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)hexanonitrilo.



Propiedades físico-químicas.

Sólido amarillo pálido. Presenta un punto de fusión de 63-68 °C, una presión de

vapor de 0,213 mPa (25 °C) y una solubilidad en agua de 142 mg/l (25 °C) (insoluble en hidrocarburos alifáticos). Es estable en condiciones normales de almacenamiento. Cuando se encuentra en disolución se descompone con la exposición a la luz. No sufre hidrólisis en 28 días (28 °C y pH 5, 7, y 9).

Aplicaciones.

Se usa en tratamiento de semillas para el control de *Ascomycetes*, *Fungi Imperfecti* y *Basidiomycetes*. Su principal uso es contra oídio y sarna.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), EW (Emulsión de aceite en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Eagle, *Nova*, *Rally* y *Systhane forte* (Dow AgroSciences).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 1870-2090 mg/kg y un NOEL para perros (90 días) de 3,1 mg/kg de peso corporal diario. El valor de IDA se fijó en 0,03 mg/kg de peso corporal por día y la DRfA en 0,3 mg/kg de peso corporal diario. No es teratogénico en ratas y ratones; en varios test mutagénicos ha dado negativo. No presenta potencial mutagénico para el test de Ames.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En los animales, tras la administración oral, se excreta rápidamente en las heces y la orina. En las plantas, el metabolismo es el mismo que en los animales. En el suelo, DT₅₀ 66 días (franco limoso). La descomposición se realiza a través de compuestos de triazol altamente polares. No se produce la degradación en condiciones anaeróbicas. Es estable a la hidrólisis, pero se descompone en soluciones acuosas tras la exposición a la luz. Presenta baja movilidad en el suelo.

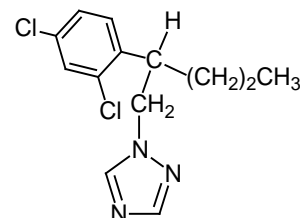
3.1.1.2.13. Penconazol.

Fungicida sistémico con acción protectora y curativa. Es absorbido por las hojas y translocado acropetalmente. Inhibe la desmetilación de esteroides e impide la biosíntesis de ergosterol en la membrana celular, deteniendo el desarrollo de los hongos.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Penconazol.

Nombre químico según IUPAC: 1-[2-(2,4-diclorofenil)pentil]-1*H*-1,2,4-triazol.



Propiedades físico-químicas.

Se presenta en forma de polvo blanco fino. Su punto de fusión oscila entre 60,3-61,0 °C, su presión de vapor es de 0,37 mPa (25 °C) y tiene una densidad de 1,30 g/cm³ (20 °C). Su solubilidad en agua es 73 mg/l (25 °C) y en etanol y acetona diez veces más. Es estable a la hidrólisis (pH 1-13), y a temperaturas de hasta 350 °C.

Aplicaciones.

Cabe destacar el control de oídio, *Venturia* (costra de la manzana) y otros patógenos como *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* y *Deuteromycetes*.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), EW (Emulsión de aceite en agua) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Topas (Syngenta) y *Dallas* (Rocca).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 2125 mg/kg y un NOEL para ratas (2 años) de 3,8 mg/kg y para perros (1 año) de 3,3 mg/kg de peso corporal diario. Se ha establecido una IDA de 0,03 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,5 mg/kg de peso corporal. No presenta potencial mutagénico, teratogénico ni oncogénico.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Después de su administración oral, se elimina rápidamente y prácticamente en su totalidad en la orina y las heces. Los residuos en los tejidos no son significativos y no hay evidencia de acumulación. Su persistencia en suelos depende del tipo de éste.

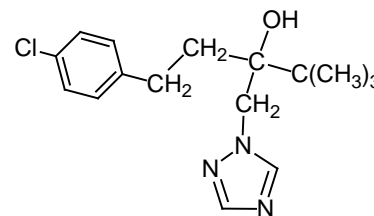
3.1.1.2.14. Tebuconazol.

Fungicida sistémico con acción protectora, curativa y erradicante. Inhibe la biosíntesis de ergosterol. Se absorbe rápidamente en las partes vegetativas de la planta, con translocación principalmente por vía acropetal (xilema).

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Tebuconazol.

Nombre químico según IUPAC: (RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)pentan-3-ol.



Propiedades físico-químicas.

Se presenta en forma de cristales incoloros a polvo marrón claro. Su punto de fusión es de 105 °C, su presión de vapor de $1,7 \times 10^{-3}$ mPa (20 °C) y su densidad de 1,25 g/cm³ (26 °C). Su solubilidad en agua es 36 mg/l (pH 5-9, 20 °C) y en diclorometano es casi diez veces más. Es estable a temperaturas elevadas, a la fotólisis y la hidrólisis en agua pura, bajo condiciones estériles.

Aplicaciones.

Tebuconazol es eficaz contra varias enfermedades como: *Tilletia* spp., *Ustilago* spp. y *Urocystis* spp, también contra *Septoria nodorum* y *Reiliana sphacelotheca*. Además, controla numerosos patógenos entre ellos: especies de roya (*Puccinia* spp), el oídio (*Erysiphe graminis*), escaldadura (*Rhynchosporium secalis*), entre otros.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: DS (Polvo para tratamiento seco de semillas), EC (Emulsión concentrada), ES (Emulsión tratamiento de semillas), EW (Emulsión aceite en agua), FS (Suspensión concentrada para tratamiento de semillas), GF (Gel para tratamiento de semillas), SC (Suspensión concentrada), SE (Suspo-Emulsión), WG (Gránulos dispersables en agua), WP (Polvo humectable) y WS (Polvo dispersable).

Marcas comerciales.

Busker (Barclay), *Folicur* (Bayer CropScience) y *Orius* (Makhteshim-Agan).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas de 1700-4000 mg/kg y un NOEL para ratas (2 años) de 300 mg/kg y para perros de 100 mg/kg de peso corporal diario. Se ha establecido una IDA de 0,03 mg/kg de peso corporal por día y una DRfA de 0,03 mg/kg de peso corporal. No causa toxicidad específica en órganos diana durante los estudios experimentales con animales. Además no es mutagénico ni genotóxico en estudios realizados con bacterias en modelos *in vitro* e *in vivo*.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

Se produce la eliminación casi completamente (> 99%) a los tres días, siendo excretado en la orina y las heces. En plantas, tebuconazol es el principal residuo terminal y los metabolitos detectados no tienen relevancia toxicológica. La degradación en el suelo en condiciones de campo se produce rápidamente, y no se acumuló en los estudios a largo plazo (3-5 años). Los estudios de adsorción/desorción indicaron una

baja movilidad en el suelo, por lo que debe excluirse la contaminación de aguas subterráneas por lixiviación.

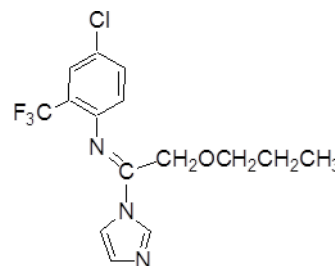
3.1.1.2.15. Triflumizol.

El ingrediente activo triflumizol es un imidazol que posee tres modos de acción: sistémico, protector y curativo. Inhibe la síntesis de ergosterol.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Triflumizol.

Nombre químico según IUPAC: (E)-4-cloro- α,α,α -trifluoro-N-(1-imidazol-1-yl-2-propoxyethylidene)-o-toluidine.



Propiedades físico-químicas.

Se presenta en cristales incoloros. Su punto de fusión es de 63,5 °C, su solubilidad en agua 12,5 g/l (20 °C). Es inestable en medios alcalinos y ácidos fuertes. Las disoluciones sufren degradación por la luz solar.

Aplicaciones.

Fungicida sistémico con acción protectora y curativa. Es eficaz en el control de oídios y *Pyricularia* y se le reconoce un buen efecto secundario sobre royas. Se utiliza en el control de *Gymnosporangium* y *Venturia* spp., contra *Erysiphaceae*, *Fusarium*, *Fulvia* y *Monilinia* spp. También se utiliza como un tratamiento de semillas contra *Bipolaris oryzae*, *Tilletia* y *Ustilago* spp.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), FU (Generador de humo) y WP (Polvo humectable).

Marcas comerciales.

Trifmine (Nippon Soda) y *Procure* (Crompton).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una DL_{50} oral y aguda para las ratas de 695-715 mg/kg y un NOEL de 3,7 mg/kg de peso corporal día en ratas (2 años). La IDA es de 0,05 mg/kg de peso corporal/día, y la DRfA de 0,1 mg/kg de peso corporal. No posee toxicidad genotóxica y potencial reproductivo, ni es carcinógeno; aunque se observaron algunas indicaciones de neurotoxicidad. En cuanto a su toxicidad crónica y a largo plazo, no se han detectado estos síntomas. Tampoco se observa disrupción endocrina, aunque si se han detectado otros efectos crónicos como anemia, hidronefrosis y hepatotoxicidad.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

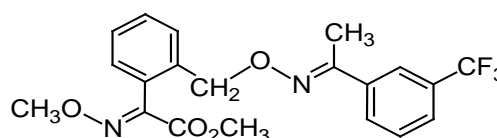
No presenta persistencia en el suelo, siendo más persistente en el lodo; no es volátil y su bioacumulación es alta. Su metabolito (4-cloro-2-(trifluorometil) anilina) no es persistente en el suelo; se degrada lentamente en la interfaz agua-sedimento y tiene bajo potencial de lixiviación.

3.1.1.2.16. Trifloxistrobin.

Fungicida mesostémico de amplio espectro con actividad curativa y preventiva específica, muestra solidez frente a la lluvia. Inhibe la respiración mitocondrial mediante el bloqueo de la transferencia de electrones en el citocromo. Redistribuido por el movimiento de vapor superficial y con actividad translaminar.

Nomenclatura y estructura.

Nombre común: Trifloxistrobin.



Nombre químico según IUPAC: Metil (E)-metoximino-[(E)- α -[1-(α,α,α -trifluoro-m-tolil)etildenaminoxil]-o-tolil]acetato.

Propiedades físico-químicas.

Se trata de un sólido blanco inodoro. Presenta un punto de fusión de 72,9 °C, una presión de vapor de $3,4 \times 10^{-3}$ mPa (25 °C) y una densidad de 1,36 g/cm³ (21 °C). Su solubilidad en agua es 610 g/l (25 °C) y es estable a pH 5.

Aplicaciones.

Trifloxistrobin es activo contra todo tipo de hongos: *Ascomycetes*, *Deuteromycetes*, *Basidiomycetes* y *oomicetos*.

Formulaciones.

Los tipos más comunes son: EC (Emulsión concentrada), SC (Suspensión concentrada) y WG (Gránulos dispersables en agua).

Marcas comerciales.

Flint y *Tega* (Bayer CropScience).

Aspectos toxicológicos.

Presenta una dosis oral y aguda para ratas >5000 mg/kg. El NOEL para ratas (2 años) es de 9,8 mg/kg de peso corporal diario. Tiene una IDA de 0,1 mg/kg de peso corporal por día y no se consideró necesario establecer una DRfA. No presenta potencial mutagénico, teratogénico ni carcinogénico. No se han observado efectos adversos en la capacidad de reproducción.

Aspectos metabólicos y medioambientales.

En las ratas, es absorbido desde el tracto gastrointestinal, se metaboliza rápidamente y es completamente eliminado. Sus residuos son considerados altamente preocupantes cuando se encuentran en alimentos y piensos de origen vegetal. Se disipa rápidamente en el suelo y la superficie del agua y no presenta potencial de lixiviación.

3.1.2. MATERIAL VEGETAL.

Los diferentes estudios que se presentan en esta memoria se han realizado en frutas y hortalizas (naranja, melocotón, albaricoque, tomate, pepino y lechuga) recolectados en fresco y en sus productos de transformación industrial (zumos, conservas, cuarta gama y congelados) y en uva de vinificación y vino.

Los tratamientos fitosanitarios correspondientes en los ensayos de campo, se realizaron teniendo en cuenta las características de cada plaguicida empleado (MAGRAMA, 2014; EU PESTICIDES DATABASE, 2016).

En todos los cultivos, se realizaron los ensayos bajo criterios de BPA (CARM, 2003; FAO, 2003); manteniéndose dosis y plazos de seguridad autorizados de cada uno de los plaguicidas utilizados. En el momento de la aplicación, se controlaron las condiciones climatológicas relevantes, realizándose el muestreo transcurrido su plazo de seguridad (FAO, 1997). En dicha toma de muestra, se recogió la cantidad adicional de frutos que sería sometida al procesado alimentario.

Una vez finalizada la recolección para el ensayo bajo BPA, se realizaron los ensayos bajo criterios de CPA, para ello se aplicaron de nuevo las mismas dosis de los plaguicidas seleccionados a cada cultivo, pero sin respetar el plazo de seguridad de cada uno de ellos; recogiendo las muestras 2 horas después del tratamiento, una vez secado el depósito de la aplicación. Análogamente al caso anterior, se tomó la cantidad adicional de frutos, destinada al procesado alimentario.

En todos los casos, se siguieron las recomendaciones de FAO y del Gobierno australiano en cuanto a cantidad de muestra según el producto vegetal y a sus características (Australian Government, 2015; FAO, 1986). Las muestras se tomaron al azar de todas las parcelas, y para evitar derivas y superposición de tratamientos, se evitaron los puntos del inicio y final de la aplicación. Para ello, se tomaron las medidas de protección adecuadas procurando siempre la mínima manipulación. Una vez recogidas, fueron envasadas e identificadas en bolsas opacas de polietileno. Durante el transporte al laboratorio, las bolsas se mantuvieron a temperatura ambiente, en posición estable, protegiéndolas de golpes y se evitó su exposición directa a la luz.

3.1.2.1. ALBARICOQUE

Se ha utilizado albaricoque búlida (*Prunus armeniaca*, del género y subgénero *Prunus*) (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.1.).



Figura 3.1. Variedad de albaricoque utilizada.

El cultivo es propio de climas templados y resistente a la sequía (Rieger, 2008). Sus plagas más comunes son: pulgón verde, pulgón ceroso, barrenillos, cochinilla o piojo de San José, mosca de la fruta; y enfermedades como: oídio, cribado, monilia, roya, gomosis y chancro de frutales de hueso (Carrero & Planes, 1995).

Los frutos contienen en la porción comestible, un 85,3% de agua, 8,5% de hidratos de carbono, 0,1% de lípidos y 0,9% de proteínas (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.1.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Se seleccionó una finca representativa de este cultivo en la Región de Murcia, y en ella una superficie formada por seis parcelas de tres árboles por cada una de ellas. También se marcó una parcela testigo, situada lo suficientemente cerca de las tratadas para garantizar idéntico cultivo y condiciones climáticas, pero suficientemente separada para excluir cualquier riesgo de contaminación cruzada. En la Tabla 3.1., se encuentran las características de la parcela objeto de estudio.

En la Tabla 3.2., se especifican los tratamientos realizados, dosis, plazos de seguridad y LMR de los plaguicidas utilizados.

Tabla 3.1. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de albaricoqueros	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Goteo
Textura del suelo	Arcilloso
Cultivo anterior	Almendro
Antigüedad	9 años
Localización	El Niño de Mula. Mula (Murcia).
GPS (°N; °W)	38,057925°/ 1,537529°
Plantas/ha	178
Marco (m)	8 x 7
Tamaño parcela	3 árboles (168 m ²)

Tabla 3.2. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis (%)	LMR (mg/kg)	PS (días)
Tiacloprid	Calypso 48 SC	0,02	0,5	14
Bupimirato	Nimrod	0,05	0,3	15
Spinosad	Spintor 480 SC	0,02	0,6	7
Flusilazol	Olymp	0,05	0,01*	14
Triflumizol	Trifmine 30 WP EX	0,06	0,1*	14
Piridaben	Podio	0,1	0,5	15

*LO

En ambos tratamientos fitosanitarios (BPA y CPA), se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de albaricoques, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todos los árboles de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 10 kg.

3.1.2.2. MELOCOTÓN.

Se ha elegido melocotón Catherine (*Prunus pérsica*, género y subgénero *Prunus*), de pulpa dura o semidura adherida al hueso (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.2.).

Es un cultivo de zona templada y soleada que se desarrolla preferiblemente en suelos frescos, profundos, arenosos y de pH moderado (Rieger, 2008). Sus principales plagas son: anarsia, polilla oriental, mosca de la fruta, pulgón negro, pulgón harinoso, pulgón verde, pulgón cigarrero, piojo de San José, araña roja, abolladura, cribado, oídio, fusicocum, moniliosis, roya, nemátodos y tumor o agallas del cuello y de las raíces (Carrero & Planes, 1995).



Figura 3.2. Variedad de melocotón utilizada.

Contiene un 87,5% de agua, 8,9% en hidratos de carbono, 0,1% de lípidos y 0,8% de proteínas. Contiene un amplio abanico de vitaminas hidrosolubles, sobre todo carotenos y vitamina C. Destaca su riqueza en potasio y en fibra (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.2.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Se escogió una finca representativa de este cultivo en la Región de Murcia. Se seleccionó una superficie de 500 m², en la que se marcaron seis parcelas de 84 m², dejando una parcela testigo, situada, análogamente a lo realizado en el caso del albaricoque. En la Tabla 3.3., se encuentran las características de las parcelas objeto de estudio.

Tabla 3.3. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de melocotoneros	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Goteo
Textura del suelo	Franco
Cultivo anterior	Melocotón
Antigüedad	5 años
Localización	El Chaparral. Cehegín (Murcia)
GPS (°N; °W)	38,092815°/ 1,696594°
Plantas/ha	476
Marco (m)	6 x 3,5
Tamaño parcela	4 árboles (84 m ²)

En la Tabla 3.4., se especifican los tratamientos realizados, dosis, plazos de seguridad y LMR de los plaguicidas utilizados.

Tabla 3.4. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis	LMR (mg/kg)	PS (días)
Flonicamida	Teppeki	13 g/Hl	0,4	14
Imidacloprid	Confidor	62,5 ml/Hl	0,5	14
Ciproconazol	Atemi	15 g/Hl	0,1	14
Fludioxonil	Switch	90 g/Hl	10	7
Ciprodinil			2	
Bupimirato	Nimrod	45 ml/Hl	0,3	7
Cialotrina	Karate Zeon	15 ml/Hl	0,2	7

En ambos tratamientos fitosanitarios (BPA y CPA), se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de melocotones, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todos los árboles de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 10 kg.

3.1.2.3. CALABACÍN

Se escogió la variedad de calabacín Elite (género *Cucurbita* y especie *Cucurbita pepo*) (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.3.).

Es un cultivo exigente en agua y materia orgánica, y la insolación repercute directamente en un aumento de la cosecha (Rieger, 2008). Las plagas más comunes



Figura 3.3. Variedad de calabacín utilizada en este estudio.

son araña roja, mosca blanca, pulgón, trips, minadores de hoja, orugas, nematodos, "ceniza" u oídio de las cucurbitáceas, podredumbre gris, podredumbre blanca, podredumbre blanda, virus de mosaico amarillo del calabacín, virus del mosaico del pepino, virus del mosaico de la sandía y virus de las venas amarillas del pepino (Carrero & Planes, 1995).

Contiene un 92,2% de agua, 2,1% de hidratos de carbono, 0,4% de lípidos y 1,6% de proteínas, respecto de 100 g de porción comestible. Es rico en minerales,

sobre todo calcio, y en vitaminas A, B y C. (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.3.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Al igual que en los estudios anteriores, la superficie seleccionada se consideró representativa y adecuada para este cultivo; en ella se marcaron seis parcelas para los tratamientos y una testigo. En la Tabla 3.5., se observan las características de la misma y su ubicación. Se evitó el riesgo de contaminación cruzada además de controlar las condiciones climáticas durante el cultivo.

Tabla 3.5. *Características y ubicación de la parcela experimental.*

Características de la parcela experimental de calabacín	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Tradicional
Textura del suelo	Franco arcilloso
Cultivo anterior	Lechuga
Antigüedad	1 año
Localización	Vereda los Castellones. El Siscar (Murcia)
GPS (°N; °W)	38,060004°/ -1,029352°
Plantas/ha	14285
Marco (m)	1 x 0,7
Tamaño parcela	63 m ² (90 plantas)

En la Tabla 3.6., se detallan las características de registro de los plaguicidas utilizados: formulación, dosis, límite máximo de residuos y plazo de seguridad.

Tabla 3.6. *Características de los productos comerciales aplicados.*

Plaguicida	Formulación	Dosis	LMR (mg/kg)	PS (días)
Imidacloprid	Confidor	63 cc/Hl	1,0	3
Dietofencarb	Sumifol D (Kenogard)	125 g/Hl	0,01*	15
Piriproxifén	Atominal	63 cc/Hl	0,05*	3
Miclobutanil	Shysthane forte	30 cc/Hl	0,2	1
Trifloxistrobin	Flint	25 g/Hl	0,3	3
Deltametrina	Decis	40 cc/Hl	0,2	3

*LQ

En ambos tratamientos fitosanitarios (BPA y CPA) se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de calabacines, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todas las plantas de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 10 kg.

3.1.2.4. LECHUGA

Se seleccionó la variedad de lechuga Gobi, del grupo morfológico iceberg (género *Lactuca*, especie *Lactuca sativa* y variedad *longifolia*) (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.4).



Figura 3.4. Variedad de lechuga utilizada en este estudio.

Debido a que el sistema radicular de la lechuga es muy reducido, es muy sensible a la falta de humedad y soporta mal la sequía; necesitando una humedad relativa del 60-80% (Rieger, 2008). Las principales plagas que la atacan son: trips, minadores, mosca blanca, pulgones, antracnosis, botritis, mildiu veloso, esclerotinia, septoriosis, virus del mosaico de la lechuga y virus del bronceado del tomate (Carrero & Planes, 1995).

Contiene un 95% de agua, 1,1% de hidratos de carbono, 0,2% de lípidos y 1,3% de proteínas. Entre sus vitaminas destacan la A, B1, B2, B3, B9, C, E y K. Destaca su aporte de potasio. Contiene flavonoides, fundamentalmente quercetina y pequeñas cantidades de otros antioxidantes (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.4.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Como en los casos anteriores se seleccionó una finca de cultivo de lechugas característica de la Región, situada en la zona geográfica de El Siscar. En ella, se seleccionaron seis parcelas experimentales para los tratamientos y una testigo. En la Tabla 3.7., se detallan las características y ubicación de la parcela experimental.

Tabla 3.7. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de lechugas	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Tradicional
Textura del suelo	Franco arcilloso
Cultivo anterior	Lechuga
Antigüedad	1 año
Localización	Camino Los Luginas, El Siscar(Murcia)
GPS (°N; °W)	38,060004°/ -1,029352°
Plantas/ha	71428
Marco (m)	0,7 x 0,4 (doble)
Tamaño parcela	100 m ² (714 plantas)

En los ensayos de campo se aplicaron los plaguicidas que se exponen en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis (cc/HL)	LMR (mg/kg)	PS (días)
Imidacloprid	Confidor	63	2	7
Tebufenocida	Mimic 2F (Dow Agro)	68	10	14
Metalaxil	Agrilaxil (Sapex Agro)	200	3	21
Tebuconazol	Folicur (Bayer)	70	0,5	7
Cipermetrina	Cekumetrin 10 EC	75	2	7
Azoxistrobin	Ortiva	90	15	7

En ambos tratamientos, se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de lechugas, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todas las parcelas de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 10 kg.

3.1.2.5. TOMATE

Se escogió la variedad Rio Grande (familia *Solanaceae*, género *Solanum*, especie *Solanum lycopersicum*), tipo de tomate rastrero de fruto alargado cilíndrico, destinado principalmente para hacer conserva aunque puede usarse también para comer en fresco (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.5.).

Cultivo de desarrollo en temperaturas cálidas, no muy exigente respecto al suelo en el que se cultiva, excepto en lo que se refiere al drenaje. Los mejores suelos son los de textura silíceo-arcillosa y ricos en materia orgánica (Rieger, 2008). Las principales plagas que la atacan son: ácaros (araña roja y araña blanca), insectos

(moscas blancas, pulgones, trips, lepidópteros, etc.), hongos y podredumbres entre otros (Carrero & Planes, 1995).



Figura 3.5. Variedad de tomate utilizada en este estudio.

Contiene un 95% de agua, 0,3% de grasa, 1% de proteínas; el resto es celulosa y algunos micronutrientes como calcio, hierro, fósforo y vitaminas A, C, B y K. Tiene propiedades antioxidantes (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.5.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Se escogió un cultivo realizado para la experiencia, situado en una zona representativa de cultivos de este tipo, cerca de El Siscar en Murcia. En él, se seleccionaron cinco parcelas experimentales para los tratamientos y una testigo, cuyas características se muestran en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de las tomateras	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Tradicional
Textura del suelo	Franco
Cultivo anterior	Coliflor
Antigüedad	1 año
Localización	Camino Los Luginas, sn. El Siscar (Murcia)
GPS (°N; °W)	38,06079°/ 1,020727°
Plantas/ha	28571
Marco (m)	1,75 x 0,4
Tamaño parcela	100 m ² (280 plantas)

En la Tabla 3.10., se especifican los tratamientos realizados, dosis, plazos de seguridad y LMR de los plaguicidas utilizados.

Tabla 3.10. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis	LMR (mg/kg)	PS (días)
Pimetrocina	Plenum 50%	40 g/Hl	0,5	3
Kresoxim-metil	Stroby 50%	25 g/Hl	0,6	3
Difenoconazol	Score 25%	650 ml/Hl	2	7
Indoxacarb	Steward 20%	85-125 g/Ha	0,5	1
Piriproxifén	Atominal 10%	62,5ml/Hl	1	3

En ambos tratamientos, se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de tomates, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todas las plantas de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 10 kg.

3.1.2.6. NARANJA

La experiencia se realizó con la variedad Navelina, incluida en el grupo Navel (género *Citrus* y especie *Citrus sinensis*) (Moore, Clark, & Vodopich, 1998) (Figura 3.6). Esta variedad presenta escasa resistencia al frío, no tolera las heladas, necesita temperaturas cálidas durante el verano para la correcta maduración de los frutos. Necesitan un medio ambiente húmedo tanto en el suelo como en la atmósfera. Necesitan suelos permeables y poco calizos y un medio ambiente húmedo tanto en el suelo como en la atmósfera. No toleran la salinidad y son sensibles a la asfixia radicular (Rieger, 2008).

Sus principales plagas son: minador de los cítricos, mosca blanca, mosca de la fruta, pulgones, cóccidos o cochinillas, nematodo de los cítricos, gomosis, podredumbre de la base del tronco y cuello de la raíz, podredumbre de raíces absorbentes, *Alternaria alternata* pv. *citri* y virus de la tristeza de los cítricos (Carrero & Planes, 1995).

**Figura 3.6.** Variedad de naranja utilizada en este estudio.

Contiene un 85,7%, 8% de hidratos de carbono, 0,2% de lípidos y 1% de proteínas. Destaca su aporte de vitamina C aunque también de vitaminas A, B y E; y minerales como potasio, hierro y cinc. Aporta luteína y zeaxantina, ácidos orgánicos como málico y cítrico, ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.6.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Se escogió un cultivo de esta fruta típico de esta región geográfica, situado en los límites con Orihuela (Alicante). En él se seleccionaron cinco parcelas experimentales para tratamiento y una testigo, cuyas características se exponen en la Tabla 3.11.

En la Tabla 3.12., se exponen los tratamientos realizados, dosis, plazos de seguridad y LMR de los plaguicidas utilizados en naranja.

Tabla 3.11. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de naranjos	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Tradicional
Textura del suelo	Franco arcilloso
Cultivo anterior	Naranja
Antigüedad	8 años
Localización	Vereda los Serranos s/n Molins (Orihuela, Alicante)
GPS (°N; °W)	38,078730°/ -0,909672°
Plantas/ha	816
Marco (m)	3,5 x 3,5
Tamaño parcela	61,25 m ² (5 árboles)

Tabla 3.12. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis (cc/HA)	LMR (mg/kg)	PS (días)
Metalaxil	Agrilaxil	153,21 ml/HA	0,5	21
Clorpirifos	Dursban	200 ml/HA	0,3	21
Hexitiazox	Zeldox	15 g/HA	1	14
Cialotrina	Karate	125 ml/HA	0,2	7
Abamectina	Marisol	91,91 ml/HA	0,015*	10

*LO

En ambos tratamientos, se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de naranjas, resultado de al menos 12 unidades procedentes de todos los

árboles de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 15 kg.

3.1.2.7. UVA DE VINIFICACIÓN.

Se ha escogido la variedad de uva Monastrell (género *Vitis*, especie *Vitis vinifera*) (Moore, Clark, & Vodopich, 1998). En la Figura 3.7., se expone una fotografía de la variedad utilizada.

Esta variedad, característica de toda la zona levantina, predomina en las denominaciones de origen Jumilla, Yecla, Alicante y Almansa. Sus cepas son de porte erguido, sarmientos gruesos, cortos y poco ramificados y sus racimos son pequeños-medianos y bastante compactos (Rieger, 2008). Es una variedad de gran rusticidad y elevada resistencia a la sequía y necesita mucha insolación. Las principales plagas son: peronospora o mildiu, oidio, botrytis cinerea, araña roja, araña gallo, tortrix, filoxera, cigarrero y cigarra, polilla del racimo y podredumbre ácida (Carrero & Planes, 1995).



Figura 3.7. Variedad de uva utilizada en este estudio.

Contiene un 81,1% de agua, 15,6 % en hidratos de carbono, 0,3% de lípidos y 0,7% de proteínas. Destacan los azúcares (glucosa y fructosa) y las vitaminas (ácido fólico y B6). Se debe resaltar su contenido en antocianos, flavonoides y taninos ya que son sustancias de reconocidas propiedades dietoterapéuticas (prevención cardiovascular, envejecimiento, procesos cancerígenos, etc.) (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2011; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999).

3.1.2.7.1. Parcelas experimentales, tratamientos y toma de muestra.

Se seleccionó una plantación de uva Monastrell típica de la D.O. Jumilla y en ella seis parcelas experimentales para los tratamientos y una testigo. Las principales características de las parcelas se exponen en la Tabla 3.13. y en la Tabla 3.14., se especifican los tratamientos realizados, dosis, plazos de seguridad y LMR en uva de los plaguicidas utilizados.

Tabla 3.13. Características y ubicación de la parcela experimental.

Características de la parcela experimental de viñedos	
Forma de Cultivo	Aire libre
Sistema de riego	Goteo
Textura del suelo	Franco arcilloso
Cultivo anterior	Viña (espaldera)
Antigüedad	9 años
Localización	Paraje Aragona. Jumilla (Murcia)
GPS (°N; °W)	38,553603°/ 1,353245°
Plantas/ha	2976
Marco (m)	1,2 x 2,8
Tamaño parcela	100 m ² (30 cepas)

Tabla 3.14. Características de los productos comerciales aplicados.

Plaguicida	Formulación	Dosis (ml/HA)	LMR (mg/kg)	PS (días)
Boscalid	Collis	40	5	28
Kresoxim-metil		40	1	28
Penconazol	Topas 100 EC	35	0,2	21
Tebufenocida	Mimic	55	3	21
Trifloxistrobin	Flint	13,75 (g/HA)	3	28
Clorpirifos	Dursban	175	0,5	21
Cialotrina	Karate Zeon	15	0,2	7

En ambos tratamientos, se recogieron, como muestra cosecha, aproximadamente 2 kg de uvas, resultado de al menos 12 racimos procedentes de todas las viñas de la parcela de ensayo; en el caso de la muestra dedicada a la industrialización se tomaron 15 kg.

3.1.3. REACTIVOS Y DISOLVENTES.

Extracción, validación y análisis de residuos de fungicidas.

Se utilizaron estándares analíticos de todos y cada uno de los plaguicidas, de

pureza igual o superior al 98%, proporcionados por Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemania). Los disolventes empleados fueron: acetonitrilo de calidad cromatografía líquida en gradiente, de Scharlau (Barcelona, España); ácido fórmico 98% grado reactivo de Fluka (Buchs, Suiza); y agua milli-Q, procedente de un sistema Millipore de Purificación Pak (Billerica, USA). Formiato amónico, 95% de pureza, de Fluka (Buchs, Suiza); sulfato magnésico anhidro, 97% de pureza, de Fluka (Buchs, Suiza); cloruro sódico, 99,5% de pureza, de Fluka (Buchs, Suiza); citrato disódico sesquihidratado, 99% de pureza, de Aldrich (Milwaukee, USA) y citrato trisódico dihidratado, 99% de pureza, de Sigma (St. Louis, USA).

Ensayos de biodisponibilidad.

Se usó bicarbonato sódico, 99% de pureza, de Scharlau (Barcelona, España); pepsina porcina de mucosa gástrica, 1:3000 NF de Sigma Aldrich Chemie (St. Louis, USA); ácido clorhídrico al 37%, de Scharlau (Barcelona, España); sales biliares, de Sigma Aldrich Chemie (St. Louis, USA); pancreatina de páncreas de porcino, de Sigma Aldrich Chemie (St. Louis, USA); hidróxido sódico, 98% de pureza, de Scharlau (Barcelona, España).

3.1.4. APARATOS E INSTRUMENTACIÓN.

Aplicación de productos fitosanitarios.

La aplicación de productos fitosanitarios en cada parcela experimental, se realizó con mochila y lanza modelo Maruyama MS073D (Auburn, USA), provista de boquilla de 2 mm.

Metodología de extracción y ensayos de biodisponibilidad.

Durante todo el proceso de manipulación de las muestras, se utilizaron los siguientes aparatos: trituradora de alimentos, modelo Cyclo-trol, de Oster (Shelton, USA); centrifuga Heraeus Cristo (Osterode, Alemania); congelador CFZ30JC, de Zanussi (Luton, Reino Unido); cámara de refrigeración semi industrial con control de temperatura; baño con agitación y control de temperatura, de Julabo (Seelbach, Alemania); pH-metro Crison (Barcelona, España); micropipetas para volúmenes de 10-

1000 µl y 1-10 ml y puntas adecuadas, de Rainin (Oakland, USA); balanza analítica, capaz de medir hasta 0,1 mg, de Sartorius AG (Goettingen, Alemania); granatario capaz de medir hasta 3.000 g con precisión de 0,1 g, de Gram Precision (Barcelona, España); dispensadores de volumen de 1-10 ml y 2,5-25 ml, de Brand (Wertheim, Alemania).

También se utilizaron: viales ámbar de 2 ml, para autoinyector, 32 x 11,6 mm, con cápsula y septum, de Ziemer GmbH (Mannheim, Alemania); membrana de diálisis, con tamaño de poro de 12,000 Da, procedente de la casa Sigma (St. Louis, USA); y tubos de centrifuga de polipropileno, 114 × 28 mm, de 50 ml, con tapón a rosca y de un único uso, de Sarstedt (Nümbrecht, Alemania).

Control de residuos de plaguicidas.

Para el análisis de los residuos, se empleó: a) Cromatógrafo de líquidos (HPLC-MS) Infinity, modelo 1260, acoplado a un detector de masas de trampa de iones con analizador triple cuadrupolo (MS QQQ) modelo Triple Quad LC/MS 6410B, con scan dynamic MRM, todo de Agilent Technologies (Palo Alto, USA). b) Cromatógrafo de gases modelo 6890 Infinity (CG-MS), acoplado a un detector de masas (MS) de trampa de iones, trabajando en modo Impacto electrónico (EI) y software HPChemstation rev. A.10.02, todo de Agilent Technologies (Palo Alto, USA).

3.2. MÉTODOS.

En este apartado, se describe la aplicación de los fitosanitarios y toma de muestra, los diferentes métodos de elaboración de las conservas, el método de extracción y análisis empleados para los plaguicidas seleccionados, tanto en fresco como en conserva; así como la validación de la metodología analítica y el control de calidad realizado en el laboratorio. También, se detalla la metodología utilizada en los ensayos de biodisponibilidad *in vitro*, así como el cálculo de la ingestión diaria estimada para cada plaguicida y alimento agrícola.

3.2.1. ELABORACIÓN DE CONSERVAS, CONGELADOS, ZUMO Y VINO.

La elaboración de conservas preserva las frutas y hortalizas durante un largo

periodo de tiempo de la acción microbiana, garantizando el acceso a ellas más allá de su temporada de producción. Para higienizarla, se necesitan procesos de lavado y esterilización, que pueden influir en la eliminación de los residuos de plaguicidas (Chavarri, Herrera, & Ariño, 2004; Lennon, Reighard, Schermerhorn, Podhorniak, & Horton, 2006).

Para elaborar las conservas y congelados, el zumo y el vino, se siguió un orden creciente de dosis de aplicación, evitándose así riesgos de contaminación. El procesado de los alimentos y su manipulación tuvieron lugar tal y como se realiza en la industria alimentaria. Todos los procesos de transformación de los productos vegetales, menos la vinificación, se realizaron en la planta piloto del Centro Tecnológico de la Conserva de Murcia, siguiendo los mismos esquemas que se utilizan en la industria de conservas, zumos y bodegas de la Región. Los procesos de vinificación se realizaron en la Bodega San Isidro de Jumilla.

En las Figuras 3.8. a 3.14., se exponen los esquemas de procesado a los que se han sometido todos los materiales vegetales utilizados en nuestro trabajo, tanto los correspondientes a los tratamientos fitosanitarios bajo BPA como CPA; marcando las diferentes etapas en las que se toma muestra para su posterior análisis y estudio.

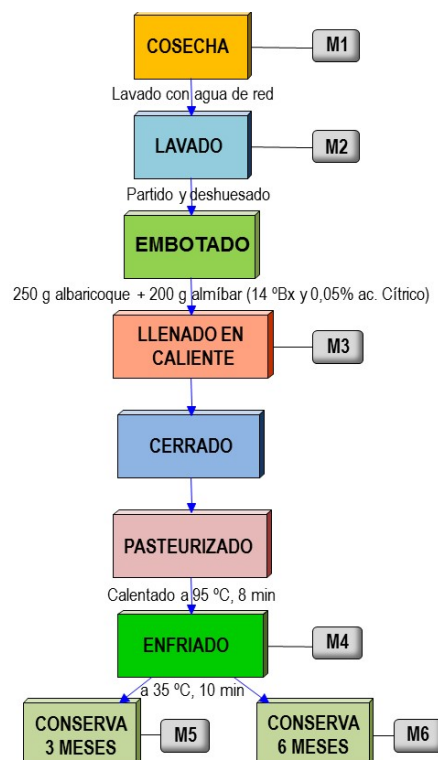


Figura 3.8. Elaboración de albaricoque en conserva.

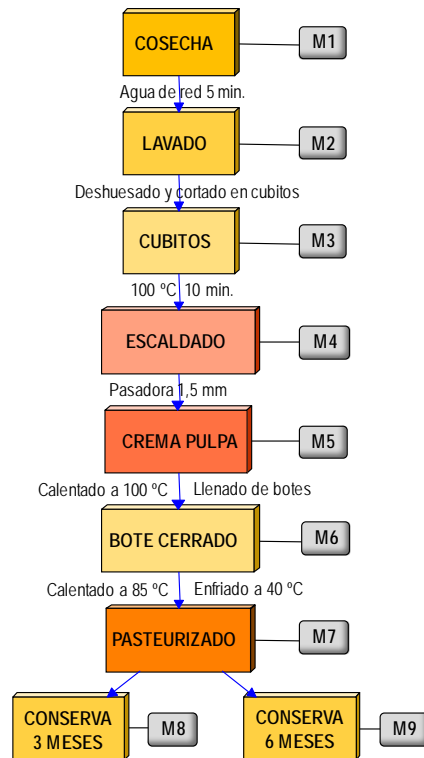


Figura 3.9. Elaboración de melocotón en conserva.

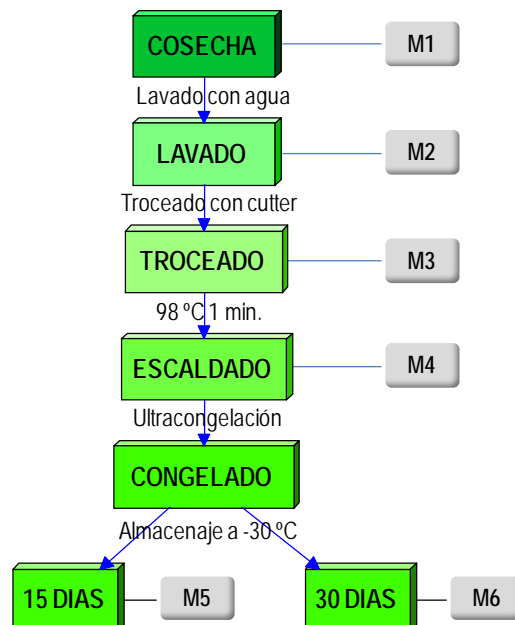


Figura 3.10. Elaboración de calabacín congelado.

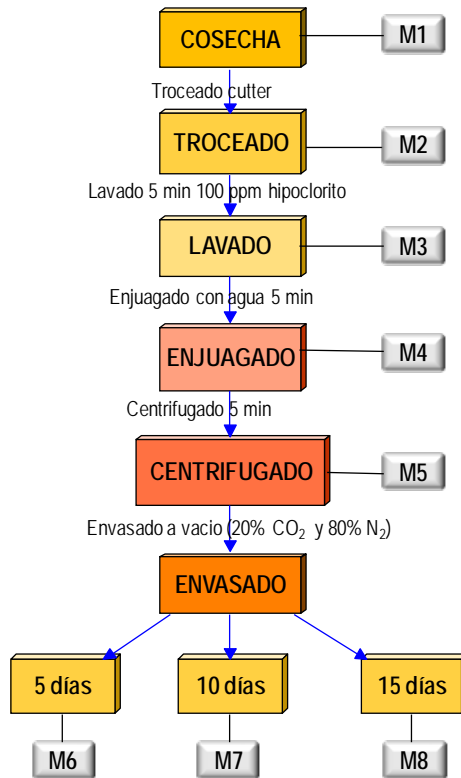


Figura 3.11. Elaboración de lechuga 4^a gama.

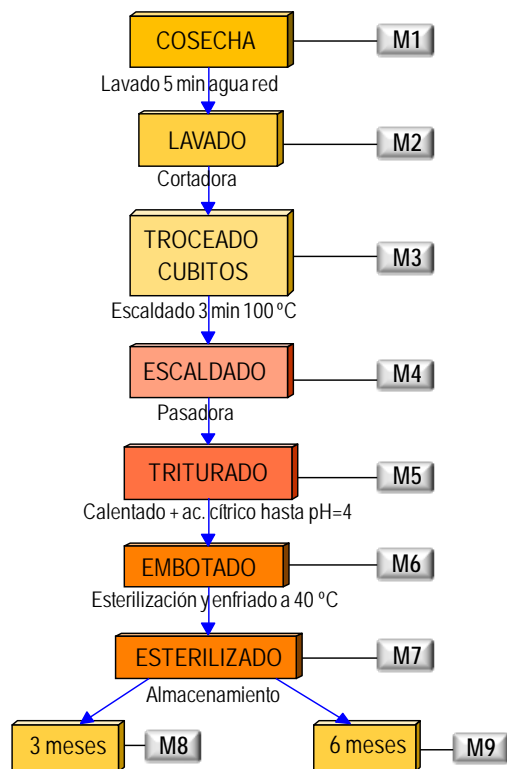


Figura 3.12. Elaboración de conserva de tomate.

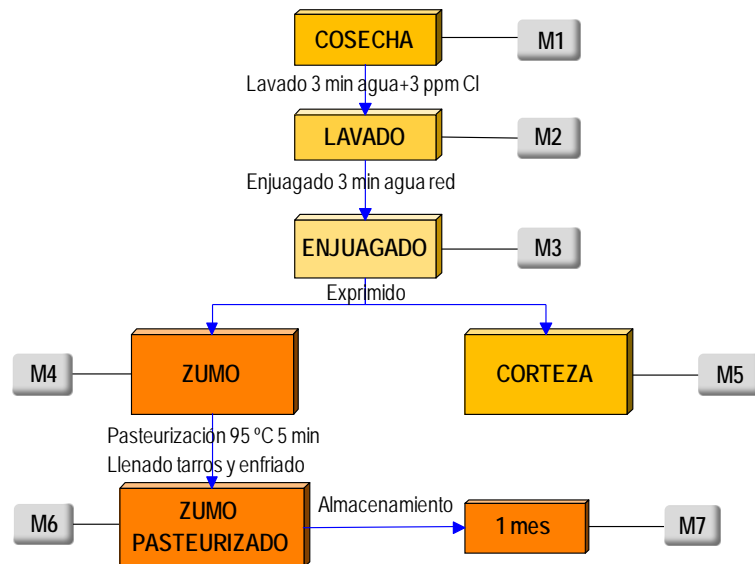


Figura 3.13. Elaboración de zumo de naranja.

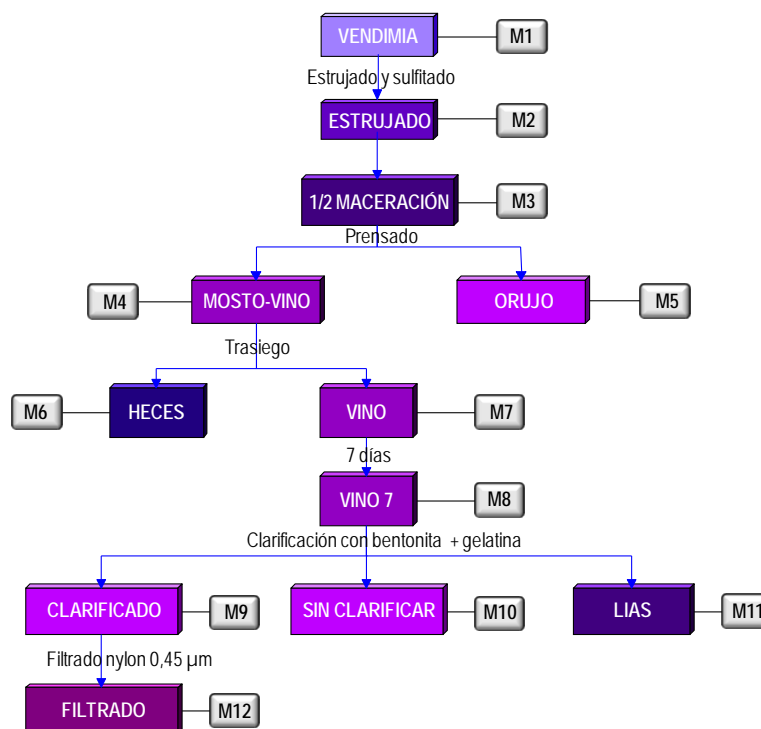


Figura 3.14. Elaboración de vino.

3.2.2. EXTRACCIÓN DE RESIDUOS. MÉTODO QuEChERS.

Como procedimiento de extracción se ha utilizado el método QuEChERS (Anastassiades, Lehotay, Stajnbaher, & Schenck, 2003; Anastassiades, Scherbaum, Taşdelen, & Stajnbaher, 2007), que tiene en cuenta la composición de los vegetales y

las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas a estudiar (Macbean, 2013; Souci, Fachmann, & Kraut, 1999; Tomlin & Council, 2009; USDA, 2013).

A continuación, se describe el procedimiento de extracción utilizado:

- 1) En las muestras de cosecha (2 kg), se eliminan huesos y pedúnculos en el caso de las frutas de hueso, las hojas externas no comercializables para las hortalizas, se cortaron las naranjas para elaborar el zumo y se separan las bayas del raspón en la uva; así como en las obtenidas en los diferentes procesos de industrialización, se trituraron con el fin de obtener una muestra analítica homogénea con tamaño reducido, garantizando así, una mayor eficacia en el procedimiento de extracción y asegurando la representatividad de las submuestras. Las porciones analíticas fueron extraídas inmediatamente después de la trituración u homogeneización, o bien se conservaron en congelador a -20 ± 2 °C, hasta su posterior extracción. Su descongelación, en caso necesario, se realizó a temperatura ambiente.
- 2) Las muestras así homogeneizadas, se extrajeron mediante el proceso que se muestra en la Figura 3.15.

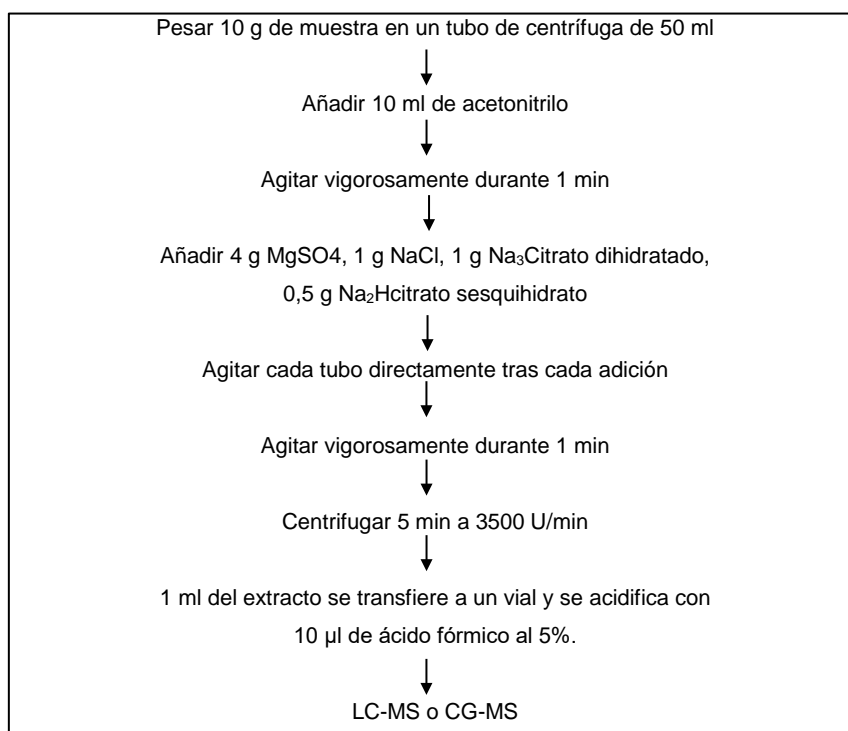


Figura 3.15. Esquema del método de extracción utilizado.

En tubos de centrifuga de 50 ml de polipropileno, se pesan 10 g de cada una de las frutas y se añaden 10 ml de acetonitrilo (ACN). El tubo se cierra y se agita a mano vigorosamente durante 1 minuto, en frío. Añadimos la mezcla de sales tampón para inducir la separación de fases y la partición. El tubo se cierra y se agita enérgicamente durante 1 min a mano. A continuación, se centrifuga a 3.500 rpm durante 5 min. El extracto obtenido acidificado, se puede analizar directamente.

3.2.3. ANÁLISIS DE RESIDUOS.

CL-MS/MS.

Se utilizó una columna Poroshell 120 EC-C18 3 mm x 100 mm x 2,7 μ m de Agilent Technologies, termostataada a 40 °C y con un flujo de 0,6 ml/min, siendo el volumen de inyección: 5 μ l muestra + 95 μ l de fase móvil. El tiempo de análisis se fijó en 12 minutos dejando 5 minutos de tiempo de estabilización. Las fases móviles empleadas fueron: A) ACN al 0,1% de ácido fórmico y B) H₂O al 0,1% de ácido fórmico y 2mM de formiato amónico, con el gradiente de flujos expuesto en la Tabla 3.15.

Tabla 3.15. *Gradientes de flujos utilizados en el análisis LC-MS/MS QQQ.*

Tiempo (min)	%A	%B
0	20	80
10	100	0
16	100	0
17	20	80

La detección por MS se realizó en Dynamic MRM (multiple reaction monitoring) y la fuente fue ESI (electrospray ionization) en modo positivo. El flujo de gas se fijó en 9 l/min. El voltaje de ionización fue 5500 V y el gas nebulizador fue aire sintético a 40 psi. La evaporación de disolventes en la fuente tuvo lugar con la asistencia de aire sintético a 350 °C, como gas de secado.

CG-MS.

Se usó una columna capilar HP-5MS de dimensiones (30 m x 250 μ m x 0,25

µm), trabajando en modo impacto electrónico (EI) y software HPChemstation rev. A.10.02, inyectando 2 µl en modo split-less (60 seg).

El programa de temperatura fue:

25°C/min 5°C/min 10°C/min 5°C/min
70°C → 230°C (0 min) → 260°C (0 min) → 280°C (6 min) → 290°C (3 min).

Estableciéndose un tiempo de análisis de 24,4 min. Las condiciones de trabajo fueron: Temperatura de inyector e interfase a 250 y 280 °C, respectivamente. Adquisición en modo SIM, voltaje de 1650 V. Temperatura de ionización 230 °C y del cuadrupolo 280 °C. El gas portador es helio con un flujo de 55 ml/min; el flujo de la columna es de 2 ml/min.

3.2.4. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

La validación se define como “el proceso de caracterización del rendimiento que se espera de un método, en términos de su alcance, especificidad, exactitud (sesgo), sensibilidad, repetibilidad y reproducibilidad. Parte de la información sobre todas las características, excepto la reproducibilidad, debe establecerse antes del análisis de las muestras, mientras que los datos sobre la reproducibilidad y extensiones de alcance pueden ser producidos a partir del control de calidad analítico, durante el análisis de las muestras. Siempre que sea posible, la evaluación de la exactitud (sesgo) debería incluir el análisis de materiales de referencia certificados, la participación en ensayos de aptitud, o de otras comparaciones interlaboratorios” (DG SANCO, 2015; ISO, 2005).

A continuación, se describen los aspectos caracterizados y los criterios de aceptación adoptados en la validación analítica del método utilizado.

3.2.4.1. IDENTIFICACIÓN, CONFIRMACIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

La identificación de las materias activas se realizó por comparación de los tiempos de retención (t_R) encontrados en las muestras, con los de un patrón externo, inyectados ambos en el sistema cromatográfico con las mismas condiciones analíticas. Si tienen un rango de $t_R \pm 2\%$ serán admitidas como identificaciones positivas.

La confirmación en espectrometría de masas se realizó seleccionando dos transiciones MRM y energías de colisión óptimas. Se confirma si, en el espectro de masas, la relación entre las transiciones de cuantificación e identificación cumplen los requisitos de la Guía Sanco (DG SANCO, 2015).

La cuantificación en CL-MS y CG-MS, se basó en la medida del área cromatográfica de cada pico, calculando su concentración mediante el uso de rectas de calibrado preparadas en matriz.

La selectividad y especificidad se estudiaron mediante el método de adiciones, añadiendo una cantidad conocida de materia activa, a extractos de las frutas seleccionadas y posteriormente comparando la respuesta de la muestra, con la respuesta de un patrón de la misma concentración, sin observar diferencias significativas entre ambas.

3.2.4.2. LINEALIDAD DE RESPUESTA DEL DETECTOR.

La linealidad de respuesta del detector se determinó por triplicado con cinco puntos de calibración dentro del rango de análisis propuesto y una sola inyección de cada uno, para cada materia activa. El ajuste lineal de los datos a una curva de regresión se evaluó para cada materia activa mediante el método de mínimos cuadrados, aceptando la linealidad de respuesta del detector entre las concentraciones inyectadas siempre que el coeficiente de correlación lineal (r^2) fuera superior a 0,98 y la desviación estándar inferior al 20% para los factores de respuesta. La recta de regresión no fue forzada a pasar por el origen. Las rectas de calibración de los compuestos analizados se construyeron por triplicado a cinco concentraciones (5, 10, 25, 50 y 100 $\mu\text{g/l}$) mediante el uso de acetonitrilo puro y la solución de extracto de matriz para evaluar los posibles efectos de la matriz.

3.2.4.3. LÍMITES DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN.

Para cada materia activa se calculó el límite de detección (LD) como la cantidad o concentración mínima de disolución patrón que fue detectada en las condiciones experimentales del instrumento analítico utilizado, teniendo en cuenta que la respuesta presentase una relación señal/ruido mayor de 3.

El límite de cuantificación (LQ) se calculó para cada uno de los analitos, determinando la menor concentración de materia activa presente en el extracto de cada matriz, cuya respuesta en el cromatograma puede cuantificarse con exactitud y precisión (relación señal/ruido > 10).

3.2.4.4. PRECISIÓN Y EXACTITUD.

Para el cálculo de la repetibilidad del método se procesaron de forma consecutiva seis muestras fortificadas a nivel de LQ y 10 veces este LQ de todos los plaguicidas. Los resultados obtenidos fueron sometidos a tratamiento estadístico y el criterio de aceptación fue que el valor del coeficiente de variación (CV) o desviación estándar relativa (RSD) obtenido fuese $\leq 20\%$.

Para el cálculo de la reproducibilidad, se procesaron seis muestras fortificadas a dos niveles (LQ y 10LQ) en seis días diferentes y se sometieron a tratamiento estadístico, con el fin de obtener el parámetro CV. Se aceptó la reproducibilidad válida cuando el CV fue $\leq 20\%$.

Para la evaluación de la exactitud o porcentaje de recuperación se extrajeron seis muestras fortificadas a los dos niveles citados, LQ y 10LQ, comparando sus resultados con patrones preparados a las mismas concentraciones y analizados todos en la misma secuencia. El criterio de aceptación fue que la recuperación media para cada conjunto de seis réplicas estuviese comprendida entre 70-120% con un CV $\leq 20\%$.

3.2.4.5. CONTROLES DE CALIDAD.

El control de calidad interno se llevó a cabo de manera rutinaria, incluyendo en cada secuencia de análisis tres puntos de calibración, blancos de disolvente y de muestra y fortificaciones a concentraciones de 10 y 50 ppb.

3.2.5. CÁLCULO DE LOS FACTORES DE PROCESADO.

Definimos el factor de procesado como el cociente entre la cantidad resultante

después del proceso al que se somete la muestra y la cantidad inicial presente en cada una de ellas. La fórmula a utilizar es:

$$C_{\text{procesado}}/C_{\text{inicial}}$$

Se expresa en relación a la unidad. Cuando el factor de procesado es 1 indica que se han transferido todos los residuos a la siguiente etapa. Factores menores de 1 expresan pérdida de residuos, siendo el valor 0 la pérdida total del residuo; mientras que factores mayores de 1, significan concentración de los residuos en la matriz.

Para el cálculo de los factores de procesado se han considerado las muestras en las que podía existir una pérdida o una concentración de los residuos de los plaguicidas estudiados, durante su procesado. Así, se han calculado los factores F_i , y F_{global} como:

$$F_i = C_i/C_{i-1} \quad \text{y} \quad F_{\text{global}} = C_{\text{final}}/C_1$$

Donde i es la fase del proceso de interés, C_{final} es la concentración final y C_1 la inicial.

3.2.6. ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO*.

El estudio de biodisponibilidad se realizó simulando la digestión gastrointestinal y el proceso de absorción intestinal, se realizó sobre: 40 ml de disolución patrón de los plaguicidas, preparados en acetonitrilo:agua 50:50 (V:V) y muestras de 40 g de cada tipo de vegetal en fresco y procesados, fortificadas en el rango de concentraciones comprendido entre 0,1-5 mg/kg. Las muestras fueron diluidas 1:1 para permitir una mezcla adecuada con las soluciones enzimáticas, ácidas y básicas del ensayo. En la Figura 3.16., se expone un esquema del procedimiento.

Inicialmente, el pH de la muestra se mide y se valora con HCl hasta pH 2. Entonces, se añaden 6 ml de la solución de pepsina (160 mg/l) y se realiza la digestión ácida durante 2 horas, a 37 °C, en un baño con agitación moderada constante,

imitando los peristaltismos y la temperatura corporal humana. Durante este tiempo, se verificó el mantenimiento del pH en 2. En segundo lugar, una alícuota de la muestra, a la que se añaden 5 ml de la solución de sales biliares y pancreatina (4 mg/l), se valora con NaOH hasta pH 7, mientras la otra alícuota permanece en un baño de hielo con la digestión ácida detenida.

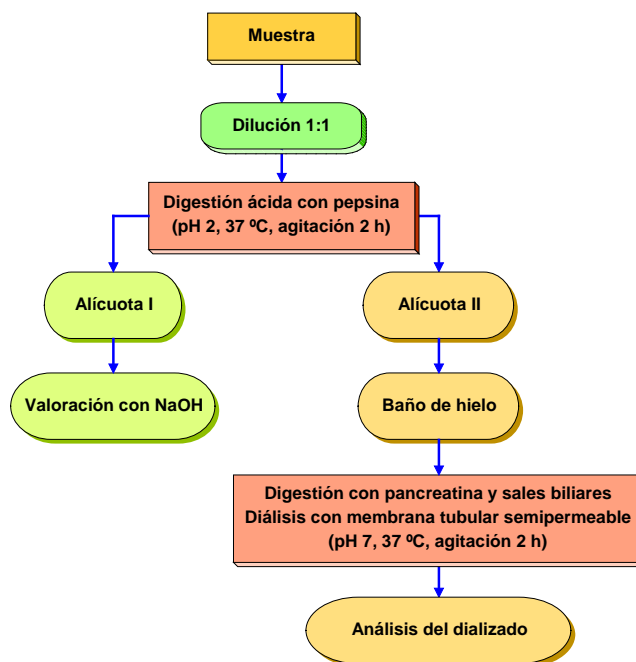


Figura 3.16. Protocolo del ensayo de biodisponibilidad *in vitro*.

En tercer lugar, esta segunda alícuota se somete a la segunda digestión y a la diálisis, a 37 °C, durante 2 h y en un baño con agitación constante moderada, imitando las condiciones humanas. Para ello, se introduce una membrana tubular sellada, con un volumen de 10 ml de una solución preparada con una cantidad de NaHCO₃ equivalente a la acidez valorada en la primera alícuota y diluida hasta 25 ml con agua Mili-Q. Media hora después, se añaden los 5 ml de la solución de sales biliares y pancreatina. Finalmente, se recoge el dializado, se mide y analiza (Gil-Izquierdo, Zafrilla, & Tomás Barberán, 2002; Miller, Schricker, Rasmussen, & Van Campen, 1981; Schricker, Miller, Rasmussen, & Van Campen, 1981).

3.2.7. CÁLCULO DE LA INGESTIÓN DIARIA ESTIMADA.

Cualquier sustancia puede considerarse tóxica cuando la dosis es lo suficientemente alta. Sin embargo, es muy extraño que la ingestión de alimentos vegetales con presencia de residuos de plaguicidas pueda provocar una toxicidad

aguda en el consumidor, siempre que se hayan cultivado siguiendo BPA. Ahora bien, la presencia de estos fitosanitarios en niveles superiores al LMR sí podría provocar una toxicidad crónica.

Para determinar los riesgos crónicos, se disponen de varios índices de consumo de alimento. Un índice comúnmente utilizado es la media del consumo diario. Otros incluyen la media del tamaño de las porciones, los percentiles de los valores de consumo, la media de consumo de las personas que en realidad se comen el producto o el consumo de grupos de población de riesgo, por ejemplo, los niños.

En la predicción de ingesta de residuos de plaguicidas, se reflejarán los hábitos de consumo de alimentos a largo plazo y no las variaciones del día a día, para permitir así una comparación válida con la IDA, la cual se basa en ingesta a lo largo de toda una vida. De este modo, en el ámbito internacional, la media de los valores del consumo de alimento diario se utiliza para predecir la ingesta de residuos de plaguicidas de cara a riesgos a largo plazo (FAO, 1993, 1995, 2002; Urieta et al., 1996; WHO, 1997; United Kingdom Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 2004).

El cálculo de la ingesta diaria estimada (IDE) (mg de plaguicida/peso en kg) se ha determinado a partir de la ingesta diaria calculada (mg de plaguicida/persona), considerando un peso medio por persona de 60 kg y una duración del año de 365 días, de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$IDE = [ppm] \times C / (60 \times 365)$$

Siendo:

[ppm]: Concentración del plaguicida en cada alimento (mg/kg).

C: Consumo anual por persona del alimento (kg/persona).

Los datos de consumo medio de los diferentes alimentos se han obtenido de los últimos índices de consumo comparativos publicados por el INE (1990-91) y del Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente.

Finalmente, se calculó la relación IDE/IDA con el fin de comprobar el peligro potencial de la ingestión de los residuos de los plaguicidas estudiados.

3.2.8. ESTUDIO ESTADÍSTICO.

En todos los casos en los que se ha realizado el cálculo de los parámetros descriptivos (media, desviación estándar, coeficientes de variación, etc.) y de las diferencias significativas (Test de Levene y ANOVA de un factor), se ha utilizado el programa SPSS, v.19.



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En este capítulo se exponen los resultados obtenidos en la determinación de residuos de plaguicidas, tanto en muestras de campo como elaboradas, así como los factores de procesado y estudios de biodisponibilidad de los distintos plaguicidas seleccionados en los diferentes productos estudiados.

El capítulo lo hemos dividido en varios estudios, en función de la matriz vegetal estudiada y en cada uno de ellos, se incluyen los resultados de la validación de la metodología analítica utilizada para la determinación de los plaguicidas utilizados en cada material vegetal.

Para todos los plaguicidas utilizados y en todos los estudios se establece como límite de detección (LD) y como límite de cuantificación (LQ) del método analítico los valores de 0,001 y 0,01 ppm respectivamente, ya que ninguno de ellos tiene legislado un LMR inferior a esta cantidad.

En la elaboración de los procesados industriales de las muestras de campo, se siguió el orden creciente de dosis de aplicación, evitándose así riesgos de contaminación. El procesado de los alimentos y su manipulación se realizó de forma similar a la que se lleva a cabo en la industria alimentaria.

Los LMR utilizados en esta memoria, son los establecidos por la Comisión Europea en la EU Pesticide Database en septiembre de 2016 (EU Pesticide Database, 2016).

4.1. ESTUDIO 1. ALBARICOQUE.

4.1.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA.

4.1.1.1. Validación en albaricoque.

En la Tabla 4.1., se exponen las condiciones de análisis en LC-MS/MS, para cada plaguicida estudiado.

Tabla 4.1. Condiciones de análisis en LC-MS/MS para albaricoque.

Plaguicida	Técnica	Ion principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min)
Tiacloprid	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 253	253 → 126	253 → 186	4,31
Bupirinato		[M+H] ⁺ 317	317 → 166	317 → 108	7,23
Spinosad A		[M+H] ⁺ 732,5	732,5 → 142	732,5 → 98	7,65
Flusilazol		[M+H] ⁺ 316	316 → 247	316 → 165	7,78
Spinosad D		[M+H] ⁺ 746,5	746,5 → 142	746,5 → 98	8,13
Triflumizol		[M+H] ⁺ 346	346 → 278	346 → 73	8,47
Piridaben		[M+H] ⁺ 365	365 → 309	365 → 147	11,05

En la Tabla 4.2., se muestran las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de albaricoque. En el caso de spinosad se detectan los isómeros A y D de forma independiente, aunque su cuantificación se realiza como suma de ambos isómeros.

Tabla 4.2. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas en albaricoque, analizados por LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	R ²
Tiacloprid	$y = 0,069112x + 0,085478$	3,97	0,9999
Bupirinato	$y = 0,035253x + 0,027616$	1,97	0,9999
Spinosad A	$y = 0,006045x - 0,058872$	4,86	0,9998
Flusilazol	$y = 0,039562x - 0,006802$	1,92	0,9994
Spinosad D	$y = 0,017285x + 0,00714$	0,89	0,9995
Triflumizol	$y = 0,008812x + 0,008536$	0,49	0,9995
Piridaben	$y = 0,128956x + 0,019329$	6,78	0,9997

En la Figura 4.1., se representan gráficamente las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados. En la Figura 4.2., se muestra a modo de ejemplo, el cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb de la recta de calibrado y en la Figura 4.3., las ionizaciones de los compuestos de interés.

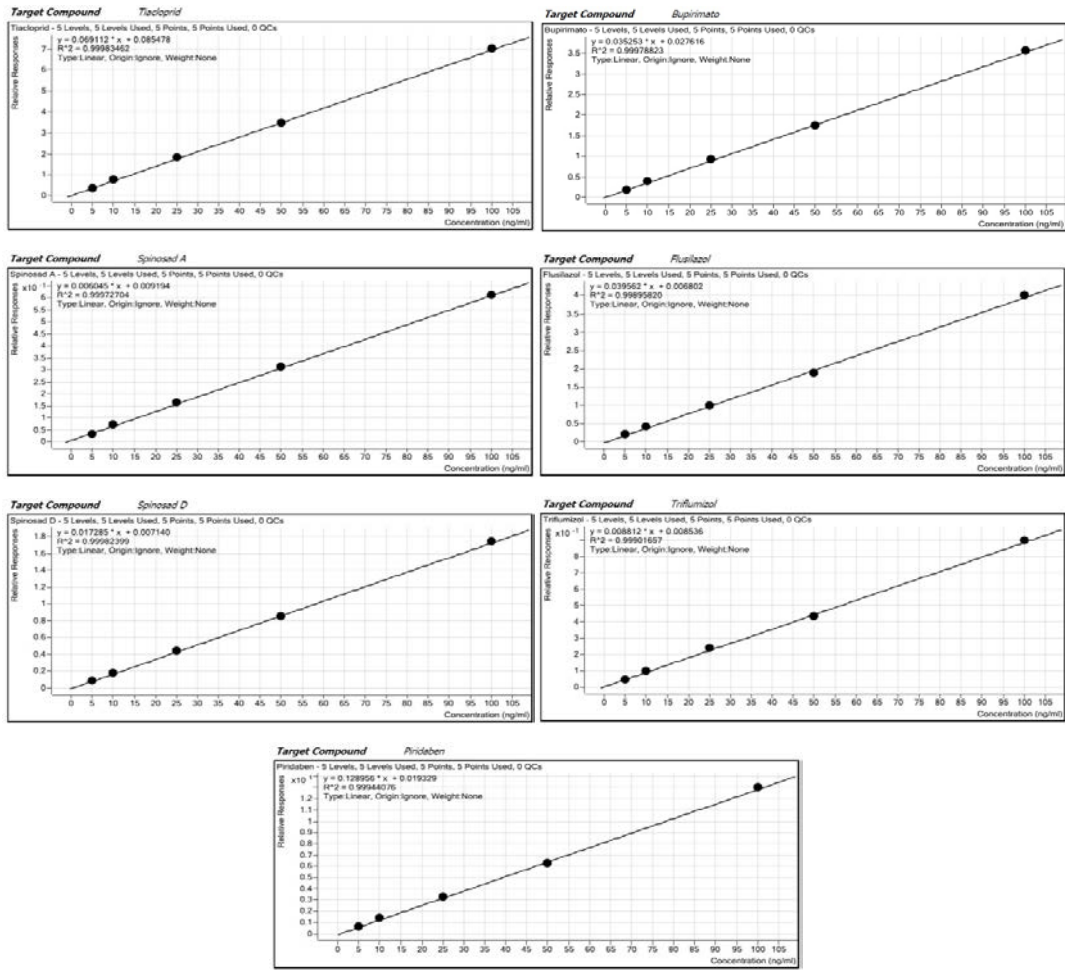
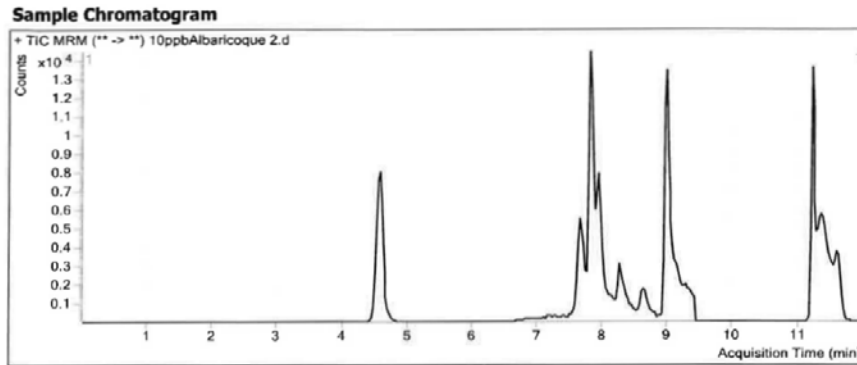


Figura 4.1. Rectas de calibrado en matriz albaricoque.



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Tiaclopid	4.553	57731	10.3046
Bupirinato	7.645	28133	10.2428
Spinosad A	7.785	79685	7.0884
Flusilazol	7.925	30176	10.3670
Spinosad D	8.230	13218	3.0225
Triflumizol	8.614	7318	10.5052
Piridaben	11.182	100155	10.5809

Figura 4.2. Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en albaricoque.

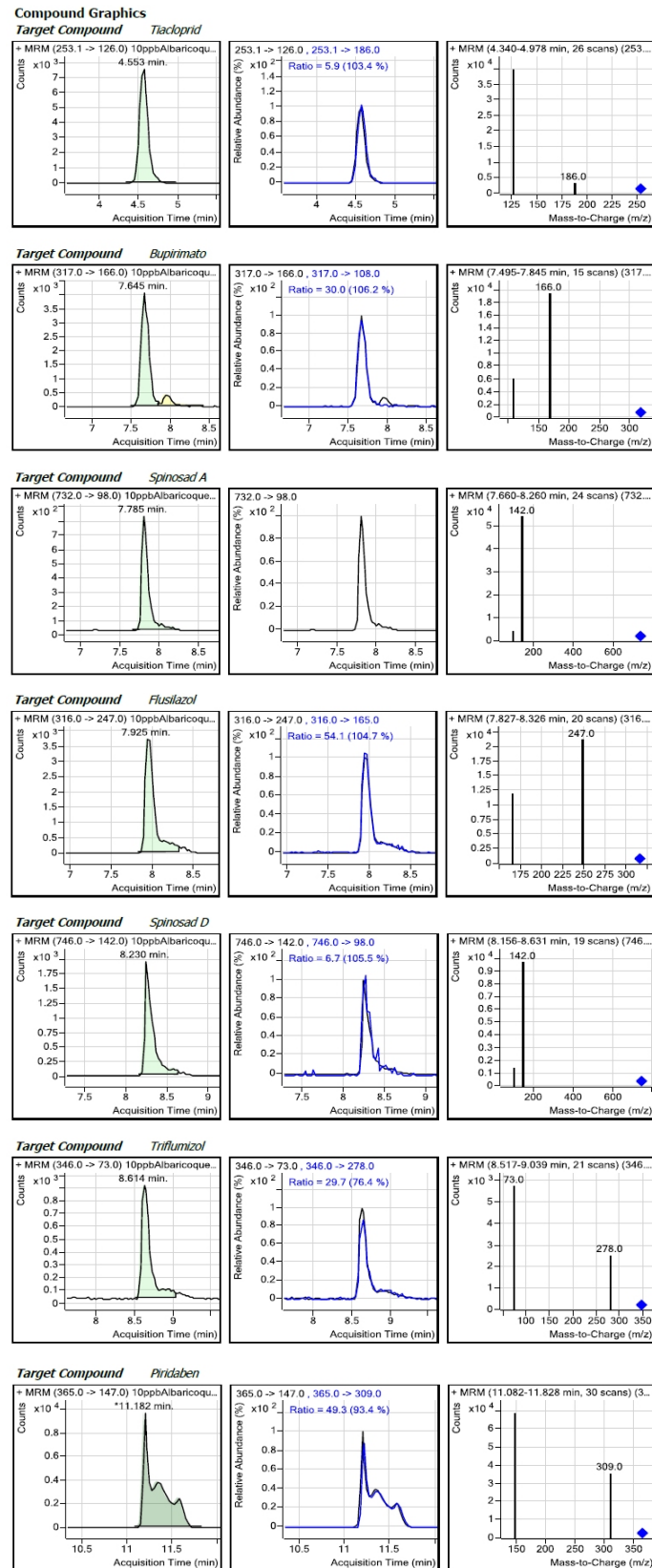


Figura 4.3. Ionización de los compuestos de interés.

Para el cálculo de la precisión del método analítico, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, realizadas por el mismo operador y el mismo sistema

analítico para establecer la repetibilidad. Mientras que para la reproducibilidad se realizaron en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico. En todos los casos los valores para spinosad se expresan como suma de isómeros A y D, tal y como se realiza normalmente en los controles rutinarios de residuos (ISO, 2005). En la Tabla 4.3., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos en las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad.

Tabla 4.3. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en albaricoque.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Tiacloprid	7,0	1,1	12,3	2,4
Bupirinato	7,2	1,0	10,9	3,3
Spinosad	7,6	1,2	8,2	4,2
Flusilazol	7,3	1,4	6,8	2,5
Triflumizol	7,2	1,4	9,7	3,2
Piridaben	6,2	3,2	5,5	4,0

Como podemos observar, los valores obtenidos no superan en ningún caso el 20%, límite de aceptación fijado como criterio en la validación del método.

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de albaricoque, a dos niveles de concentración (LQ y 10LQ). Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.4. y 4.5. En la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.4. Recuperaciones de las muestras de albaricoque fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Tiacloprid	96,7	108 - 91	90,3	92 - 89
Bupirinato	102,7	114 - 94	96,2	98 - 95
Spinosad	101,5	115 - 94	95,0	96 - 93
Flusilazol	98,7	110 - 92	89,0	91 - 88
Triflumizol	98,2	110 - 91	94,5	96 - 93
Piridaben	97,7	107 - 90	86,5	89 - 81

Como podemos comprobar, en condiciones de repetibilidad y para todos los casos, se supera el 96,7% para el nivel del límite de cuantificación y el 86,5% para 10 veces dicho límite; sin sobrepasar el 102,7% en el caso más desfavorable.

Tabla 4.5. Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Tiacloprid	99,0	118 - 87	90,7	93 - 87
Bupirinato	102,8	119 - 91	96,8	100 - 91
Spinosad	100,8	114 - 92	97,2	104 - 92
Flusilazol	96,3	109 - 86	90,3	92 - 86
Triflumizol	98,8	110 - 87	92,3	95 - 87
Piridaben	94,0	100 - 82	86,0	91 - 82

También en condiciones de reproducibilidad, se obtienen valores medios superiores al 94% para el nivel de LQ y al 86% para 10LQ; no sobrepasándose el 102,8% para el caso más desfavorable. Todos los valores medios, así como los máximos-mínimos están dentro del rango aceptado en esta validación (70-120%).

4.1.1.2. Validación en albaricocoque en conserva.

Al tener que realizar medidas de residuos también en conserva de albaricocoque, consideramos necesario realizar la validación de la metodología con esta matriz, basándonos en la diferente estructura del fruto procesado y la composición del líquido de gobierno de la conserva. Por ello, se realizó el estudio de la validación, con los mismos criterios que en el caso del albaricocoque fresco y utilizando los mismos iones target para la identificación de los plaguicidas estudiados.

En la Tabla 4.6., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibración, sus coeficientes de correlación y sus desviaciones estándar relativas, obtenidas con la matriz de albaricocoque en conserva.

Tabla 4.6. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas en conserva de albaricocoque, analizados por LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD(%)	R ²
Tiacloprid	$y = 0,088776x + 0,026984$	4,46	0,9999
Bupirinato	$y = 0,050180x - 0,001791$	2,44	0,9999
Spinosad A	$y = 0,188716x + 0,155010$	9,55	0,9998
Flusilazol	$y = 0,035127x + 0,003349$	1,85	0,9999
Spinosad D	$y = 0,090898x + 0,01962$	4,55	0,9998
Triflumizol	$y = 0,013574x + 0,005004$	0,68	0,9998
Piridaben	$y = 0,156128x - 0,050785$	7,02	0,9999

En la Figura 4.4., se muestra el cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb de la recta de calibrado. Así mismo, las rectas de calibrado obtenidas en el rango de concentración estudiado son similares a las obtenidas en matriz de albaricoque en fresco, por lo que consideramos reiterativo representarlas nuevamente.

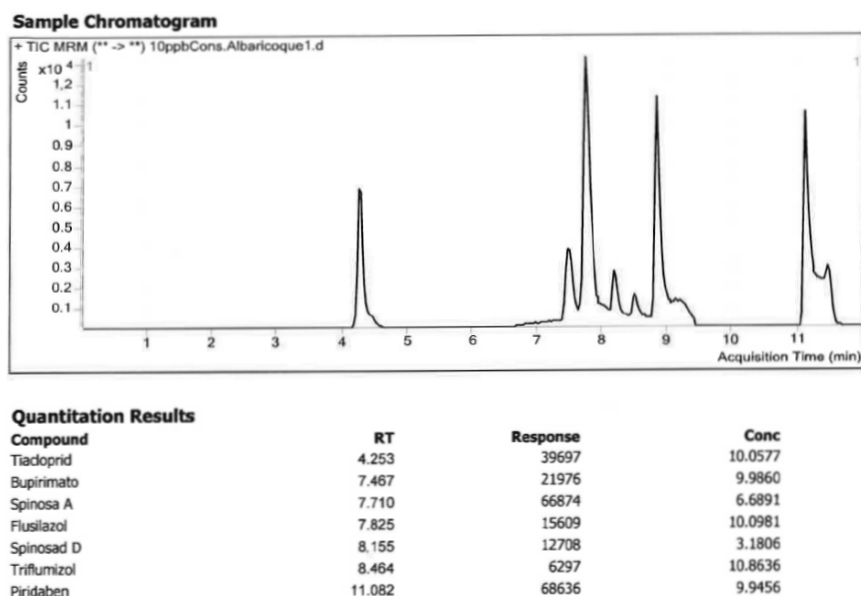


Figura 4.4. Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en conserva de albaricoque.

En la Tabla 4.7., se exponen los coeficientes de variabilidad obtenidos en los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad en albaricoque en conserva. Podemos observar que, en general, son valores muy bajos, a excepción de la reproducibilidad de flusilazol en el nivel de LQ; pero en ningún caso superan el límite del 20% fijado como criterio de aceptación.

Tabla 4.7. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en albaricoque en conserva.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Tiactoprid	3,0	4,1	7,6	3,9
Bupirinato	3,1	3,3	5,5	1,7
Spinosad	3,3	3,1	7,1	9,3
Flusilazol	5,6	7,2	14,3	2,9
Triflumizol	2,5	3,6	6,9	2,4
Piridaben	3,0	5,5	7,1	3,6

Igualmente, se comprobaron los valores de exactitud obtenidos para seis muestras iguales en condiciones de repetibilidad (Tabla 4.8.) y de reproducibilidad

(Tabla 4.9.). Como se muestra, en todos los casos se cumplen también los criterios de aceptación acordados y tanto los valores medios, como los intervalos de máximo-mínimo, están comprendidos entre el 70-120%.

Tabla 4.8. *Recuperaciones de las muestras de albaricoque en conserva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.*

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Tiacloprid	83,3	87 - 80	95,3	99 - 88
Bupirinato	93,5	97 - 89	106,3	110 - 100
Spinosad	86,5	89 - 81	91,7	96 - 89
Flusilazol	113,0	119 - 101	105,2	119 - 100
Triflumizol	103,0	106 - 100	108,3	112 - 103
Piridaben	97,2	100 - 92	113,5	117 - 101

Tabla 4.9. *Recuperaciones de las muestras de albaricoque en conserva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.*

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Tiacloprid	88,2	97 - 82	99,8	105 - 95
Bupirinato	94,0	98 - 84	107,7	110 - 105
Spinosad	92,0	99 - 81	101,2	111 - 89
Flusilazol	95,3	119 - 80	104,7	109 - 101
Triflumizol	94,7	102 - 86	108,3	112 - 105
Piridaben	97,2	105 - 88	112,0	117 - 108

Por todo lo expuesto, podemos asegurar que la metodología empleada para la determinación de los residuos de los plaguicidas seleccionados en albaricoque y su conserva es exacta y precisa.

4.1.1.3. Comparación entre las validaciones.

En los criterios de calidad para los laboratorios de análisis, se incluyen las comprobaciones de que los métodos utilizados, debidamente validados, son científicamente correctos en las condiciones en que van a ser aplicados. Teniendo como referencia a las guías internacionales y/o las directivas comunitarias se comprueban sus características técnicas en cuanto a selectividad y especificidad, sensibilidad, linealidad, límite de detección, límite de determinación o cuantificación, exactitud y precisión (DG SANCO, 2011, 2015; ISO, 2005).

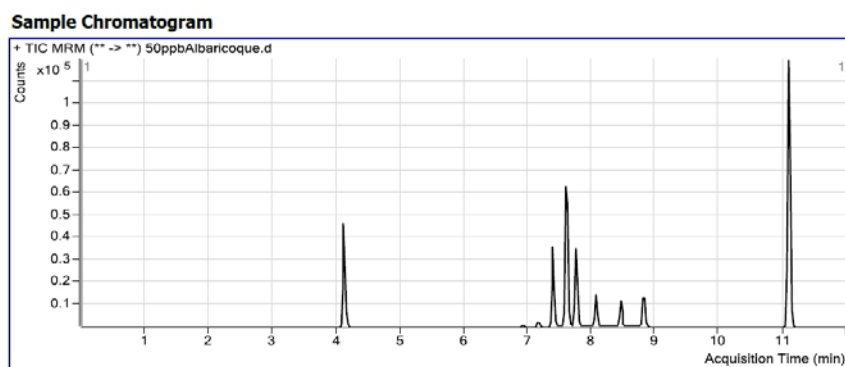
Dadas las diferencias que existen entre ambas matrices, y sobre todo debido a la presencia de almíbar en la conserva, se ha realizado un estudio estadístico para comprobar si existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en ambas validaciones.

Tabla 4.10. Diferencias significativas entre matrices.

Plaguicidas	Diferencias significativas entre matrices			
	Repetibilidad		Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Tiacloprid	***	*	-	***
Bupirinato	*	***	-	***
Spinosad	***	*	-	-
Flusilazol	**	***	-	***
Triflumizol	-	***	-	***
Piridaben	-	***	-	***

* $\leq 0,05$ ** $\leq 0,01$ *** $\leq 0,001$ - No existen diferencias significativas

Como se observa en la Tabla 4.10., y excepto en los niveles de LQ para los ensayos de reproducibilidad, en la mayoría de los casos estudiados y para todos los plaguicidas se producen diferencias estadísticamente significativas. Además, al comparar los cromatogramas obtenidos en la calibración con las dos matrices (Figuras 4.5. y 4.6.) se observan claras diferencias en la respuesta de los distintos plaguicidas según se trate de matriz de albaricoque en fresco o en conserva, por lo que, aunque se establece el mismo método de extracción, creemos conveniente realizar los controles de calidad en la misma matriz que estamos analizando.



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Tiacloprid	4.103	141756	50.0658
Bupirinato	7.393	81783	49.5611
Spinosad A	7.586	171503	34.1686
Flusilazol	7.751	64494	47.9580
Spinosad D	8.057	30151	14.6577
Triflumizol	8.441	25639	50.4877
Piridaben	11.060	202197	50.1148

Figura 4.5. Cromatograma de la muestra de 50 ppb de albaricoque fresco.

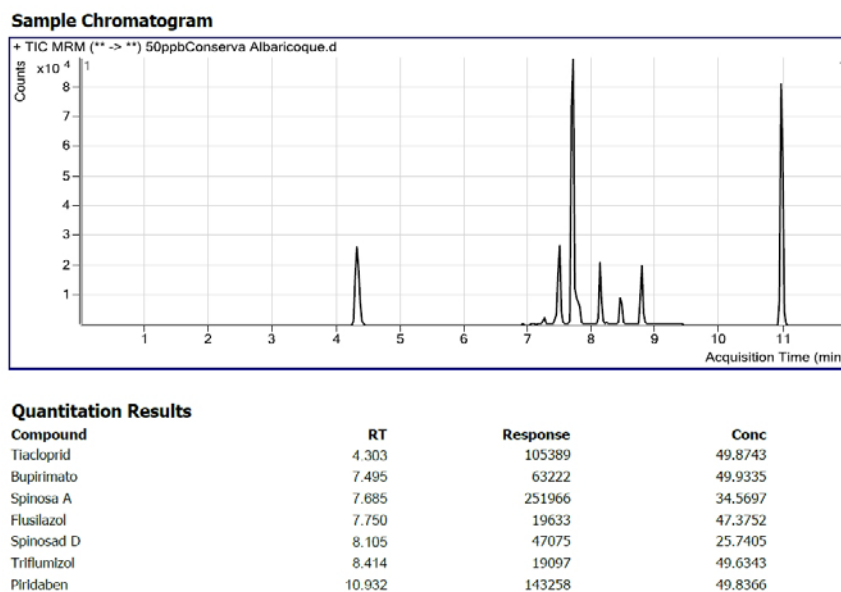


Figura 4.6. Cromatograma de la muestra de 50 ppb de albaricoque en conserva.

4.1.2. RESIDUOS.

4.1.2.1. Residuos en albaricoque.

En la Tabla 4.11., se exponen los valores residuales encontrados en albaricoque fresco, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas.

Tabla 4.11. LMR y residuos de los plaguicidas estudiados en albaricoque fresco.

Plaguicidas	LMR (ppb)	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Tiacloprid	500	223,4	55,8
Bupirimato	300	281,0	13,8
Spinosad	600	236,3	178,8
Flusilazol	10*	509,1	135,2
Triflumizol	100*	271,6	<10
Piridaben	500	540,5	213,6

*LQ

Como se puede observar en la Figura 4.7., todos los plaguicidas, excepto flusilazol, presentan valores residuales inferiores a su LMR en condiciones de buenas prácticas agrícolas. En las condiciones más desfavorables (CPA), tiacloprid y bupirimato no superan el LMR (500 y 300 ppb respectivamente) y spinosad alcanza la tercera parte de su LMR (600 ppb); el resto sobrepasan sus LMR, llegando en el caso de flusilazol a ser el nivel residual 50 veces superior.

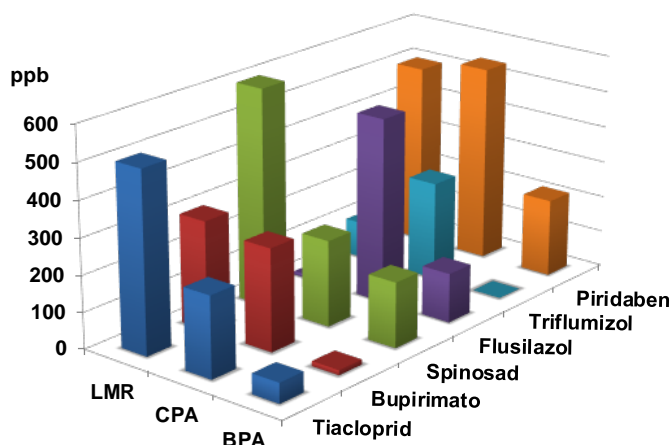


Figura 4.7. Comparación de los residuos en albaricoque con su LMR.

4.1.2.2. Residuos en albaricoque procesado.

En la Tabla 4.12., se exponen los valores residuales encontrados en las diferentes etapas de fabricación de los elaborados de conserva de albaricoque. Como se puede comprobar, todos los plaguicidas experimentan una notable disminución de los valores residuales iniciales (fruto en fresco) a lo largo de las diferentes etapas de la fabricación de la conserva. En condiciones de buenas prácticas agrícolas, solamente flusilazol mantiene al final del proceso un nivel de residuos que supera ligeramente su LMR.

Tabla 4.12. Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de albaricoque en conserva.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)					
		Tiacloprid	Bupirimato	Spinosad	Flusilazol	Triflumizol	Piridaben
BPA	M ₁	55,8	13,8	178,8	135,2	<10	213,6
	M ₂	34,1	10,9	67,6	91,2	<10	66,3
	M ₃	22,9	<10	27,8	48,4	<10	34,4
	M ₄	14,2	<10	27,7	31,4	<10	28,8
	M ₅	14,0	<10	21,6	29,3	<10	22,3
	M ₆	11,0	<10	26,2	29,4	<10	16,1
CPA	M ₁	223,4	281	236,3	509,1	271,6	540,5
	M ₂	168,7	206,3	154,5	307,6	190,6	409,7
	M ₃	87,8	87,6	72,6	132,6	74,3	174,3
	M ₄	78,5	68,8	59,3	126,5	33,6	154,8
	M ₅	65,3	<10	60,4	119,8	<10	132
	M ₆	60,6	<10	59,7	83,1	<10	125,7

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: Embotado; M₄: pasteurizado; M₅: 3 meses; M₆: 6 meses.

En los frutos tratados bajo las condiciones más desfavorables (CPA), piridaben disminuye su contenido a valores inferiores al LMR a partir de la segunda etapa M₂

(lavado con agua); triflumizol lo hace a partir de la tercera etapa M_3 (embotado). En el caso de flusilazol y CPA, aunque se produce una disminución progresiva de sus residuos a lo largo de toda la elaboración, a los seis meses de conserva todavía contiene niveles ocho veces superiores a su LMR.

En la Figura 4.8., se comparan las tendencias de desaparición de los residuos de los plaguicidas estudiados, en las diferentes etapas de manipulación, en ambas condiciones de cultivo BPA y CPA.

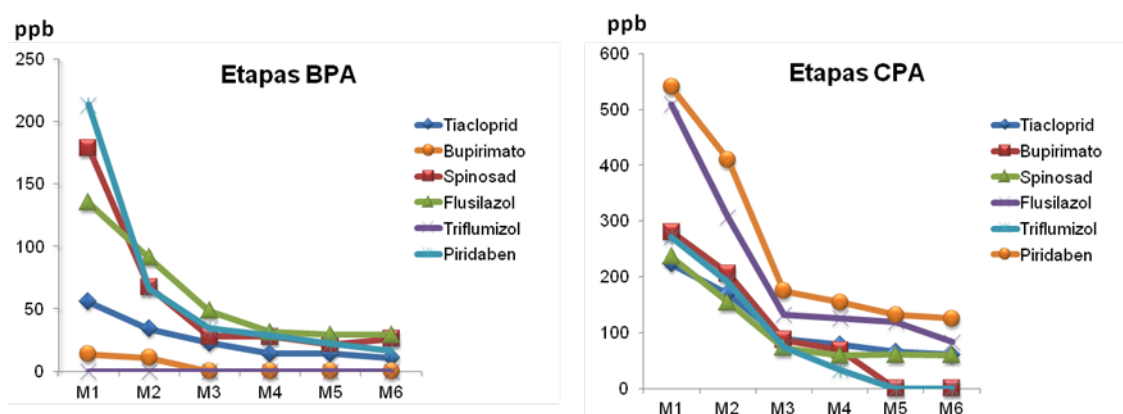


Figura 4.8. Variación de los residuos en el proceso de conserva de albaricoque.

Las muestras tratadas bajo BPA, que presentan menores niveles residuales en la muestra de cosecha (M_1), alcanzan más rápidamente valores muy bajos de residuos conforme avanza el proceso de fabricación de la conserva. Así, tiacloprid, bupirinato y triflumizol, alcanzan niveles de LQ después del pasteurizado. El resto de plaguicidas alcanzan valores de aproximadamente el doble de su LQ.

En el caso de las muestras tratadas bajo CPA, se observa un comportamiento similar con un rápido descenso en las primeras etapas (lavado y embotado), seguido de una eliminación más lenta en las etapas de pasteurización y almacenado. Así, tan sólo bupirinato y triflumizol, alcanzan niveles de LQ transcurridos 3 meses de su embotado. Tiacloprid y spinosad logran rangos de 6LQ y el resto de plaguicidas no descienden del nivel de 100 ppb en este tiempo.

4.1.3. CONTROLES DE CALIDAD DEL ANÁLISIS MULTIRRESIDUOS EN ALBARICOQUE.

Como control de calidad se utiliza la exactitud (% recuperación) en muestras de albaricoque y su conserva fortificadas a 10 y 50 ppb. En la Tabla 4.13., se muestran los porcentajes de recuperación encontrados en los controles de calidad introducidos en las secuencias de análisis de las diferentes etapas de elaboración, comprobando que, para todos los plaguicidas estudiados, los valores están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

Tabla 4.13. Porcentajes de recuperación en controles de calidad en las diferentes etapas de fabricación de conserva de albaricoque.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Tiacloprid	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₅	108	104
	M ₆	102	105,4
Bupirinato	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₅	108	105,6
	M ₆	104	104,2
Spinosad	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₅	110	103
	M ₆	105	94,8
Flusilazol	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₅	99	102,2
	M ₆	104	109,4
Triflumizol	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₅	106	104,2
	M ₆	112	112,2
Piridaben	M ₁ -M ₄	114	107,4
	M ₅	100	100,8
	M ₆	110	113,4

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: Embotado; M₄: pasteurizado; M₅: 3 meses; M₆: 6 meses.

4.1.4. FACTORES DE PROCESADO.

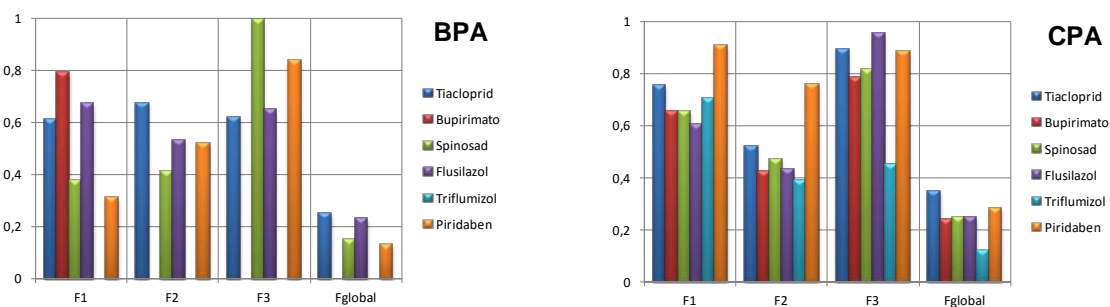
En la Tabla 4.14., se exponen los factores de procesado calculados tanto en las muestras tratadas bajo BPA como CPA, teniendo en cuenta solo las etapas que pueden afectar más directamente a la desaparición o concentración de los residuos.

Tabla 4.14. Factores de procesado en albaricque en conserva en condiciones de BPA y CPA.

Plaguicidas	BPA				CPA			
	F ₁	F ₂	F ₃	F _{global}	F ₁	F ₂	F ₃	F _{global}
Tiacloprid	0,611	0,672	0,620	0,25	0,755	0,520	0,894	0,35
Bupirinato	0,790	0	0	0	0,654	0,425	0,785	0,24
Spinosad	0,378	0,411	0,996	0,15	0,654	0,470	0,817	0,25
Flusilazol	0,675	0,531	0,649	0,23	0,604	0,431	0,954	0,25
Triflumizol	0	0	0	0	0,702	0,390	0,452	0,12
Piridaben	0,310	0,519	0,837	0,13	0,907	0,758	0,888	0,28

F₁= M₂/M₁; F₂= M₃/M₂; F₃= M₄/M₃; F_{global}= M₄/M₁

En todos los casos se observa una clara disminución del contenido en residuos, ya que los factores de transferencia en las distintas etapas y en el global presentan valores inferiores a la unidad (Figura 4.9.).

**Figura 4.9.** Variación de los factores de procesado en conserva de albaricque.

Para los ensayos con BPA se aprecia que, para bupirinato la etapa de embotado provoca una eliminación total del mismo, mientras que, en los otros, la transferencia global oscila entre el 25% para tiacloprid y el 13% para piridaben. Por el contrario, para los ensayos con tratamientos bajo CPA la transferencia de residuos en las tres etapas estudiadas no provoca la eliminación total de los mismos. Cuando se estudia la transferencia global, en ningún caso se produce una eliminación total de los residuos, siendo los factores de procesado para todos los plaguicidas inferiores a 0,35.

En general, y aunque la concentración de partida en ambos tratamientos es diferente (mayor en CPA que en BPA) se observa que los factores de procesado globales se mantienen en valores entre 0,12 y 0,35.

4.1.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.1.5.1. Efecto matriz.

Con objeto de estudiar el posible efecto matriz en la biodisponibilidad de los plaguicidas seleccionados, se realizó la dialización de disoluciones en agua de estándares en concentraciones crecientes desde 0,1 a 5 ppm, y posteriormente a las mismas concentraciones de los plaguicidas en las dos matrices utilizadas: albaricoque fresco y en conserva. En la Tabla 4.15., se exponen los resultados obtenidos en el estudio en agua de los ensayos realizados con disoluciones patrón de todos los plaguicidas a diferentes concentraciones, para comprobar el efecto de la concentración de la materia activa en su posible absorción.

Tabla 4.15. *Cantidades dializadas (ppb) de estándares de los plaguicidas en agua.*

ESTÁNDARES EN AGUA						
[ppb]	Tiacloprid	Bupirinato	Spinosad	Flusilazol	Triflumizol	Piridaben
100	29,8	22,5	<10	25,7	<10	<10
500	158,5	117,3	22,8	130,0	18,7	<10
1000	136,8	95,2	40,2	156,3	29,2	<10
3000	485,1	345,1	111,2	407,6	117,7	21,5
5000	572,6	396,3	203,8	445,6	139,5	18,6

En la Figura 4.10., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones estudiadas.

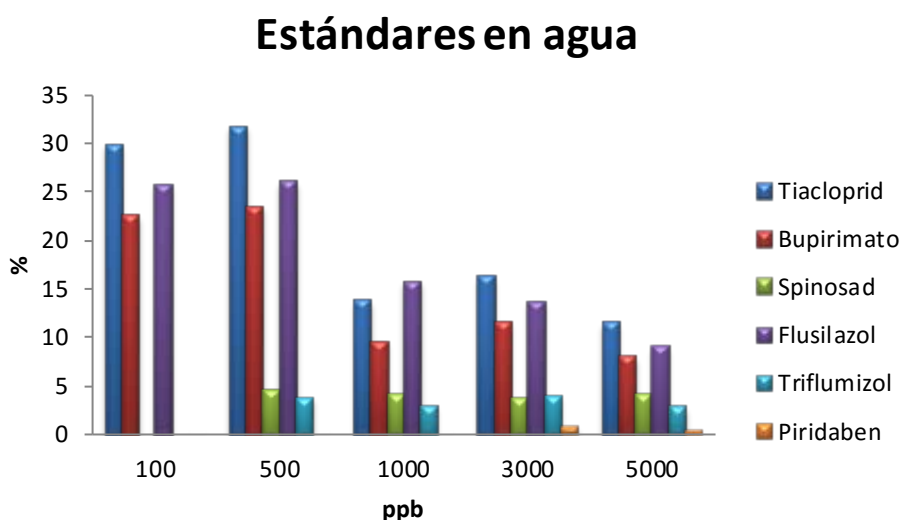


Figura 4.10. *Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.*

Como se observa, ningún plaguicida ni concentración ensayada, sobrepasa el 35% dializado de la cantidad inicial. Los plaguicidas que mayor dialización sufren son: tiacloprid, bupirinato y flusilazol; sobre todo a las menores concentraciones (100 y 500 ppb). Spinosad y triflumizol no alcanzan en ningún caso el 5% dializado y piridaben sólo dializa a las mayores concentraciones y en un porcentaje inferior al 2%.

En la Tabla 4.16., se muestran las cantidades dializadas en los ensayos realizados con todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en albaricoque fresco, para comprobar el efecto de la cantidad de materia activa, junto con el efecto matriz, en su posible absorción.

Tabla 4.16. *Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas seleccionados en albaricoque fresco.*

ESTÁNDARES EN ALBARICOQUE						
[ppb]	Tiacloprid	Bupirinato	Spinosad	Flusilazol	Triflumizol	Piridaben
100	17,0	<10	<10	<10	<10	<10
500	98,2	26,4	<10	28,7	<10	<10
1000	103,0	36,5	<10	23,9	<10	<10
3000	407,3	108,9	22,5	107,4	22,8	<10
5000	491,2	143,4	45,6	268,3	54,7	<10

En la Figura 4.11., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de estándares estudiados, en muestras de albaricoque fresco.

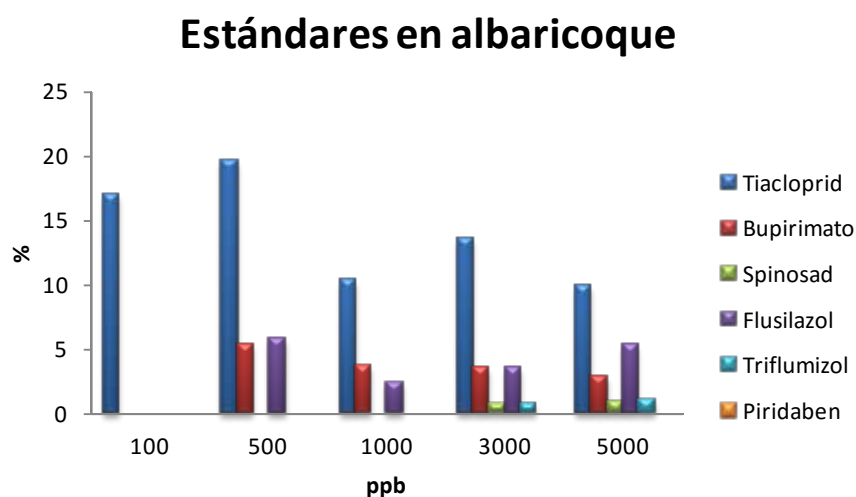


Figura 4.11. *Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en albaricoque*

Se observa que cuando los residuos de los plaguicidas se encuentran en la matriz de albaricoque, los mayores porcentajes dializados (tiacloprid) no alcanzan el 20% de la cantidad inicial. Para flusilazol, los valores más altos se sitúan aproximadamente en un 7%. Para el resto de los plaguicidas no se alcanza el 5%. Lo que evidencia que la presencia de matriz de albaricoque, disminuye la capacidad de dialización de los plaguicidas estudiados.

En la Tabla 4.17., se exponen las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón de todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en albaricoque en conserva, para constatar si existen diferencias en la absorción con una matriz ligeramente diferente y con presencia de azúcares.

Tabla 4.17. *Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas en albaricoque conserva.*

ESTÁNDARES EN ALBARICOQUE CONSERVA						
[ppb]	Tiacloprid	Bupirimato	Spinosad	Flusilazol	Triflumizol	Piridaben
100	31,1	<10	<10	11,7	<10	<10
500	152,2	45,5	11,8	52,1	<10	<10
1000	257,8	40,8	25,4	93,9	14,6	<10
3000	901,2	290,5	75,5	377,9	104,7	<10
5000	1008,5	579,5	188,9	695,7	230,5	10,4

En la Figura 4.12., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de estándares estudiadas en muestras de albaricoque en conserva.

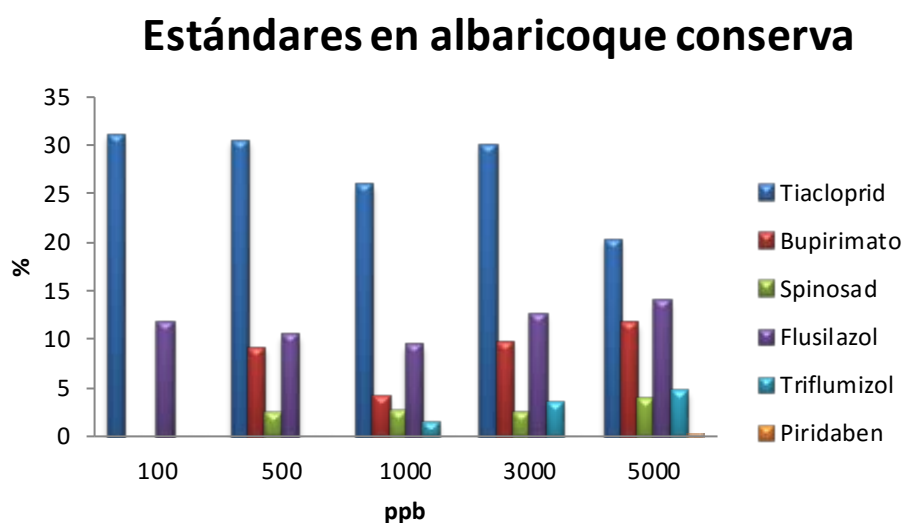


Figura 4.12. *Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en albaricoque en conserva.*

Se puede señalar, en general, que la presencia de almíbar en el líquido de gobierno, y por lo tanto un mayor contenido en azúcar en la muestra analizada provoca un aumento en los porcentajes de diálisis, sobre todo en tiacloprid, bupirimato y flusilazol en todas las concentraciones y spinosad y triflumizol a partir de 500 ppb.

4.1.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

En la Tabla 4.18., se detallan las concentraciones de los plaguicidas estudiados en los dializados de las muestras de albaricoque fresco y en conserva, en ambas condiciones de cultivo (BPA y CPA). Se omiten los valores de M₆ al encontrarse todos por debajo del LQ.

Tabla 4.18. *Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas seleccionados en las muestras.*

Plaguicidas	BPA				CPA			
	M ₁	M ₃	M ₄	M ₅	M ₁	M ₃	M ₄	M ₅
Tiacloprid	11,6	<10	<10	<10	61,4	21,1	18,8	18,7
Bupirimato	<10	<10	<10	<10	22,0	<10	<10	<10
Spinosad	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Flusilazol	<10	<10	<10	<10	35,5	11,5	11,1	11,2
Triflumizol	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Piridaben	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

M₁: cosecha; M₃: Embotado; M₄: pasteurizado; M₅: 3 meses.

Para todos los plaguicidas aplicados en condiciones de BPA, menos tiacloprid en muestras de cosecha, los niveles residuales después del proceso de dialización son inferiores al LQ (<10 ppb). Cuando las muestras provienen de tratamientos CPA se observa que tiacloprid y flusilazol presentan dialización en todas las fases del procesado y bupirimato en la muestra de cosecha.

En la Figura 4.13., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes muestras en condiciones de CPA, al ser las únicas que mantenían concentraciones cuantificables en los dializados.

Tiacloprid alcanza el 25-30% en todas las muestras; bupimirato un 8% solo en la primera etapa y flusilazol que no llega al 10% en ningún caso. Como se indicaba en el estudio del efecto matriz, la adición de azúcar en el procesado industrial produce un aumento de la capacidad de dialización de los plaguicidas estudiados y consecuentemente de su biodisponibilidad.

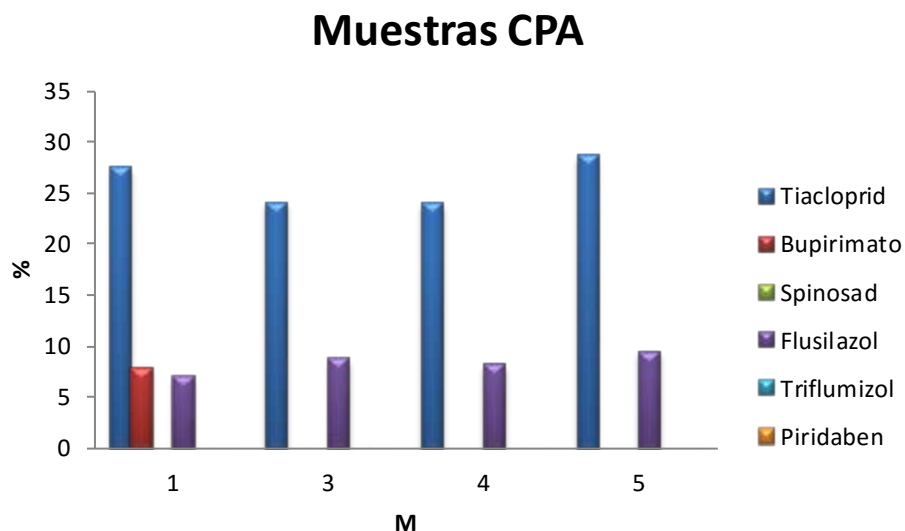


Figura 4.13. Porcentajes dializados de los plaguicidas en albaricoque, respecto a sus valores residuales en las diferentes etapas de fabricación.

4.2. ESTUDIO 2. MELOCOTÓN.

4.2.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA.

En la Tabla 4.19., se exponen las condiciones de análisis para cada uno de los 7 plaguicidas utilizados.

Tabla 4.19. Condiciones de análisis en LC-MS/MS para melocotón.

Plaguicida	Técnica	Ión principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min)
Flonicamida	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 230	230 → 203	230 → 148	2,11
Imidacloprid		[M+H] ⁺ 256	256 → 175	256 → 209	2,98
Ciproconazol		[M+H] ⁺ 292	292 → 70	292 → 125	7,09
		[M+H] ⁺ 294	294 → 70		
Fludioxinil		[M+H] ⁺ 266	266 → 229	266 → 185	7,19
Ciprodinil		[M+H] ⁺ 226	226 → 77	226 → 93	7,29
Bupirinato		[M+H] ⁺ 317	317 → 166	317 → 108	7,45
Cialotrina		[M+H] ⁺ 467	467 → 225	467 → 141	11,00

En la Tabla 4.20., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de melocotón.

Tabla 4.20. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en melocotón, en LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	R ²
Flonicamida	$y = 0,046051x - 0,0004865$	6,10	0,9998
Imidacloprid	$y = 0,553395x + 0,0003314$	3,17	0,9999
Ciproconazol	$y = 1,144246x + 0,020449$	3,33	0,9998
Fludioxonil	$y = 0,089841x + 0,0004469$	2,03	0,9995
Ciprodinil	$y = 0,127000x + 0,0005694$	7,03	0,9998
Bupimirato	$y = 2,148237x - 0,022275$	10,90	0,9997
Cialotrina	$y = 0,032312x - 0,0000335$	2,90	0,9995

En la Figura 4.14., se exponen las representaciones gráficas de dichas rectas.

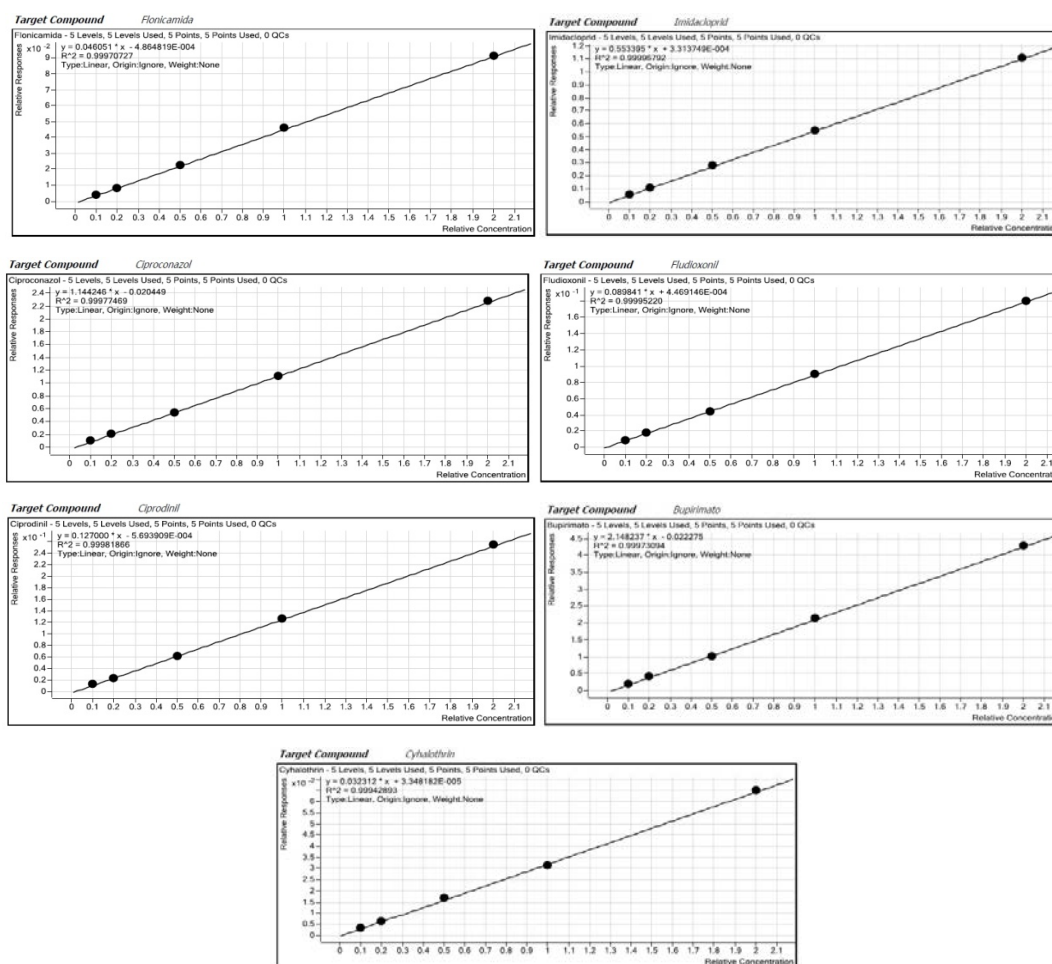


Figura 4.14. Rectas de calibrado en matriz de melocotón.

En la Figura 4.15., se muestra a modo de ejemplo el cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb de la recta de calibrado en extracto de melocotón, y en la Figura 4.16., la ionización de los compuestos de interés en el detector triple cuadrupolo.

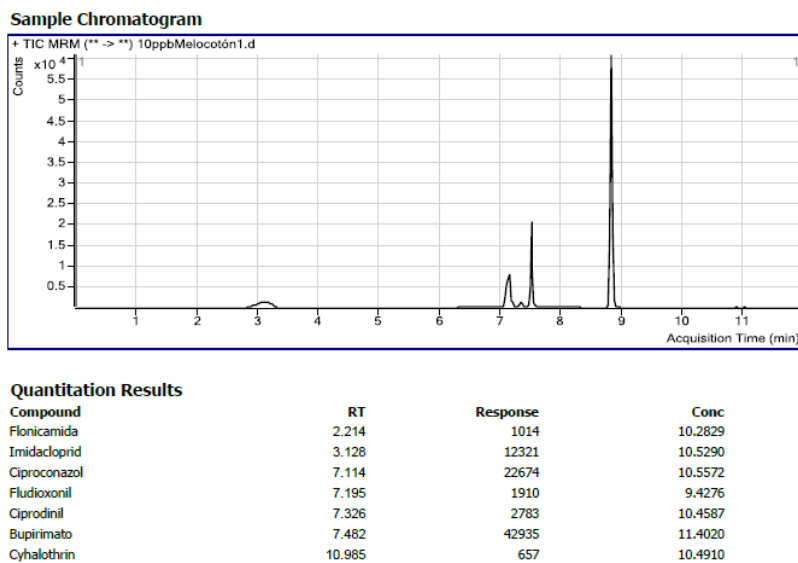


Figura 4.15. Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en melocotón.

En este material vegetal y dado que no se dan las diferencias estructurales de las muestras, ya que no existe una adición de líquido de gobierno en el procesado del melocotón, se realizó una sola validación de la metodología analítica, que fue aplicada a todas las muestras.

En el estudio de la precisión del método analítico, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, por el mismo operador y el mismo sistema analítico para establecer la repetibilidad y en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico, para reproducibilidad.

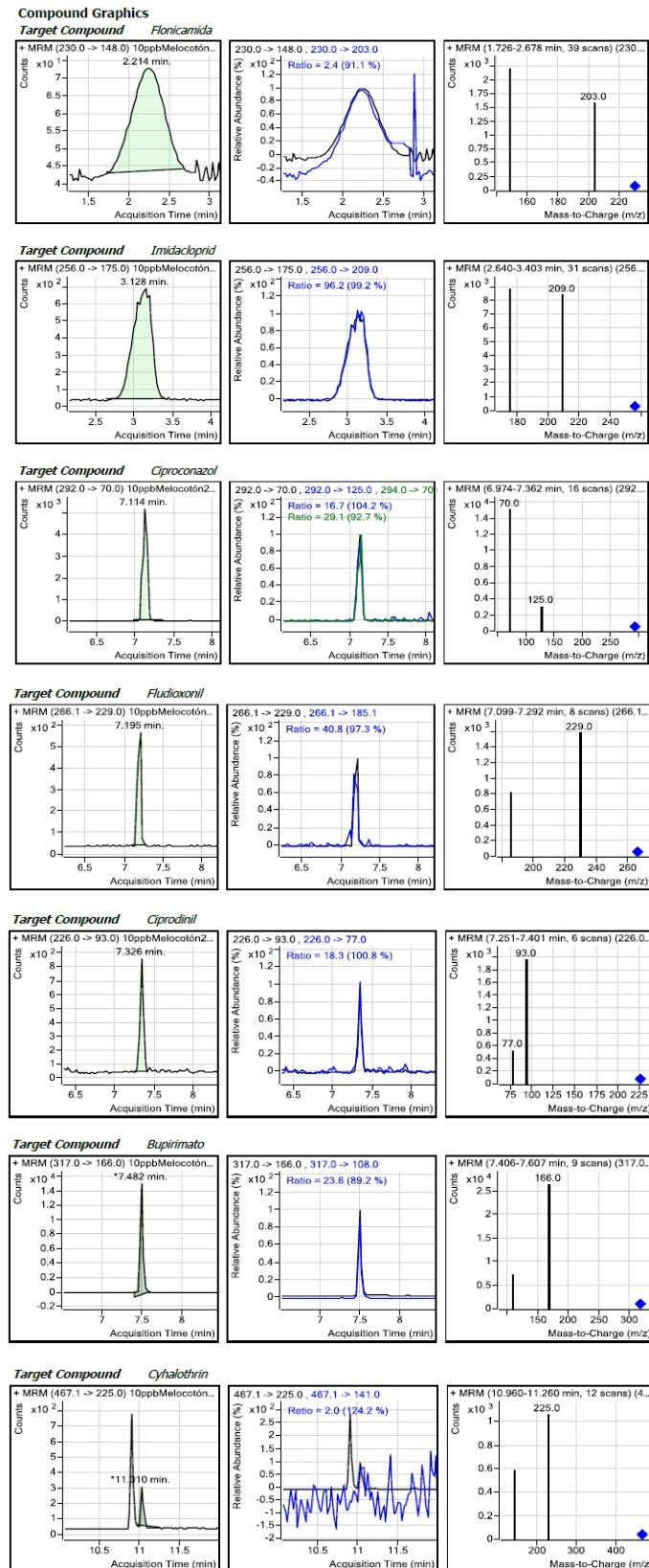


Figura 4.16. Ionización de los compuestos de interés.

En la Tabla 4.21., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos en este estudio.

Tabla 4.21. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en melocotón.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Flonicamida	6,36	4,56	11,25	6,65
Imidacloprid	1,86	1,07	10,61	1,08
Ciproconazol	2,05	1,22	6,58	4,03
Fludioxonil	4,72	2,78	17,60	5,48
Ciprodinil	7,77	4,11	5,58	4,58
Bupimirato	1,45	0,77	7,30	5,18
Cialotrina	6,43	6,02	8,94	6,49

Como podemos observar, los valores obtenidos no superan en ningún caso el 20%, límite de aceptación fijado en función de los criterios de aceptación y rechazo de las guías SANCO consultadas. En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de melocotón, a dos niveles de concentración (LQ y 10LQ). Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.22. y 4.23. En la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.22. Recuperaciones de las muestras de melocotón fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Flonicamida	97,3	106 - 90	92,7	97 - 85
Imidacloprid	100,5	103 - 98	91,8	93 - 90
Ciproconazol	107,0	111 - 105	95,8	97 - 94
Fludioxonil	77,0	82 - 71	107,8	113 - 104
Ciprodinil	99,0	112 - 88	94,2	99 - 89
Bupimirato	104,5	106 - 102	97,2	98 - 96
Cialotrina	99,7	108 - 90	88,7	96 - 81

Tabla 4.23. Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Flonicamida	88,7	103 - 76	93,8	100 - 85
Imidacloprid	90,0	101 - 79	90,8	92 - 90
Ciproconazol	97,5	106 - 91	96,3	101 - 92
Fludioxonil	88,5	107 - 70	102,0	113 - 97
Ciprodinil	90,5	100 - 86	97,2	102 - 95
Bupimirato	94,3	104 - 88	96,7	103 - 90
Cialotrina	99,5	110 - 88	92,2	98 - 81

Todos los valores medios obtenidos tanto en condiciones de repetibilidad como reproducibilidad, así como los máximos-mínimos para ambas concentraciones están dentro del rango aceptado en esta validación (70-120%).

4.2.2. RESIDUOS.

4.2.2.1. Residuos en melocotón.

En la Tabla 4.24., se exponen los valores residuales encontrados en melocotón fresco, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas.

Tabla 4.24. Residuos de los plaguicidas estudiados en melocotón fresco.

Plaguicidas	LMR(ppb)	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Flonicamida	400	220,0	78,4
Imidacloprid	500	149,6	26,0
Ciproconazol	100	26,6	12,3
Fludioxonil	10000	1158,8	643,2
Ciprodinil	2000	897,4	426,8
Bupimirato	300	207,0	<10
Cialotrina	200	51,6	24,1

Como se puede comprobar en la Figura 4.17., en el caso del cultivo tratado tanto en BPA como en CPA, todos los residuos presentan concentraciones bajas, incluso la concentración más alta encontrada (fludioxonil) tan sólo supera ligeramente la décima parte de su LMR.

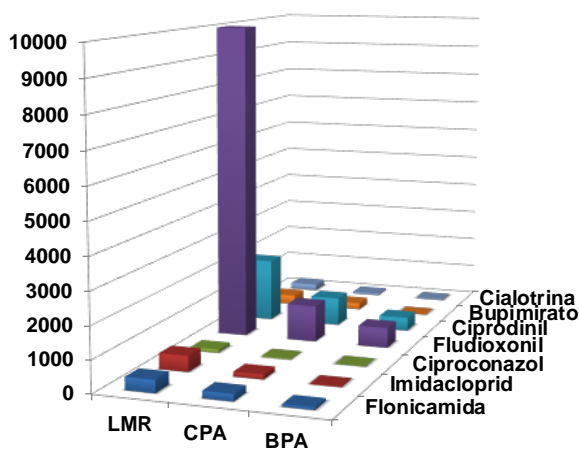


Figura 4.17. Comparación de los residuos en melocotón tratado bajo BPA y CPA con su LMR.

En las Figuras 4.18. y 4.19., se exponen cromatogramas correspondientes a muestras de melocotón tratadas en condiciones BPA y CPA. En ellas, se puede observar la presencia de todos los plaguicidas estudiados, pero con diferencias en sus concentraciones, ya que las muestras bajo CPA fueron tomadas a las dos horas de la aplicación de los fitosanitarios, mientras que las BPA, tras sus correspondientes plazos de seguridad.

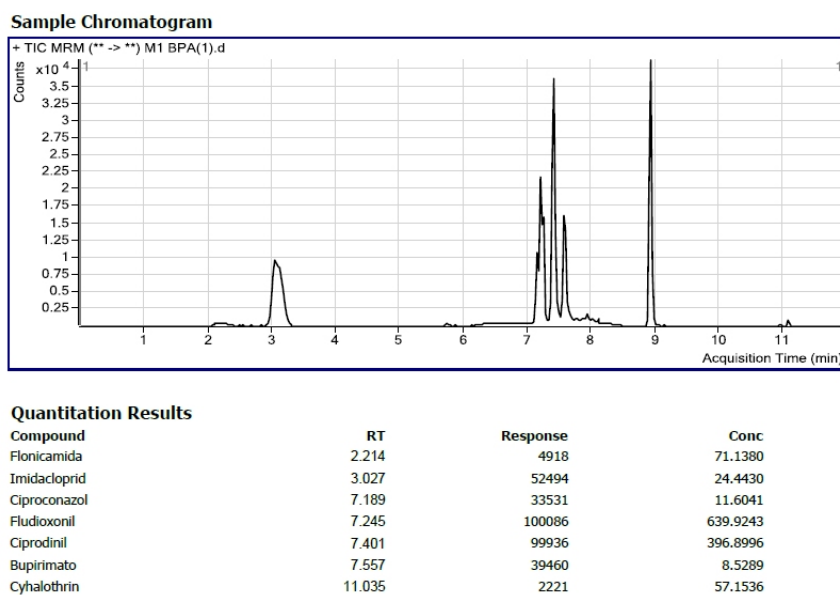


Figura 4.18. Cromatograma de una muestra de melocotón BPA.

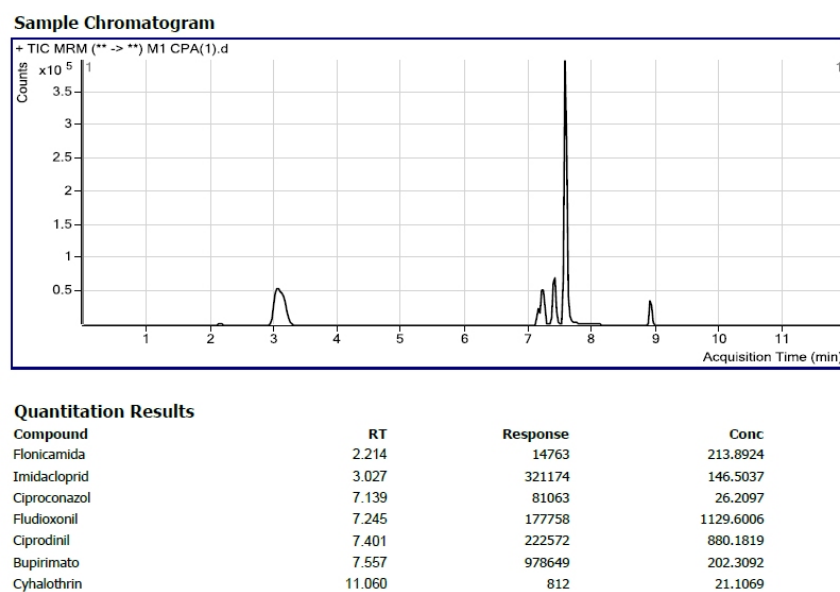


Figura 4.19. Cromatograma de una muestra de melocotón CPA.

4.2.2.2. Residuos en melocotón procesado.

En la Tabla 4.25., se exponen los valores residuales encontrados tanto en cosecha (M_1) como en las diferentes etapas de fabricación de los elaborados de melocotón cremogenado. En esta tabla se puede observar que para todos los plaguicidas estudiados la concentración inicial va disminuyendo a lo largo de las diferentes etapas del procesado.

Tabla 4.25. Valores residuales en las etapas de fabricación de conserva de melocotón.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)						
		Flonicamida	Imidacloprid	Ciproconazol	Fludioxonil	Ciprodinil	Bupimirato	Cialotrina
BPA	M ₁	78,4	26,0	12,3	643,2	426,8	<10	24,1
	M ₂	63,7	20,7	6,4	314,2	381,5	<10	16,5
	M ₃	56,8	15,9	<10	236,3	311,2	<10	14,4
	M ₄	52,3	11,4	<10	221,5	215,7	<10	11,5
	M ₅	51,4	11,3	<10	177,6	134,6	<10	<10
	M ₆	48,3	11,2	<10	176,8	131,8	<10	<10
	M ₇	46,1	10,9	<10	165,9	114,8	<10	<10
	M ₈	43,0	11,0	<10	81,4	120,1	<10	<10
	M ₉	38,6	11,1	<10	68,7	97,6	<10	<10
CPA	M ₁	220,0	149,6	26,6	1158,8	897,4	207,0	51,6
	M ₂	154,4	99,4	15,7	608,1	692,3	101,9	41,7
	M ₃	138,1	79,5	14,8	330,9	592,0	94,5	16,1
	M ₄	134,9	72,7	12,9	304,0	501,6	63,9	17,3
	M ₅	130,9	65,0	12,4	253,7	364,4	47,6	16,4
	M ₆	127,2	65,0	11,8	248,7	315,1	40,0	16,4
	M ₇	122,4	60,2	11,0	241,4	283,7	29,1	16,4
	M ₈	109,2	64,0	11,1	219,1	283,0	<10	<10
	M ₉	97,0	63,4	<10	189,4	236,7	<10	<10

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: troceado; M₄: escaldado; M₅: crema triturada; M₆: embotado; M₇: pasteurizado; M₈: almacén 3 meses; M₉: almacén 6 meses.

En la Figura 4.20., se representan gráficamente las variaciones de las concentraciones residuales en las diferentes etapas de procesado en condiciones BPA y CPA.

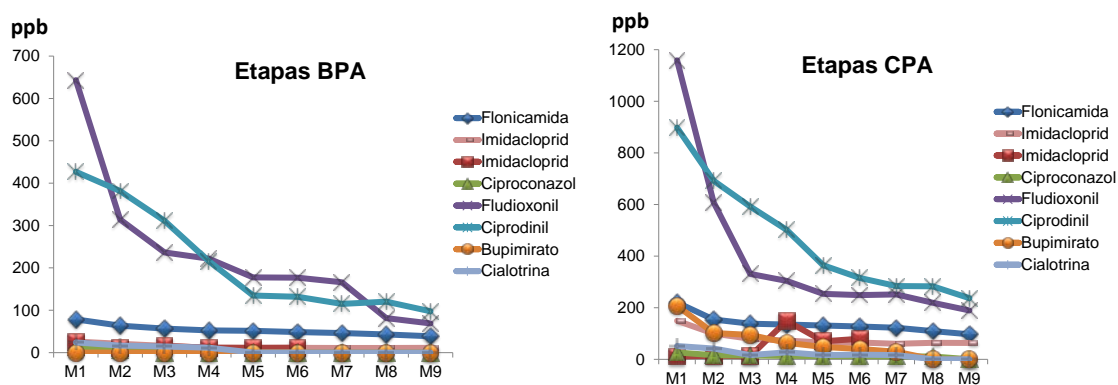


Figura 4.20. Variación de los residuos en el proceso de conserva de melocotón.

En esta figura se observa como las etapas de lavado, troceado y escaldado (M_2 , M_3 y M_4) provocan una fuerte disminución de los residuos, mientras que el resto de etapas mantienen una tendencia menos acusada.

4.2.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE MELOCOTÓN.

Se realizaron controles de calidad para asegurar la robustez del método analítico. Para ello, se calculó la recuperación de muestras fortificadas de melocotón a niveles de 10 ppb y 50 ppb. En la Tabla 4.26., se muestran los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas incluidas en las secuencias de análisis de las diferentes muestras en las distintas etapas de elaboración.

Tabla 4.26. Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de melocotón.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Flonicamida	M_1 - M_7	112	106,6
Imidacloprid	M_1 - M_7	82	98
Ciproconazol	M_1 - M_7	83	96,6
Fludioxonil	M_1 - M_7	98	109,6
Ciprodinil	M_1 - M_7	94	108,4
Bupimirato	M_1 - M_7	102	107
Cialotrina	M_1 - M_7	107	91,8

M_1 : cosecha; M_7 : pasteurizado.

Como se puede comprobar todos los valores para los distintos plaguicidas estudiados, están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

4.2.4. FACTORES DE PROCESADO.

En la Tabla 4.27., se exponen los factores de procesado calculados tanto en las muestras tratadas bajo BPA como CPA. En la Figura 4.21., se representan gráficamente las variaciones de dichos factores en ambos tratamientos.

En ninguna de las etapas se supera el factor 1 por lo que no se produce acumulación de residuos. Al observar los factores globales ningún plaguicida sobrepasa

el valor de 0,6, lo que podemos interpretar como que el procesado del melocotón reduce prácticamente a la mitad los residuos iniciales en el fruto cosechado.

Tabla 4.27. Factores de procesado calculados en melocotón en conserva tratados bajo BPA y CPA.

Plaguicidas	BPA							CPA						
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F _{global}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F _{global}
Flonicamida	0,812	0,891	0,921	0,983	0,939	0,954	0,588	0,702	0,894	0,977	0,97	0,972	0,962	0,566
Imidacloprid	0,796	0,768	0,717	0,991	0,991	0,973	0,419	0,664	0,8	0,914	0,894	1	0,926	0,402
Ciproconazol	0,52	0	0	0	0	0	0	0,59	0,943	0,872	0,961	0,952	0,932	0,413
Fludioxonil	0,488	0,838	0,937	0,802	0,995	0,938	0,258	0,525	0,285	0,919	0,834	0,980	0,971	0,208
Ciprodinil	0,893	0,816	0,693	0,624	0,979	0,871	0,269	0,771	0,855	0,847	0,726	0,865	0,9	0,316
Bupimirato	0	0	0	0	0	0	0	0,492	0,927	0,676	0,745	0,84	0,725	0,14
Cialotrína	0,684	0,873	0,789	0	0	0	0	0,808	0,312	1,074	0,948	1	1	0,318

$$F_1 = M_2/M_1; F_2 = M_3/M_2; F_3 = M_4/M_3; F_4 = M_5/M_4; F_5 = M_6/M_5; F_6 = M_7/M_6; F_{global} = M_7/M_1$$

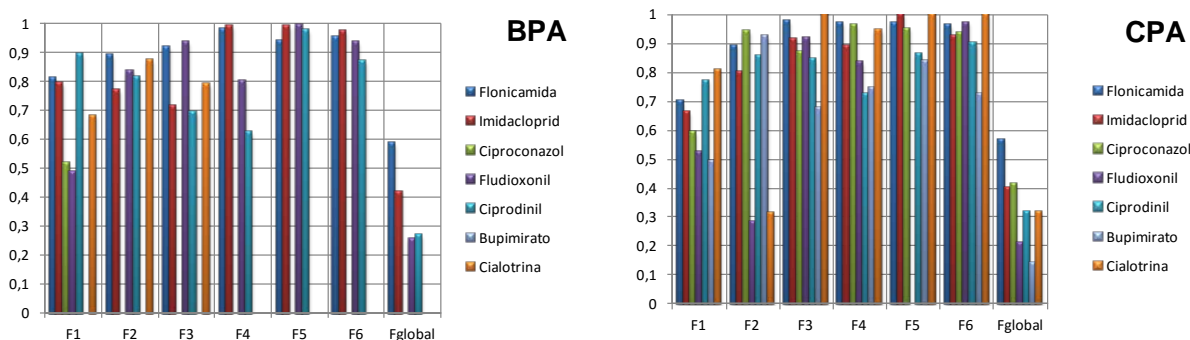


Figura 4.21. Variación de los factores de procesado en conserva de melocotón.

4.2.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.2.5.1. Efecto matriz.

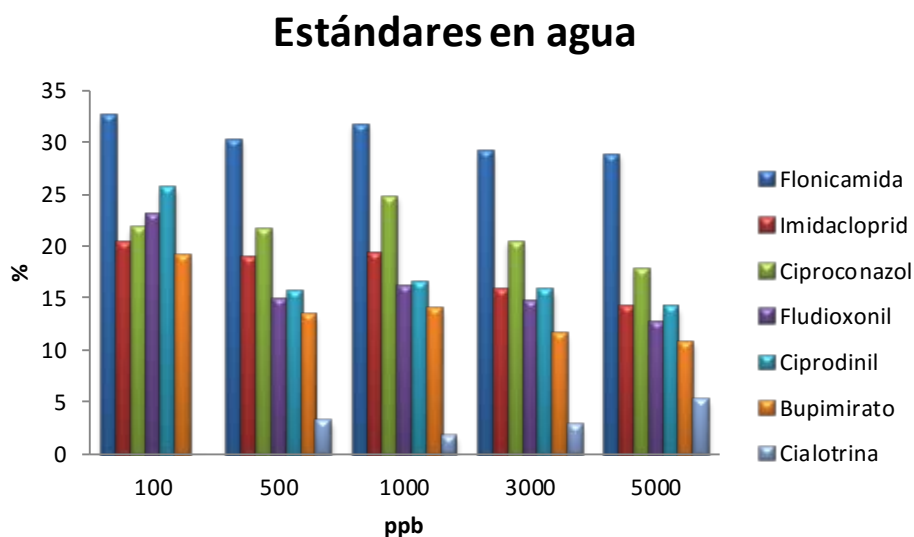
Con objeto de estudiar el posible efecto de la matriz en la capacidad de absorción estomacal de los plaguicidas, se realizó la dialización de disoluciones patrón de los plaguicidas estudiados en concentraciones crecientes (0,1-5 ppm) fortificadas en matrices de agua y melocotón en fresco.

En la Tabla 4.28., se muestran las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón de todos los plaguicidas a diferentes concentraciones, para comprobar el efecto de la concentración de materia activa en su posible absorción.

Tabla 4.28. Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en agua.

ESTÁNDARES EN AGUA							
[ppb]	Flonicamida	Imidacloprid	Ciproconazol	Fludioxonil	Ciprodinil	Bupirimato	Cialotrina
100	32,5	20,3	21,8	23,1	25,6	19,0	<10
500	151,0	94,9	108,6	74,9	77,9	67,1	16,2
1000	317,2	192,0	247,7	161,5	165,4	139,5	17,6
3000	871,9	473,4	611,1	442,2	473,0	347,1	85,1
5000	1440,7	710,5	892,9	632,9	705,1	537,3	156,5

En la Figura 4.22., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de los plaguicidas en agua estudiados.

**Figura 4.22.** Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.

Como se observa, en ningún plaguicida ni concentración ensayada, se sobrepasa el 35% dializado de la cantidad inicial. Flonicamida es el plaguicida que mayor dialización sufre a todas las concentraciones, en torno al 30%; les siguen fludioxonil y ciprodinil en la primera concentración ensayada (100 ppb) aunque para el resto de concentraciones, ciproconazol e imidacloprid presentan mayor porcentaje dializado. Cialotrina no alcanza en ningún caso el 6% dializado.

En la Tabla 4.29., se muestran las cantidades dializadas en los ensayos realizados con todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en melocotón fresco, para comprobar el efecto de la cantidad de materia activa, junto con el efecto matriz, en su posible absorción.

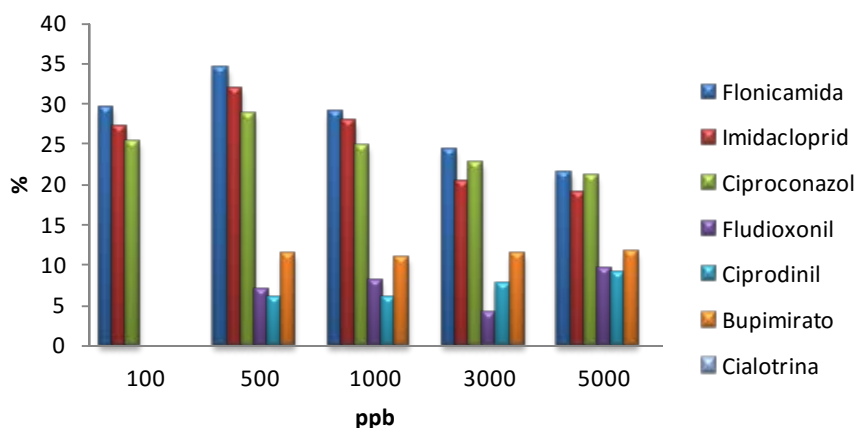
Tabla 4.29. *Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en melocotón.*

ESTÁNDARES EN MELOCOTÓN							
[ppb]	Flonicamida	Imidacloprid	Ciproconazol	Fludioxonil	Ciprodinil	Bupirimato	Cialotrina
100	29,5	27,2	25,3	0	0	0	0
500	172,5	159,5	144,2	34,9	30,0	56,2	0
1000	289,1	278,3	248,5	79,9	60,2	108,9	0
3000	727,8	610,1	678,9	121,0	225,9	339,8	0
5000	1070,2	947,1	1044,7	476,2	447,1	584,4	0

Flonicamida presenta el mayor porcentaje de dialización (34,5%), debido posiblemente a que es un insecticida sistémico y translaminar. Le sigue imidacloprid y ciproconazol, cuyos valores más altos se sitúan en torno al 30%. Fludioxonil, ciprodinil y bupirimato no superan en ningún caso el 12% de dializado. Cialotrina no presenta dialización.

En la Figura 4.23., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de estándares estudiados, en muestras de melocotón fresco.

Estándares en melocotón

**Figura 4.23.** *Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en melocotón.*

De igual manera que para el albaricoque, parece ser que la presencia de una matriz vegetal, disminuye la capacidad de dialización de los plaguicidas presentes, posiblemente debido a la estructura fibrosa de la matriz vegetal que absorbe los residuos y dificulta su dialización.

4.2.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

En la Tabla 4.30., se detallan los valores de las concentraciones de los plaguicidas estudiados en los dializados de las muestras de melocotón fresco y conserva (cremogenado), en ambas condiciones de cultivo y a los 6 meses de almacenaje.

Tabla 4.30. *Cantidades dializadas (ppb) de las muestras para los plaguicidas seleccionados.*

Plaguicidas	BPA			CPA		
	M ₁	M ₇	M ₉	M ₁	M ₇	M ₉
Flonicamida	10,4	<10	10,1	51,9	25,7	11,6
Imidacloprid	<10	<10	<10	55,8	18,5	13,3
Ciproconazol	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Fludioxonil	<10	<10	<10	24,1	11,5	<10
Ciprodinil	10,5	<10	<10	30,0	12,9	<10
Bupimirato	<10	<10	<10	14,5	<10	<10
Cialotrina	<10	<10	<10	<10	<10	<10

M₁: cosecha; M₇: pasteurizado; M₉: 6 meses.

En la Figura 4.24., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes muestras en condiciones de CPA, al ser las únicas que mantenían concentraciones cuantificables relevantes en los dializados.

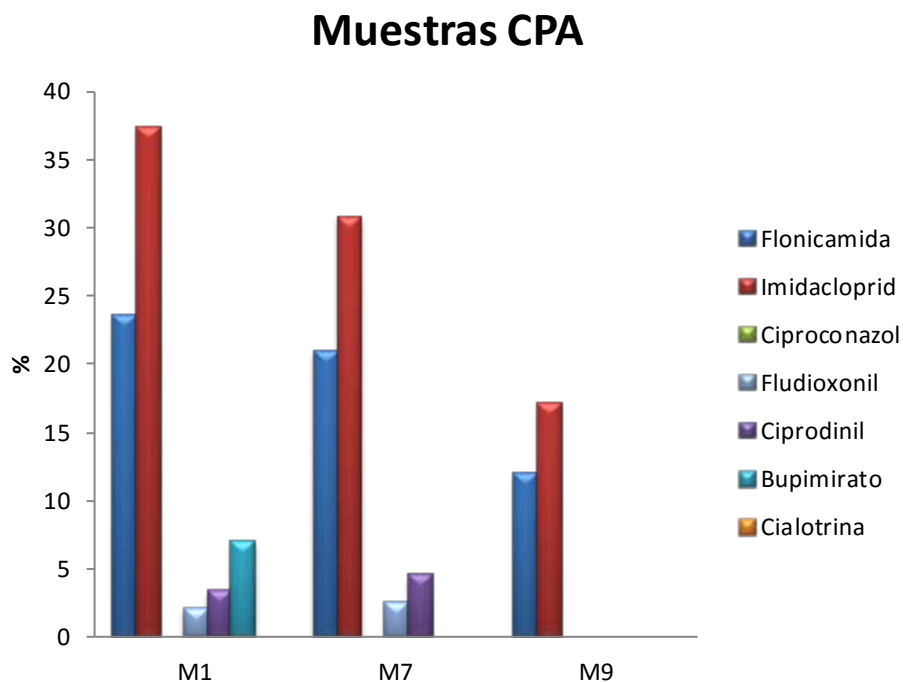


Figura 4.24. *Porcentajes dializados de melocotón de los plaguicidas respecto a sus valores residuales en las etapas de fabricación.*

Se observa que la dialización de flonicamida, imidacloprid y fludioxonil, no se ve afectada significativamente por su concentración inicial en las muestras, aunque se muestren pequeñas diferencias debido fundamentalmente a que los valores finales de los dializados se hallan muy próximos al límite de cuantificación.

4.3. ESTUDIO 3. CALABACÍN.

4.3.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA.

En la Tabla 4.31., se exponen las condiciones de análisis para cada uno de los seis plaguicidas utilizados en este estudio, tanto si se han cuantificado por LC-MS/MS o GC-MS.

Tabla 4.31. Condiciones de análisis para la matriz de calabacín

Plaguicidas	Técnica	Ion principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min.)
Imidacloprid	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 256	256 → 175	256 → 209	2,1
Dietofencarb		[M+H] ⁺ 268	268 → 226	268 → 180	6,3
Piriproxifén		[M+H] ⁺ 322	322 → 185	322 → 227	11,8
Miclobutanilo	GC-MS	179	150 - 181 - 288		9,5
Trifloxistrobin		116	131 - 132 - 222		10,5
Deltametrina		181	251 - 253 - 254		18,7

En la Tabla 4.32., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas, preparadas en matriz de calabacín.

Tabla 4.32. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en calabacín, en LC-MS/MS y GC-MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicidas	Ecuación	RSD (%)	R ²
Imidacloprid	$y = 0,008296x + 0,001926$	3,25	0,9999
Dietofencarb	$y = 973,6337x - 726,5571$	17,10	0,9999
Piriproxifén	$y = 3622,5382x + 14035,9669$	18,40	0,9999
Miclobutanil	$y = 5990x - 1310$	13,93	1,0000
Trifloxistrobin	$y = 6130x - 2060$	1,44	1,0000
Deltametrina	$y = 1860x - 1020$	3,36	1,0000

En la Figura 4.25., se exponen las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados, en ambas técnicas analíticas. En la Figura 4.26., un cromatograma de una calibración en matriz de calabacín al que se ha añadido una disolución patrón de los plaguicidas a una concentración de 10 ppb, como ejemplo de su determinación por LC-

MS/MS y en la Figura 4.27., uno realizado mediante CG-MS. En las Figuras 4.28. y 4.29., se exponen los iones analizados de los compuestos de interés en ambas técnicas.

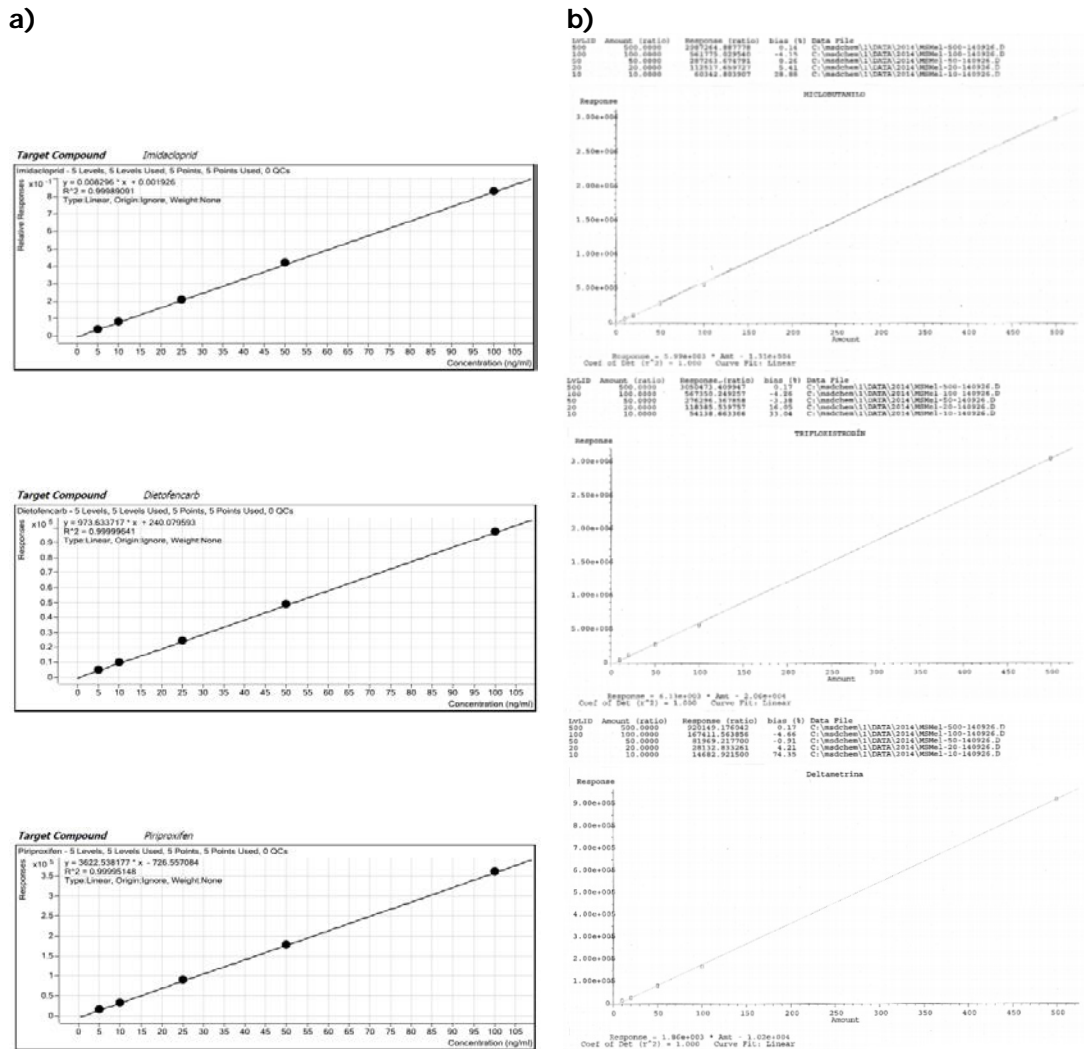


Figura 4.25. Rectas de calibrado en matriz calabacín a) LC-MS/MS y b) GC-MS.

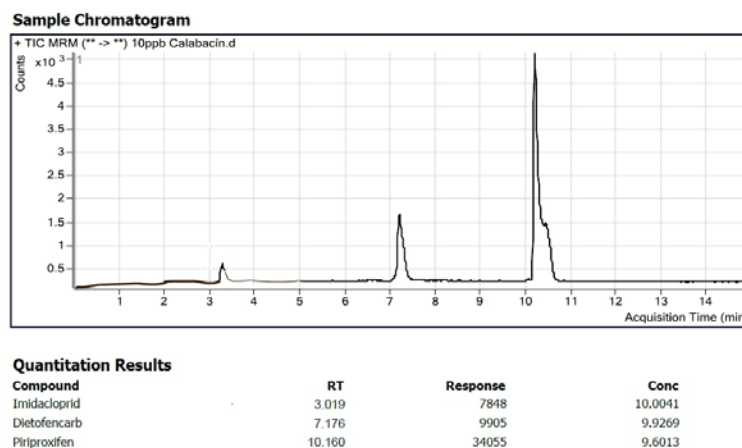


Figura 4.26. Cromatograma de una calibración en calabacín de 10 ppb en LC-MS/MS.

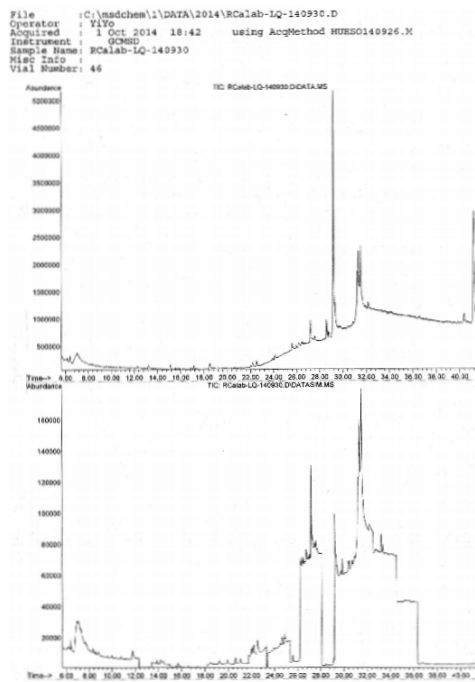


Figura 4.27. Cromatograma de una calibración en calabacín de 10 ppb en CG-MS.

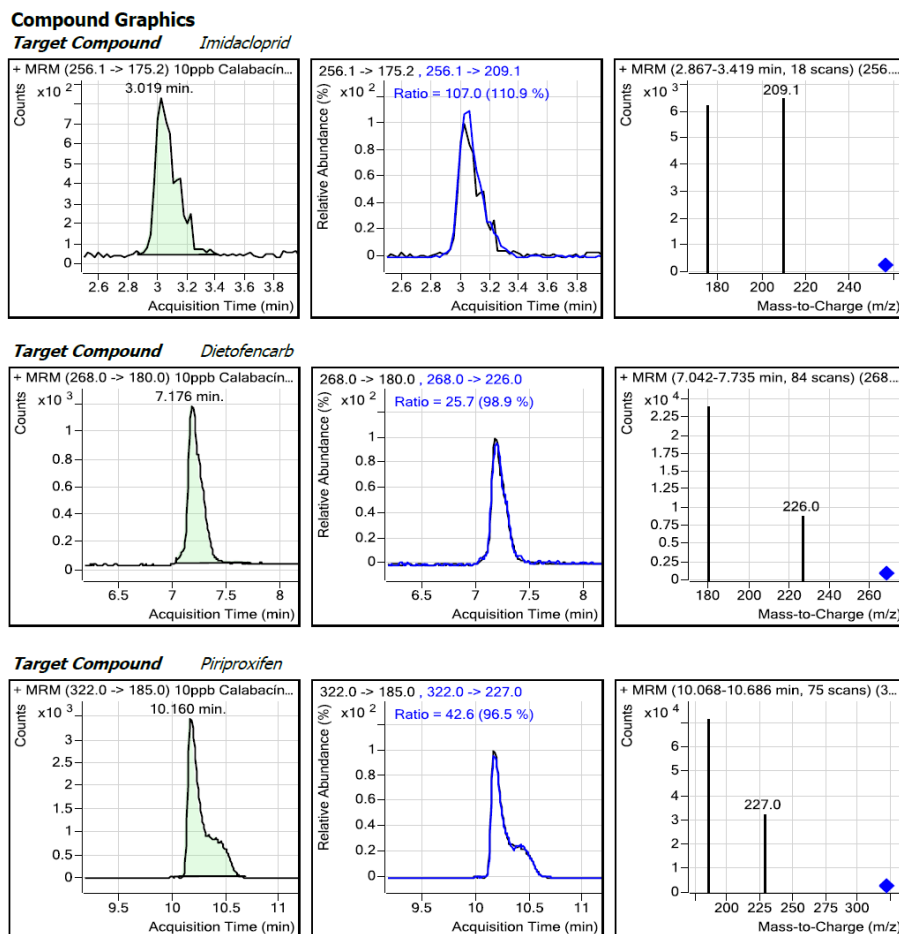


Figura 4.28. Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS.

Tabla 4.33. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en calabacín.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Imidacloprid	10,23	5,79	5,23	11,67
Dietofencarb	11,33	12,66	9,82	7,87
Piriproxifén	14,73	4,63	13,46	3,73
Miclobutanil	6,17	0,82	2,38	10,32
Trifloxistrobin	8,15	1,16	8,14	8,70
Deltametrina	8,09	1,79	14,30	6,80

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de calabacín, a dos niveles LQ y 10LQ. Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.34. y 4.35. En la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.34. Recuperaciones de las muestras de calabacín fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Imidacloprid	109,4	119 – 92	85,8	91 - 79
Dietofencarb	96,4	108 – 84	84,2	95 - 72
Piriproxifén	84,6	100 – 73	98,4	103 - 93
Miclobutanil	98,2	107 – 90	102,2	103 - 101
Trifloxistrobin	93,0	104 – 85	94,8	96 - 94
Deltametrina	100,2	110 – 92	79,0	81 - 77

Tabla 4.35. Recuperaciones de las muestras de calabacín fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Imidacloprid	99,0	105 – 92	78,8	91 - 70
Dietofencarb	92,0	105 – 81	75,2	87 - 71
Piriproxifén	94,7	114 – 75	96,0	103 - 93
Miclobutanil	96,0	98 – 92	92,5	103 - 81
Trifloxistrobin	100,3	108 – 86	92,0	105 - 83
Deltametrina	86,5	107 – 72	82,8	92 - 77

Todos los valores medios, así como los máximos-mínimos están dentro del rango aceptado en esta validación (70-120%), por lo que el método analítico establecido es adecuado para el control de estos plaguicidas en la matriz de calabacín.

4.3.2. RESIDUOS

4.3.2.1. Residuos en calabacín.

En la Tabla 4.36., se exponen los valores residuales encontrados en calabacín fresco, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas, y en la Figura 4.30., se representan gráficamente estos resultados comparándolos con su LMR.

Tabla 4.36. Residuos de los plaguicidas estudiados en calabacín fresco.

Plaguicidas	LMR	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Imidacloprid	1000	49,8	15,3
Dietofencarb	10*	98,6	<10
Piriproxifén	50*	21,8	<10
Miclobutanil	200	29,3	23,6
Trifloxistrobin	300	41,9	13,3
Deltametrina	200	<10	<10

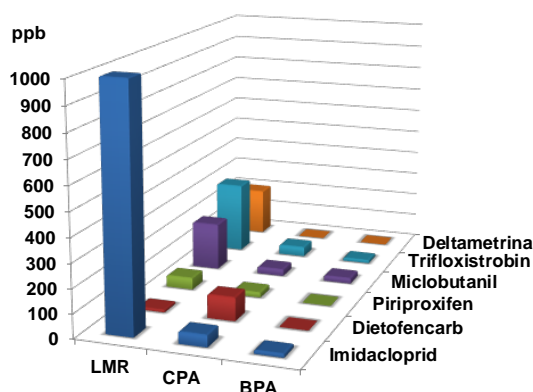
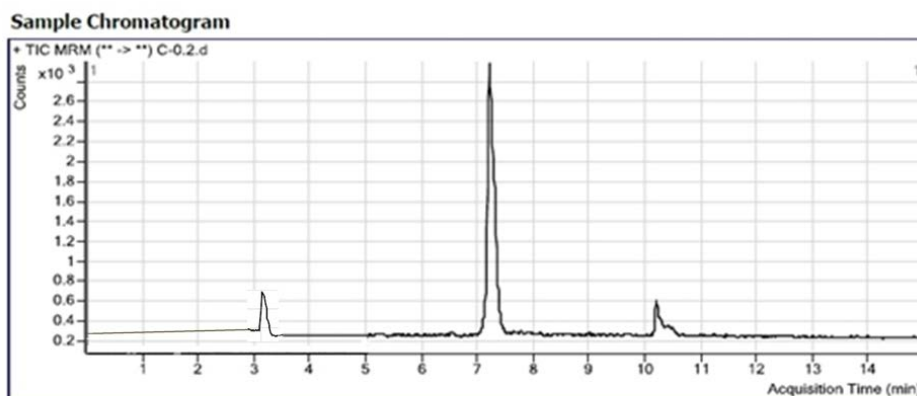


Figura 4.30. Comparación de los residuos en calabacín cultivado bajo BPA y CPA con su LMR.

Como se puede observar, sólo en el caso de dietofencarb en CPA se supera el LMR establecido para esa sustancia en esta matriz, aunque cuando el tratamiento con este compuesto se realiza en condiciones de BPA, el valor residual es inferior al LMR. En los restantes casos las cantidades residuales encontradas son inferiores a los LMR establecidos por la legislación europea.

En la Figura 4.31., se exponen dos cromatogramas de una muestra de calabacín, realizados en las dos técnicas analíticas como ejemplo.

a)



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Imidacloprid	3.094	364	0.2482
Dietofencarb	7.184	18881	19.1458
Piriproxifen	10.160	2218	0.8129

b)

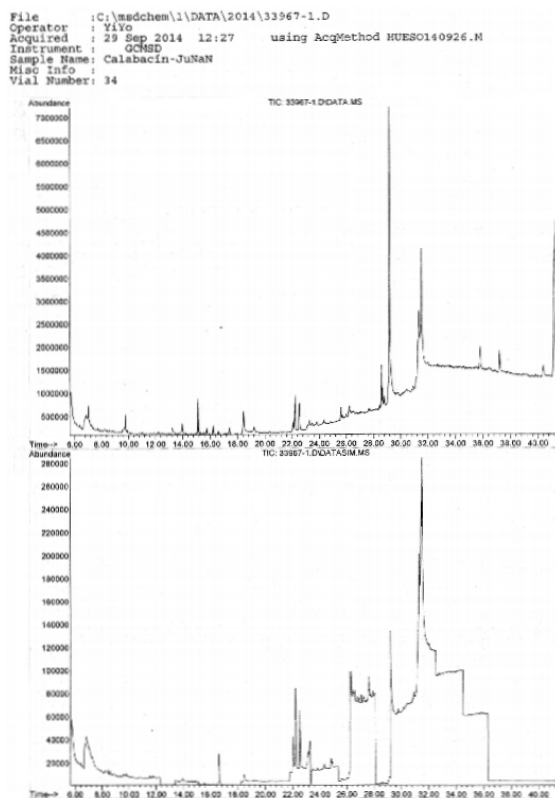


Figura 4.31. Cromatograma de una muestra de calabacín a) LC-MS/MS y b) GC-MS.

4.3.2.2. Residuos en calabacín procesado.

En la Tabla 4.37., se exponen los valores residuales encontrados tanto en cosecha (M_1) como en las diferentes etapas de fabricación de los elaborados de

conserva de calabacín. En la Figura 4.32., se representan gráficamente las variaciones entre los residuos determinados en las diferentes etapas de elaboración de calabacín congelado en ambos tipos de cultivo.

Tabla 4.37. Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de calabacín congelado.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)					
		Imidacloprid	Dietofencarb	Piriproxifén	Miclobutanil	Trifloxistrobin	Deltametrina
BPA	M ₁	15,3	<10	<10	23,6	13,3	<10
	M ₂	11,6	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₃	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₄	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₅	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₆	<10	<10	<10	<10	<10	<10
CPA	M ₁	49,8	98,6	21,8	29,3	41,9	<10
	M ₂	37,6	26,7	13,6	21,3	26,4	<10
	M ₃	36,0	26,8	<10	21,1	25,4	<10
	M ₄	28,4	20,4	<10	13,1	12,2	<10
	M ₅	19,4	18,4	<10	14,7	12,1	<10
	M ₆	18,0	15,4	<10	13,0	13,2	<10

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: Troceado; M₄: Escaldado; M₅: 15 días congelado; M₆: 30 días congelado.

En BPA, solamente imidacloprid presenta residuos cuantificables en cosecha y después del lavado (M₂); trifloxistrobin y miclobutanil únicamente en cosecha. Aunque en condiciones de CPA, la mayoría de las muestras contienen residuos de los plaguicidas estudiados, sólo para dietofencarb se supera su LMR (10 ppb). En este caso, piriproxifén no presenta residuos tras el troceado, y deltametrina desde el comienzo de la experiencia.

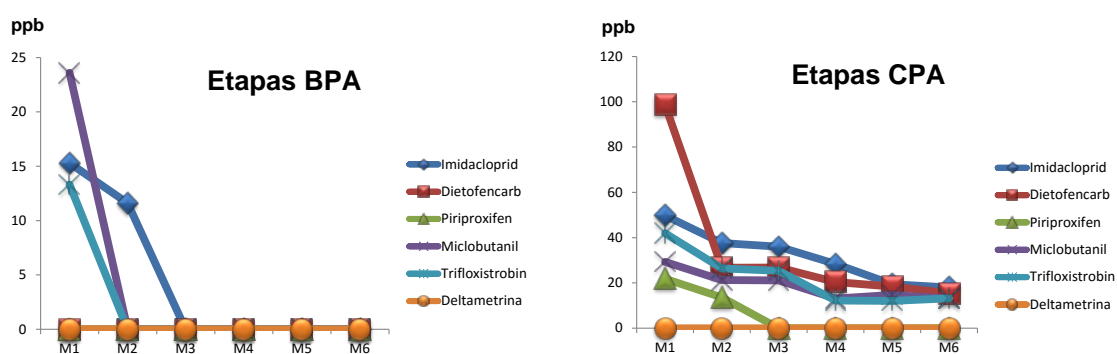


Figura 4.32. Variación de los residuos en el proceso de congelación de calabacín.

Al comparar la disminución del contenido residual con las diferentes etapas del procesado se comprueba que las de lavado y escaldado son las que mayor incidencia tienen en dicha disminución.

4.3.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE CALABACÍN.

Se realizaron los controles de calidad para la recuperación de muestras fortificadas de calabacín y su conserva a niveles de 10 ppb y 50 ppb. En la Tabla 4.38., se muestran los porcentajes de recuperación en las diferentes secuencias analíticas donde se incluyeron las diferentes etapas de elaboración.

Tabla 4.38. Porcentajes de recuperación en controles de calidad en el análisis de las diferentes etapas de fabricación de congelado de calabacín.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Imidacloprid	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₅	110	103
	M ₆	105	94,8
Dietofencarb	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₅	106	104,2
	M ₆	112	112,2
Piriproxifén	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₅	108	104
	M ₆	102	105,4
Miclobutanil	M ₁ -M ₄	114	107,4
	M ₅	100	100,8
	M ₆	110	113,4
Trifloxistrobin	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₅	99	102,2
	M ₆	104	109,4
Deltametrina	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₅	108	105,6
	M ₆	104	104,2

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: Troceado; M₄: Escaldado; M₅: 15 días congelado; M₆: 30 días congelado.

Como se puede comprobar todos los valores para todos los plaguicidas estudiados, están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

4.3.4. FACTORES DE PROCESADO.

En la Tabla 4.39., se exponen los factores de procesado calculados tanto en las muestras cultivadas bajo BPA como CPA.

En la Figura 4.33., se representa gráficamente la variación de los factores de procesado en las diferentes etapas de manipulación del calabacín para su congelación, en ambas condiciones de cultivo.

Tabla 4.39. Factores de procesado calculados en calabacín cultivados bajo BPA y CPA y sometidos al proceso de conservación.

Plaguicidas	BPA				CPA			
	F ₁	F ₂	F ₃	F _{global}	F ₁	F ₂	F ₃	F _{global}
Imidacloprid	0,76	0	0	0	0,76	0,96	0,79	0,57
Dietofencarb	0	0	0	0	0,27	1,00	0,76	0,21
Piriproxifén	0	0	0	0	0,62	0	0	0
Miclobutanil	0	0	0	0	0,73	0,99	0,62	0,45
Trifloxistrobin	0	0	0	0	0,63	0,96	0,48	0,29
Deltametrina	0	0	0	0	0	0	0	0

$$F_1 = M_2 / M_1; F_2 = M_3 / M_2; F_3 = M_4 / M_3; F_{global} = M_4 / M_1$$

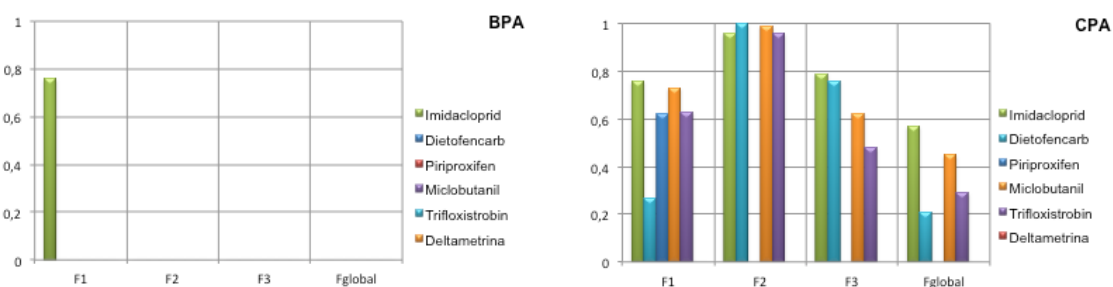


Figura 4.33. Variación de los factores de procesado de congelación de calabacín.

En condiciones de BPA, la primera etapa de lavado produce una pérdida total de residuos en la mayoría de los casos, solamente imidacloprid en la primera etapa (F1) presenta un factor de 0,76. En el caso de CPA, deltametrina no presenta residuos por encima del LQ en cosecha y para piriproxifén, tras el lavado y troceado, se eliminan todos los residuos. Por ello, estos dos productos mantienen factores de procesado globales nulos. El mayor factor de procesado lo alcanza imidacloprid cercano al 57 %.

4.3.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.3.5.1. Efecto matriz.

Con el objetivo de determinar el posible efecto matriz en el proceso de biodisponibilidad de los plaguicidas se realizó la dialización de disoluciones patrón de los plaguicidas estudiados en concentraciones crecientes 0,2 a 3 ppm en agua y extracto de calabacín.

En la Tabla 4.40., se muestran las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón de los plaguicidas en agua. La Figura 4.34., nos muestra la representación gráfica de las variaciones porcentuales de la dialización que sufre cada plaguicida teniendo en cuenta tan sólo su concentración.

Tabla 4.40. Resultados de biodisponibilidad de estándares en agua.

ESTÁNDARES EN AGUA												
[ppb]	Imidacloprid		Dietofencarb		Piriproxifén		Miclobutanil		Trifloxistrobin		Deltametrina	
	ppb	%	Ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
200	36,1	18,05	18,7	9,35	<10	0	18,9	9,45	76,3	38,15	<10	0
500	77,0	15,4	51,4	10,28	<10	0	54,9	10,98	144,8	28,96	<10	0
1000	177,8	17,78	107,2	10,72	<10	0	118,7	11,87	186,6	18,66	<10	0
2000	393,8	19,69	237,9	11,90	<10	0	286,4	14,32	326,7	16,34	<10	0
3000	777,4	25,91	370,9	12,36	17,0	0,56	493,9	16,46	588,9	19,63	<10	0

Estándares en agua

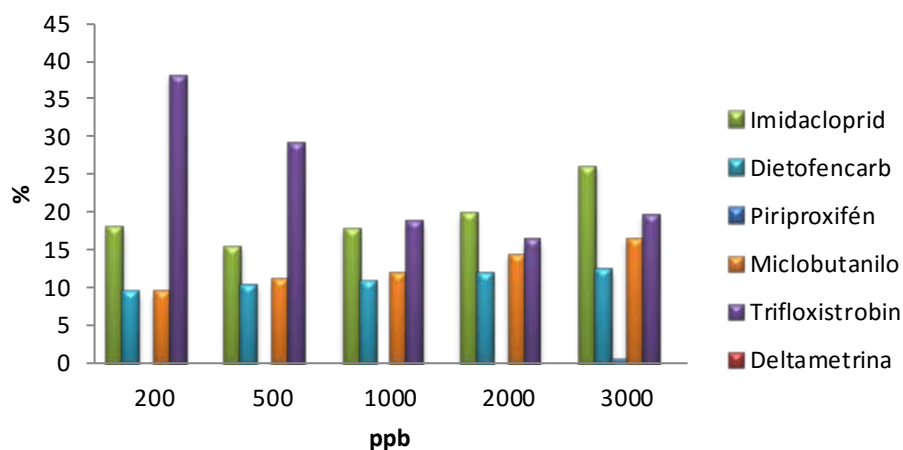


Figura 4.34. Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.

En el ensayo con estándares en agua, ningún plaguicida ni concentración ensayada, sobrepasa el 40% dializado de la cantidad inicial. La mayor dialización se da en trifloxistrobin, a las menores concentraciones; Imidacloprid, miclobutanil y dietofencarb no superan el 26% dializado, observándose un incremento en sus porcentajes dializados conforme aumenta la concentración. En el caso de deltametrina y piriproxifén el porcentaje dializado es del 0%.

En la Tabla 4.41., se muestran las cantidades de los plaguicidas dializados en los ensayos realizados con matriz de calabacín fresco a diferentes concentraciones,

pudiendo observarse el efecto de la matriz en su posible absorción, así como la influencia de la concentración de materia activa.

La Figura 4.35., nos muestra la representación gráfica de las variaciones porcentuales de la dialización que sufre cada plaguicida en la matriz de calabacín.

Tabla 4.41. Resultados de biodisponibilidad en matriz de calabacín.

ESTÁNDARES EN CALABACÍN												
[ppb]	Imidacloprid		Dietofencarb		Piriproxifén		Miclobutanil		Trifloxistrobin		Deltametrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
200	27,2	13,6	27,8	13,9	<10	0	12,9	6,45	<10	0	<10	0
500	70,0	14,0	61,0	12,2	<10	0	28,3	5,65	<10	0	<10	0
1000	143,0	14,3	110,4	11,04	<10	0	48,5	4,85	<10	0	<10	0
2000	258,1	12,9	243,5	12,18	<10	0	101,4	5,07	<10	0	<10	0
3000	366,0	12,2	393,0	13,1	<10	0	158,7	5,29	31,2	0,62	<10	0

Estándares en calabacín

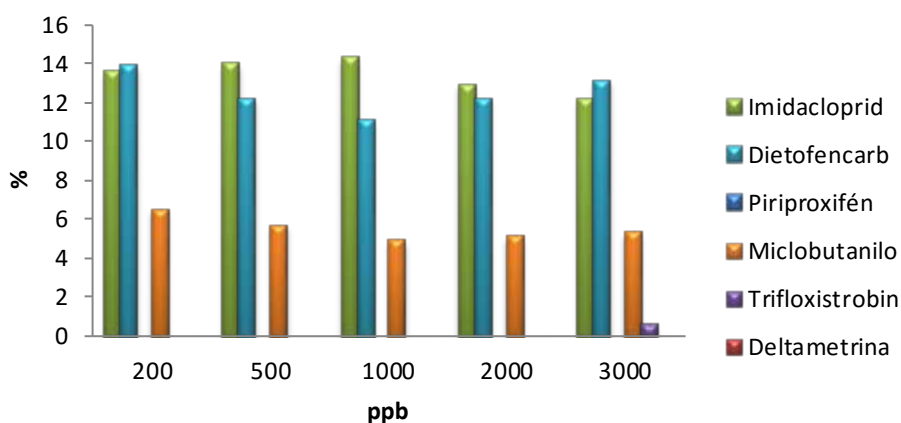


Figura 4.35. Porcentajes dializados de los plaguicidas seleccionados en calabacín.

En el caso de la matriz de calabacín fresco, los mayores porcentajes dializados (imidacloprid y dietofencarb) no alcanzan el 15% de la cantidad inicial; para el resto de los plaguicidas no se alcanza el 1%, excepto miclobutanil que llega a un 7%. La matriz de calabacín produce una disminución de los porcentajes dializados, confirmando un efecto positivo al minorizar el riesgo toxicológico. El incremento de la concentración no varía los porcentajes dializados en calabacín, aunque sí aumenta en las disoluciones estándar, excepto para trifloxistrobin que disminuye.

4.3.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

En la Tabla 4.42., se exponen los valores de los dializados en las muestras de calabacín tratadas bajo ambas condiciones (BPA y CPA). Tan sólo dietofencarb presenta una cantidad dializada próxima a su LQ en la muestra de cosecha de calabacín tratado bajo CPA.

Tabla 4.42. *Dializados en el estudio de biodisponibilidad de calabacín fresco y congelado.*

CALABACÍN (ppb)						
Muestra	Imidacloprid	Dietofencarb	Piriproxifén	Miclobutanilo	Trifloxistrobin	Deltametrina
BPA M ₁	<10	<10	<10	<10	<10	<10
CPA M ₁	<10	13,5	<10	<10	<10	<10
CPA M ₆	<10	<10	<10	<10	<10	<10

4.4. ESTUDIO 4. LECHUGA

4.4.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA

En la Tabla 4.43., se recogen las condiciones de análisis para cada plaguicida estudiado.

Tabla 4.43. *Condiciones de análisis para la matriz de lechuga.*

Plaguicidas	Técnica	Ión principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min.)
Imidacloprid	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 256	256 → 175	256 → 209	2,1
Tebufenocida		[M+H] ⁺ 353	353 → 297	353 → 203	9,8
Metalaxil	GC-MS	206	160 - 220 - 192		17,3
Tebuconazol		250	125 - 70 - 83		27,5
Cipermetrina		163	181 - 165 - 209		33,0
Azoxistrobin		344	345 - 388 - 372		36,6

En la Tabla 4.44., se muestran las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de lechuga.

En la Figura 4.36., se representan gráficamente las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados. En la Figura 4.37. y 4.38., se muestran a modo de ejemplo, los cromatogramas correspondientes a la concentración de 10 ppb de la recta de calibrado tanto en LC como en GC. Asimismo, en las Figuras 4.39., y 4.40., se

exponen la partición de iones de los compuestos de interés, tanto en LC-MS/MS, como en GC-MS.

Tabla 4.44. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en lechuga, en LC-MS/MS y GC-MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	R ²
Imidacloprid	$y = 0,2948x - 0,003771$	14,09	0,9984
Tebufenocida	$y = 4,7254x + 0,028185$	9,42	0,9998
Metalaxil	$y = 1590x - 5280$	6,48	1,0000
Tebuconazol	$y = 5010x - 24900$	5,85	1,0000
Cipermetrina	$y = 3870x - 50500$	13,98	0,9995
Azoxistrobin	$y = 6370x - 26400$	3,54	1,0000

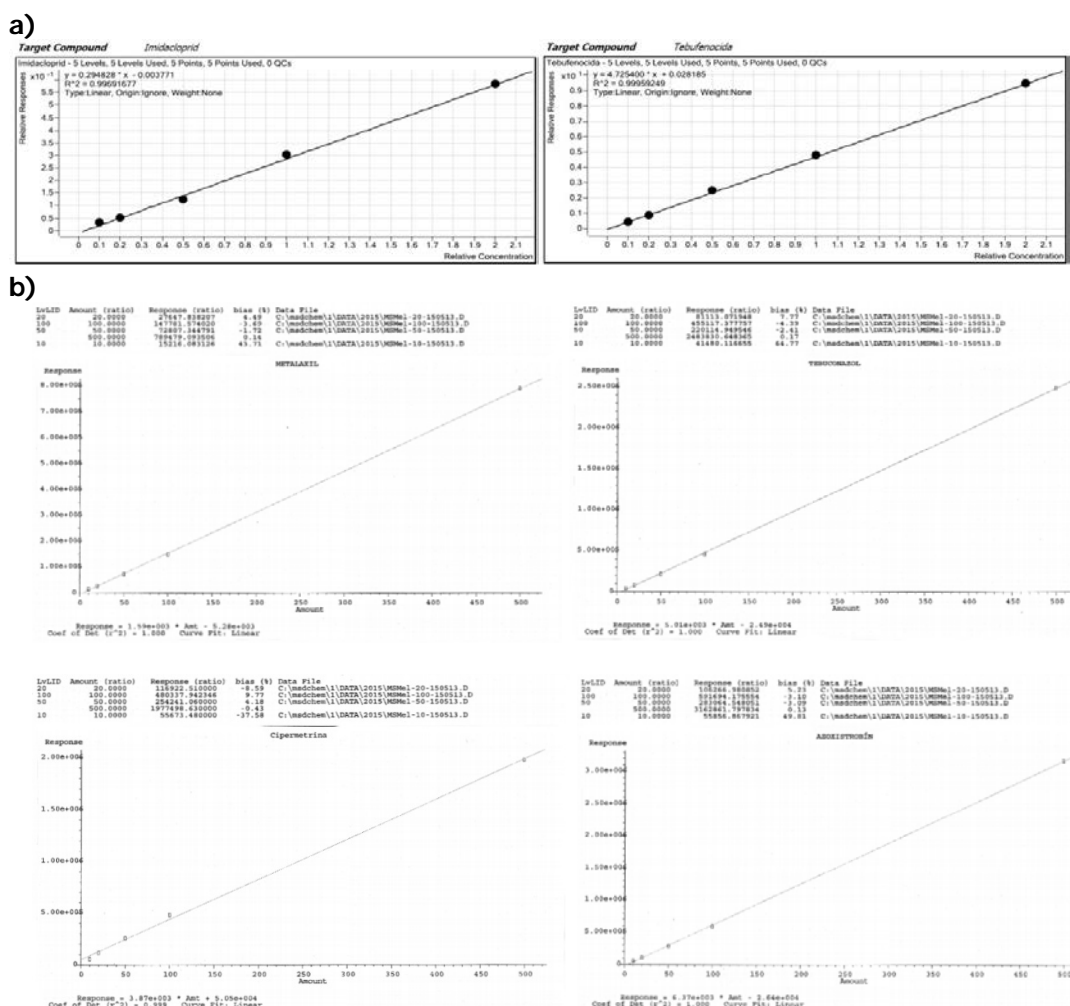
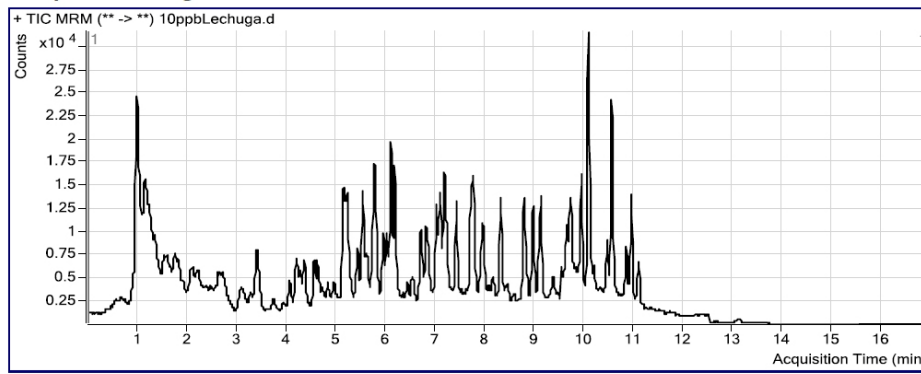


Figura 4.36. Rectas de calibrado en matriz lechuga a) LC/MS-MS y b) GC/MS.



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Imidacloprid	2.790	1358	9.8325
Tebufenocida	8.297	22569	9.2340

Figura 4.37. Cromatograma de una calibración en lechuga de 10 ppb en LC/MS-MS.

```

File       : C:\msdchem\1\DATA\2015\MSLech-10-150522.D
Operator   : YIYO
Acquired   : 22 May 2015  15:18   using AcqMethod HUESO150513.M
Instrument : GCMSD
Sample Name: MSLech-10-150522
Misc Info  :
Vial Number: 91
  
```

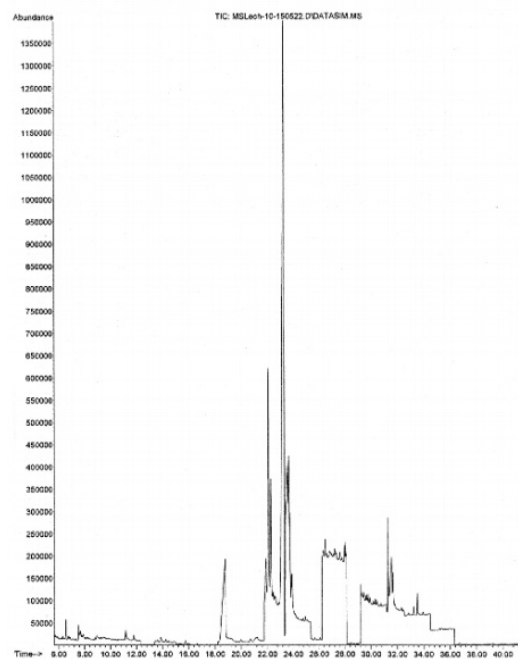


Figura 4.38. Cromatograma de una calibración en lechuga de 10 ppb en GC/MS.

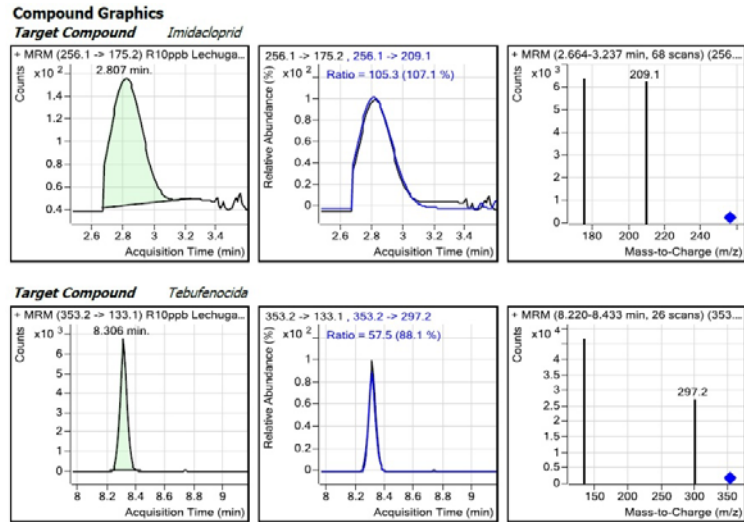


Figura 4.39. Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS.

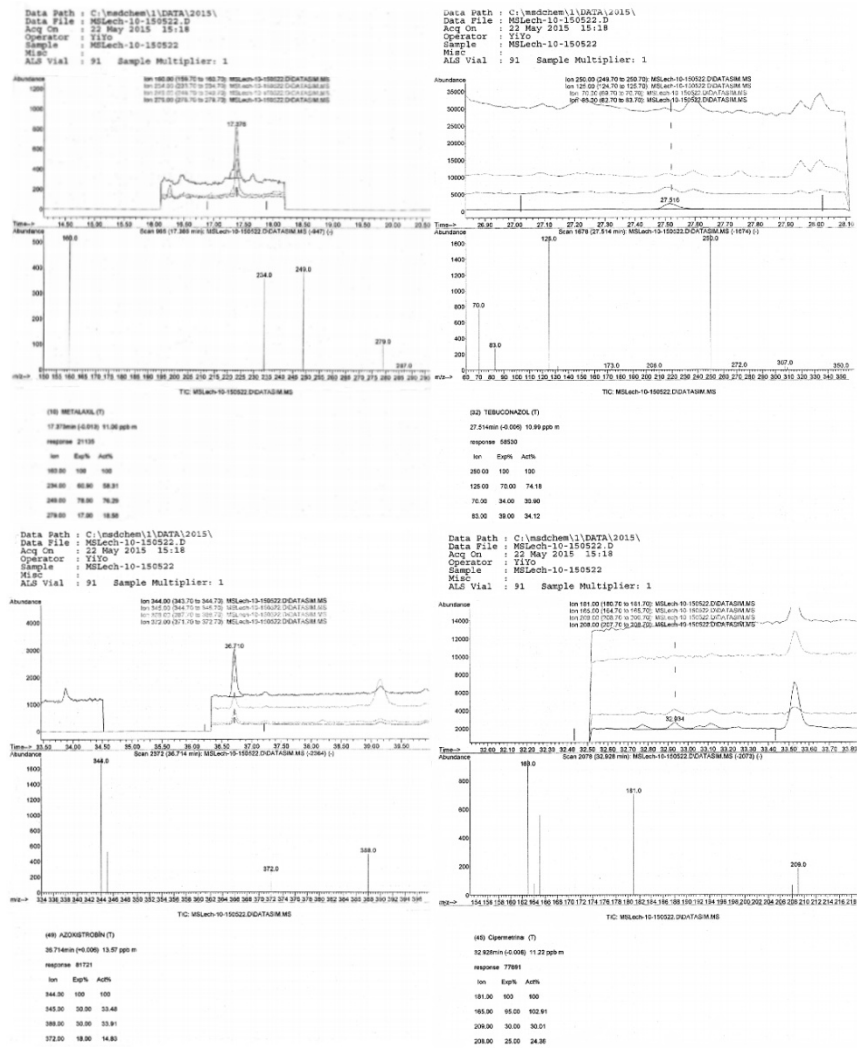


Figura 4.40. Ionización de los compuestos de interés en GC/MS.

En el estudio de la precisión del método analítico, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, realizadas por el mismo operador y con el mismo sistema analítico para repetibilidad y en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico, para reproducibilidad. En la Tabla 4.45., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos.

Tabla 4.45. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en lechuga.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Imidacloprid	7,24	2,69	5,66	4,84
Tebufenocida	9,29	4,00	11,18	12,10
Metalaxil	3,31	10,02	10,52	8,21
Tebuconazol	7,19	5,68	3,04	1,98
Cipermetrina	18,32	10,26	11,98	12,34
Azoxistrobin	12,56	7,69	8,28	4,66

Como podemos observar, los valores obtenidos para todos los plaguicidas estudiados no superan en ningún caso el 20%, criterio de aceptación y rechazo establecido *a priori*.

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de lechuga, a dos niveles de concentración (LQ y 10LQ). Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.46. y 4.47.; en la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.46. Recuperaciones de las muestras de lechuga fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Imidacloprid	91,4	102 - 86	72,4	75 - 71
Tebufenocida	80,4	91 - 73	73,8	77 - 71
Metalaxil	75,2	79 - 73	91,6	108 - 87
Tebuconazol	78,4	85 - 71	87,6	96 - 84
Cipermetrina	90,2	109 - 75	88,4	100 - 75
Azoxistrobin	79,0	93 - 71	79,8	90 - 75

En ambos casos, todos los valores medios, así como los máximos-mínimos están dentro del rango establecido como aceptable en esta validación (70-120%).

Tabla 4.47. Recuperaciones de las muestras de lechuga fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Imidacloprid	98,0	106 - 92	74,7	79 - 71
Tebuconazol	102,0	114 - 85	88,3	103 - 77
Metalaxil	85,0	92 - 75	80,2	87 - 71
Tebuconazol	79,7	83 - 77	88,7	91 - 86
Cipermetrina	101,3	113 - 79	95,8	111 - 86
Azoxistrobin	83,0	94 - 73	78,7	84 - 74

4.4.2. RESIDUOS

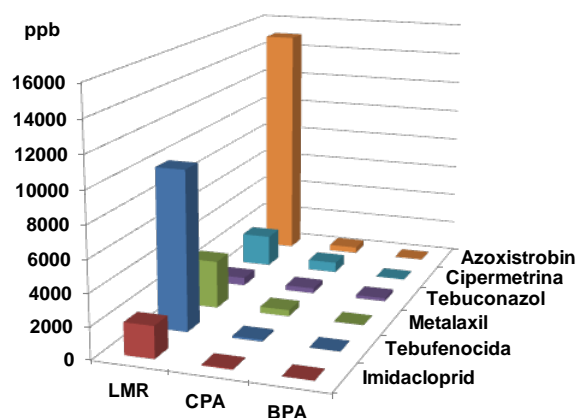
4.4.2.1. Residuos en lechuga.

En la Tabla 4.48., se exponen los valores residuales encontrados en lechuga fresca, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas. Los niveles residuales encontrados en lechuga para todos los plaguicidas son inferiores a sus LMRs establecidos, incluso en las muestras tratadas en condiciones de CPA.

Tabla 4.48. Residuos de los plaguicidas estudiados en lechuga fresca.

Plaguicidas	LMR	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Imidacloprid	2000	59,5	10,7
Tebuconazol	10000	118,5	<10
Metalaxil	3000	391,8	<10
Tebuconazol	500	319,6	202,3
Cipermetrina	2000	654,4	18,7
Azoxistrobin	15000	383,0	22,5

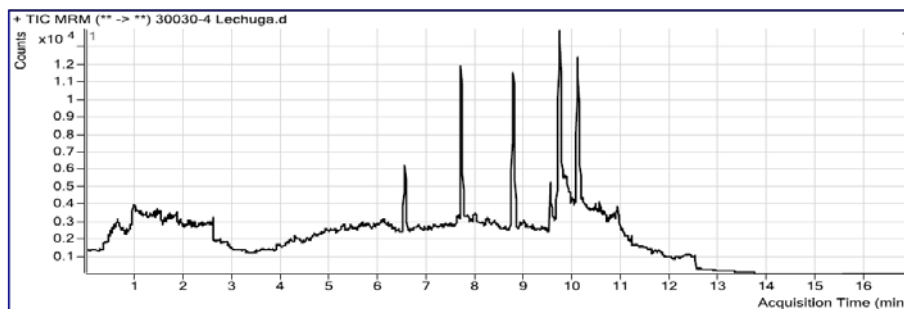
En la Figura 4.41., se representan gráficamente estos resultados.

**Figura 4.41.** Comparación de los residuos en lechuga con su LMR.

Excepto tebuconazol en CPA y BPA que tienen unos niveles residuales del 60 y 40% de su LMR, el resto se encuentran por debajo del 10 %.

En la Figura 4.42., se exponen como ejemplo los cromatogramas de una muestra de lechuga, realizados por las dos técnicas analíticas utilizadas.

a)



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Imidacloprid	2.824	1414	11.6723
Tebufenocida	8.391	67	0.0000

b)

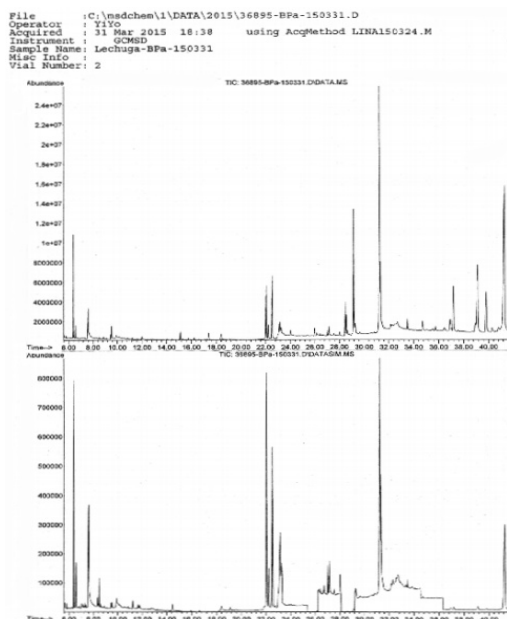


Figura 4.42. Cromatogramas de una muestra de lechuga a) LC-MS/MS y b) GC-MS.

4.4.2.2. Residuos en lechuga procesada.

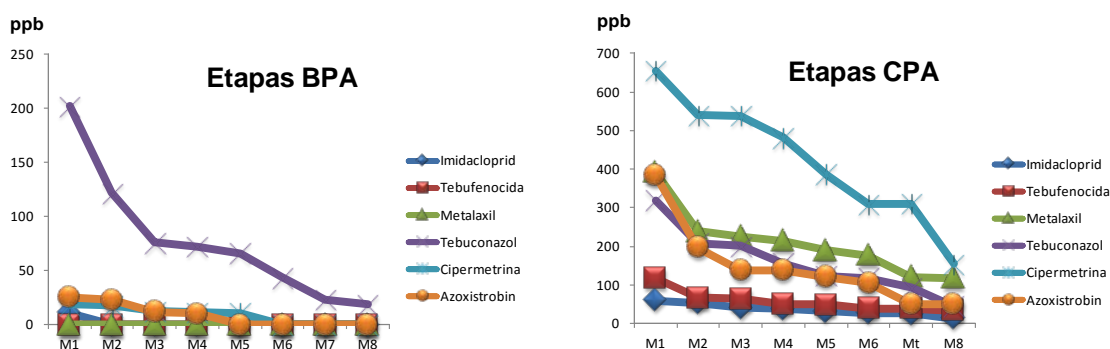
En la Tabla 4.49., se exponen los valores residuales encontrados tanto en cosecha (M_1) como en las diferentes etapas de elaboración de lechuga envasada en atmósfera modificada (producto de 4ª gama).

Tabla 4.49. Valores residuales en las diferentes etapas de elaboración de lechuga 4ª gama.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)					
		Imidacloprid	Tebufenocida	Metalaxil	Tebuconazol	Cipermetrina	Azoxistrobin
BPA	M ₁	10,7	<10	<10	202,3	18,7	25,5
	M ₂	<10	<10	<10	122,0	17,5	22,7
	M ₃	<10	<10	<10	75,7	12,6	11,6
	M ₄	<10	<10	<10	72,4	11,1	10,3
	M ₅	<10	<10	<10	65,9	10,9	<10
	M ₆	<10	<10	<10	43,6	<10	<10
	M ₇	<10	<10	<10	23,2	<10	<10
	M ₈	<10	<10	<10	18,7	<10	<10
CPA	M ₁	59,5	118,5	391,8	319,6	654,4	383,0
	M ₂	53,6	67,4	238,7	208,2	540,3	196,8
	M ₃	40,1	63,4	226,3	201,5	538,6	138,9
	M ₄	37,7	50,1	214,2	155,9	480,5	137,5
	M ₅	31,5	48,8	188,9	123,4	386,0	120,1
	M ₆	27,4	39,6	175,8	118,2	309,3	104,2
	M ₇	25,2	38,6	120,4	92,6	310,1	51,3
	M ₈	13,0	32,8	117,4	44,5	153,7	50,4

M₁: cosecha; M₂: troceado; M₃: lavado NaClO; M₄: 2ºlavado; M₅: centrifugado; M₆: envasado 5 días; M₇: envasado 10 días; M₈: envasado 15 días.

En la Figura 4.43., se representan gráficamente las variaciones de los valores residuales en las diferentes etapas de preparación de lechuga 4ª gama, en ambas condiciones de cultivo (BPA y CPA).

**Figura 4.43.** Variación de los residuos en el proceso de preparación de lechuga 4ª gama.

Podemos observar que las diferentes etapas del procesado influyen de manera análoga para todas las materias activas, con una acusada disminución de la concentración residual sobre todo en las etapas de troceado y lavado con hipoclorito sódico.

Aunque existen valores residuales en la muestra final, después de 15 días de almacenaje refrigerado, sobre todo en las muestras procedentes de tratamiento CPA, ninguno de ellos supera su LMR establecido por la legislación europea para lechuga en fresco.

4.4.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE LECHUGA.

Con el objeto de comprobar la robustez del método analítico se realizaron controles de calidad en muestras fortificadas con disoluciones patrón de los plaguicidas estudiados a las concentraciones de 10 y 50 ppb; controles que fueron incluidos en las secuencias de análisis de las distintas muestras de las etapas de elaboración.

En la Tabla 4.50., se muestran los porcentajes de recuperación de estas fortificaciones, comprobándose que todos están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

Tabla 4.50. *Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de lechuga.*

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Imidacloprid	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₅	110	103
	M ₆	105	94,8
Tebufenocida	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₅	108	105,6
	M ₆	104	104,2
Metalaxil	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₅	106	104,2
	M ₆	112	112,2
Tebuconazol	M ₁ -M ₄	114	107,4
	M ₅	100	100,8
	M ₆	110	113,4
Cipermetrina	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₅	108	104
	M ₆	102	105,4
Azoxistrobin	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₅	99	102,2
	M ₆	104	109,4

M₁: cosecha; M₂: troceado; M₃: lavado NaClO; M₄: 2ºlavado; M₅: centrifugado; M₆: envasado 5 días.

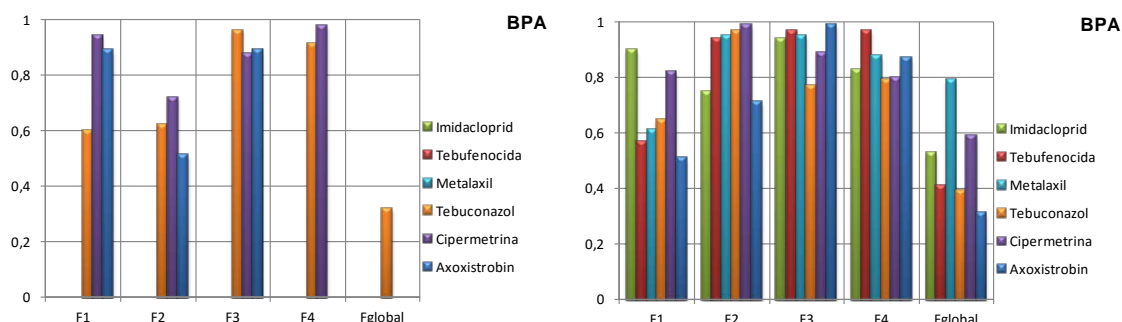
4.4.4. FACTORES DE PROCESADO.

En la Tabla 4.51., se exponen los factores de transferencia calculados tanto en las muestras tratadas bajo BPA como CPA y en la Figura 4.44., se representan gráficamente sus variaciones durante la manipulación de las lechugas de ambos tratamientos.

Tabla 4.51. Factores de procesado calculados en lechuga tratados bajo BPA y CPA.

Plaguicidas	BPA					CPA				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F _{global}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F _{global}
Imidacloprid	0	0	0	0	0	0,9	0,75	0,94	0,83	0,53
Tebufenocida	0	0	0	0	0	0,57	0,94	0,97	0,97	0,41
Metalaxil	0	0	0	0	0	0,61	0,95	0,95	0,88	0,79
Tebuconazol	0,6	0,62	0,96	0,91	0,32	0,65	0,97	0,77	0,79	0,39
Cipermetrina	0,94	0,72	0,88	0,98	0	0,82	0,99	0,89	0,8	0,59
Azoxistrobin	0,89	0,51	0,89	0	0	0,51	0,71	0,99	0,87	0,31

F₁: M₂/M₁; F₂: M₃/M₂; F₃: M₄/M₃; F₄: M₅/M₄; F_{global}: M₅/M₁

**Figura 4.44.** Variación de los factores de procesado de lechuga 4º gama.

Los factores de procesado globales de todos los plaguicidas para la elaboración completa de las lechugas, tratadas bajo BPA, como producto de cuarta gama son cero, excepto para tebuconazol con un factor de 0,32. Cuando las muestras se obtuvieron bajo tratamiento CPA se observa que para todos los plaguicidas estudiados los factores globales oscilan entre 0,31 y 0,79, lo que significa que aproximadamente la mitad de la carga residual de la lechuga en fresco, desaparece durante la elaboración de 4º gama.

4.4.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

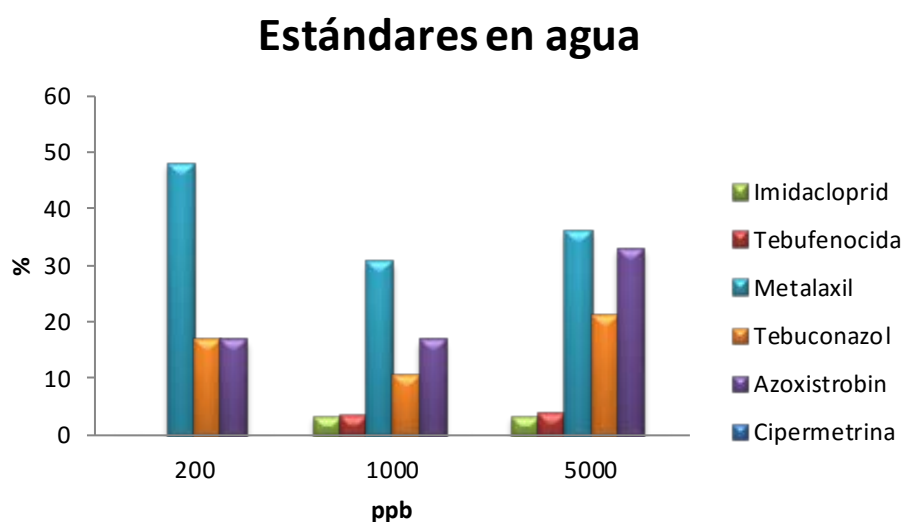
4.4.5.1. Efecto matriz.

En primer lugar, se comprueba el posible efecto matriz en la biodisponibilidad de los plaguicidas utilizados en los tratamientos de la lechuga mediante la dialización de disoluciones patrón a diferentes concentraciones (200, 1000 y 5000 ppb) en agua y lechuga. En la Tabla 4.52., se muestran las cantidades dializadas en el ensayo de estándares en agua.

Tabla 4.52. Resultados de biodisponibilidad en estándares.

ESTÁNDARES EN AGUA													
[ppb]	Imidacloprid		Tebufenocida		Metalaxil		Tebuconazol		Azoxistrobin		Cipermetrina		
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	
200	<10	0	<10	0	95,8	47,9	33,6	16,8	33,5	16,75	<10	0	
1000	32,6	3,26	33,5	3,35	305,9	30,59	106,3	10,63	168,1	16,81	<10	0	
5000	164,1	3,28	197,3	3,95	1799,8	35,99	493,9	9,88	1643,1	32,86	<10	0	

En la Figura 4.45., se muestra la representación gráfica de las variaciones porcentuales de la dialización que sufre cada plaguicida en agua teniendo en cuenta tan sólo su concentración.

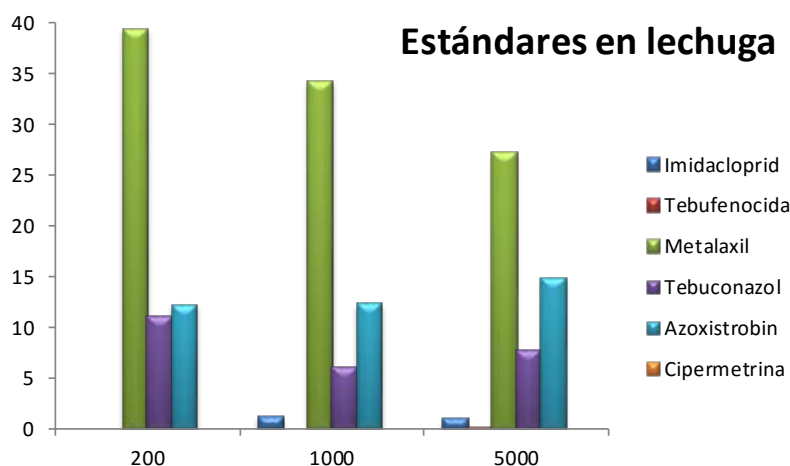
**Figura 4.45.** Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.

De los resultados obtenidos se observa que para ninguna de las concentraciones ensayadas se produce dialización de cipermetrina. Metalaxil, tebuconazol y azoxistrobin sufren dialización a todas las concentraciones, mientras que imidacloprid y tebufenocida sólo a partir de 1000 ppm. Los mayores porcentajes de dialización se producen en metalaxil y azoxistrobin aunque no superan el 50%.

En la Tabla 4.53., se muestran los valores y porcentajes dializados de los plaguicidas en lechuga y en la Figura 4.46., se representan los porcentajes de dialización de los plaguicidas en lechuga, teniendo en cuenta la concentración añadida.

Tabla 4.53. Resultados de biodisponibilidad en lechuga.

ESTÁNDARES EN LECHUGA												
[ppb]	Imidacloprid		Tebufenocida		Metalaxil		Tebuconazol		Azoxistrobin		Cipermetrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
200	<10	0	<10	0	78,8	39,4	21,9	10,95	24,4	12,2	<10	0
1000	12,1	1,21	<10	0	342,8	34,28	60,9	6,09	122,9	12,29	<10	0
5000	55	1,1	10,3	0,21	1358,6	27,17	382,1	7,64	746,6	14,93	<10	0

**Figura 4.46.** Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en matriz de lechuga.

El comportamiento de los plaguicidas en matriz de lechuga a las distintas concentraciones es similar al que se da en el agua. Ahora bien, los valores absolutos son inferiores en presencia de lechuga lo que indica que los componentes de la lechuga bloquean o reducen la capacidad de absorción de la membrana y por ello los porcentajes dializados son inferiores.

4.4.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

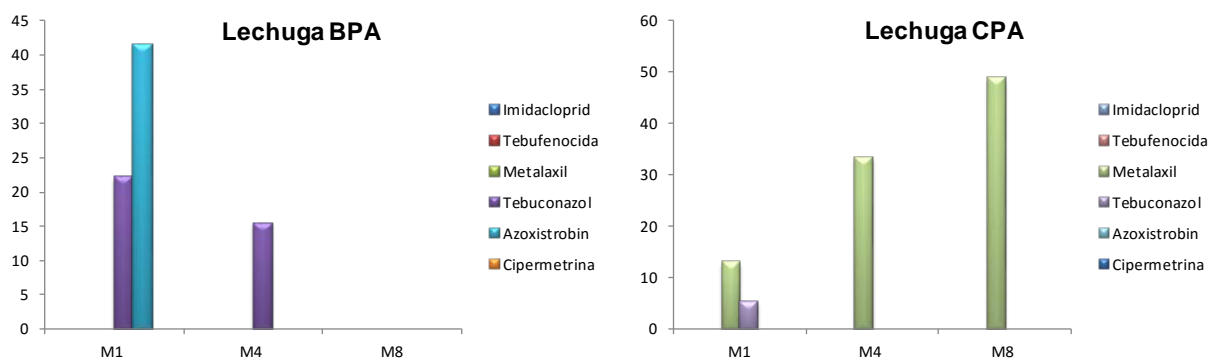
En la Tabla 4.54., se exponen los valores de los dializados en las muestras de lechuga tratadas en ambas condiciones (BPA y CPA), tanto en cosecha (M_1), lechuga lavada (M_4) como envasada 15 días (M_8), como muestras más representativas de la ingestión normal de esta hortaliza.

En la Figura 4.47., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes muestras en ambas condiciones.

Tabla 4.54. Resultados de biodisponibilidad en lechuga procesada.

LECHUGA													
Tratamiento	Muestra	Imidacloprid		Tebufenocida		Metalaxil		Tebuconazol		Azoxistrobin		Cipermetrina	
		ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
BPA	M ₁	<10	0	<10	0	<10	0	44,7	22,09	10,6	41,57	<10	0
	M ₄	<10	0	<10	0	<10	0	11,2	15,47	<10	0	<10	0
	M ₈	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
CPA	M ₁	<10	0	<10	0	50,7	12,94	17,2	5,38	<10	0	<10	0
	M ₄	<10	0	<10	0	71,49	33,37	<10	0	<10	0	<10	0
	M ₈	<10	0	<10	0	57,2	48,72	<10	0	<10	0	<10	0

M₁: cosecha; M₄: 2ºlavado; M₈: envasado 15 días.

**Figura 4.47.** Porcentajes dializados de los plaguicidas en lechuga procesada.

Se comprueba que, en la lechuga cultivada bajo BPA, tan sólo azoxistrobin presenta dialización en la muestra original M₁ (41,57%) y tebuconazol en las muestras M₁ y M₄, no sobrepasando el 23%. En el caso de las plantas cultivadas en condiciones críticas, CPA, tebuconazol únicamente presenta una ligera dialización en la muestra original M₁; en esta modalidad de cultivo y posiblemente debido a los altos niveles de metalaxil en las muestras, es el único fungicida que mantiene porcentajes de dialización en todas las muestras.

Conviene señalar que, en las determinaciones de los niveles presentes en los dializados, nos encontramos con valores que en el caso más alto suponen siete veces su límite de cuantificación y por tanto, dada la incertidumbre admitida del método, las diferencias halladas en estas determinaciones, no pueden considerarse significativas.

4.5. ESTUDIO 5. TOMATE.

4.5.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA

En la Tabla 4.55., se exponen las condiciones de análisis para cada plaguicida.

Tabla 4.55. Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de tomate.

Plaguicidas	Técnica	Ión principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min.)
Pimetrocina	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 217,9	217,9 → 105	217,9 → 78	0,976
Kresoxim-metil		[M+H] ⁺ 314,1	314,1 → 267	314,1 → 206,1	8,619
Difenoconazol		[M+H] ⁺ 406,1	406,1 → 251	406,1 → 337	8,715
Indoxacarb		[M+H] ⁺ 528	528 → 203	528 → 55,9	9,426
Piriproxifén		[M+H] ⁺ 322,0	322,0 → 185	322,0 → 227	10,139

En la Tabla 4.56., se muestran las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de tomate.

Tabla 4.56. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de tomate, analizados en LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	R ²
Pimetrocina	$y = 3,575351x + 0,021627$	2,97	0,9999
Kresoxim-metil	$y = 0,900302x + 0,006975$	0,80	0,9995
Difenoconazol	$y = 2,444483x + 0,008998$	2,52	0,9999
Indoxacarb	$y = 0,561246x - 0,004606$	0,46	0,9999
Piriproxifén	$y = 3,3393380x + 0,013437$	2,93	0,9997

En la Figura 4.48., se representan gráficamente las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados. En la Figura 4.49., un cromatograma de una calibración en matriz de tomate al nivel de 10 ppb, como ejemplo y en la Figura 4.50., la ruptura iónica de los compuestos de interés.

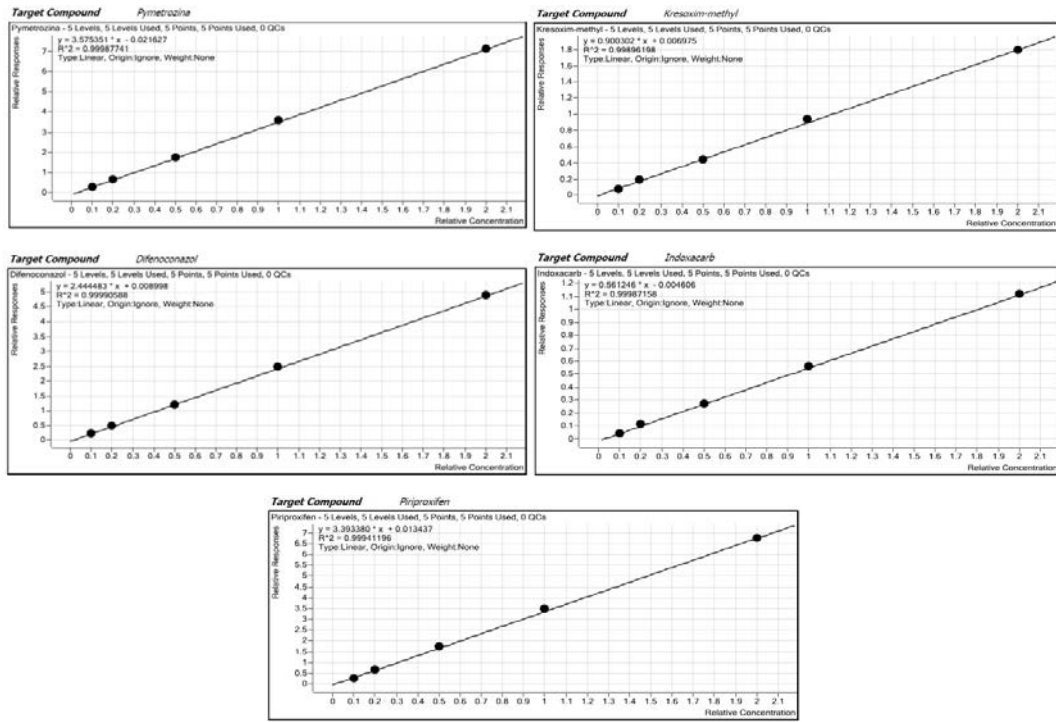
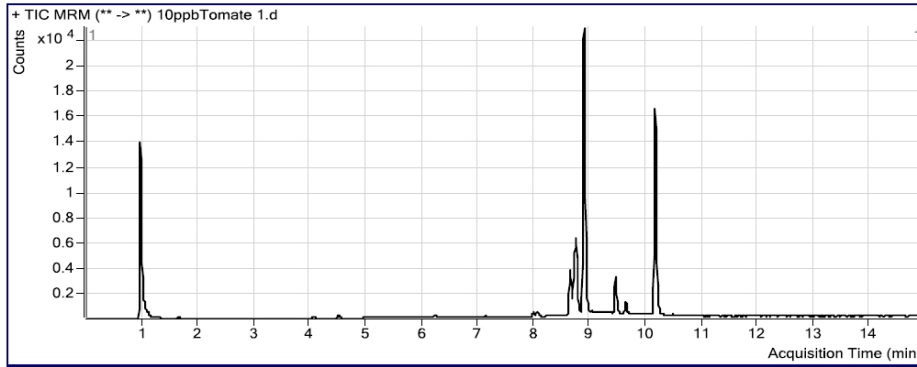


Figura 4.48. Rectas de calibrado en matriz tomate.

Sample Chromatogram



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Pymetrozina	0.959	32878	9.8075
Kresoxim-methyl	8.635	9330	10.3247
Difenconazol	8.732	23850	9.9010
Indoxacarb	9.443	5501	10.5420
Piriproxfen	10.147	32945	9.8374

Figura 4.49. Cromatograma de una calibración en tomate de 10 ppb.

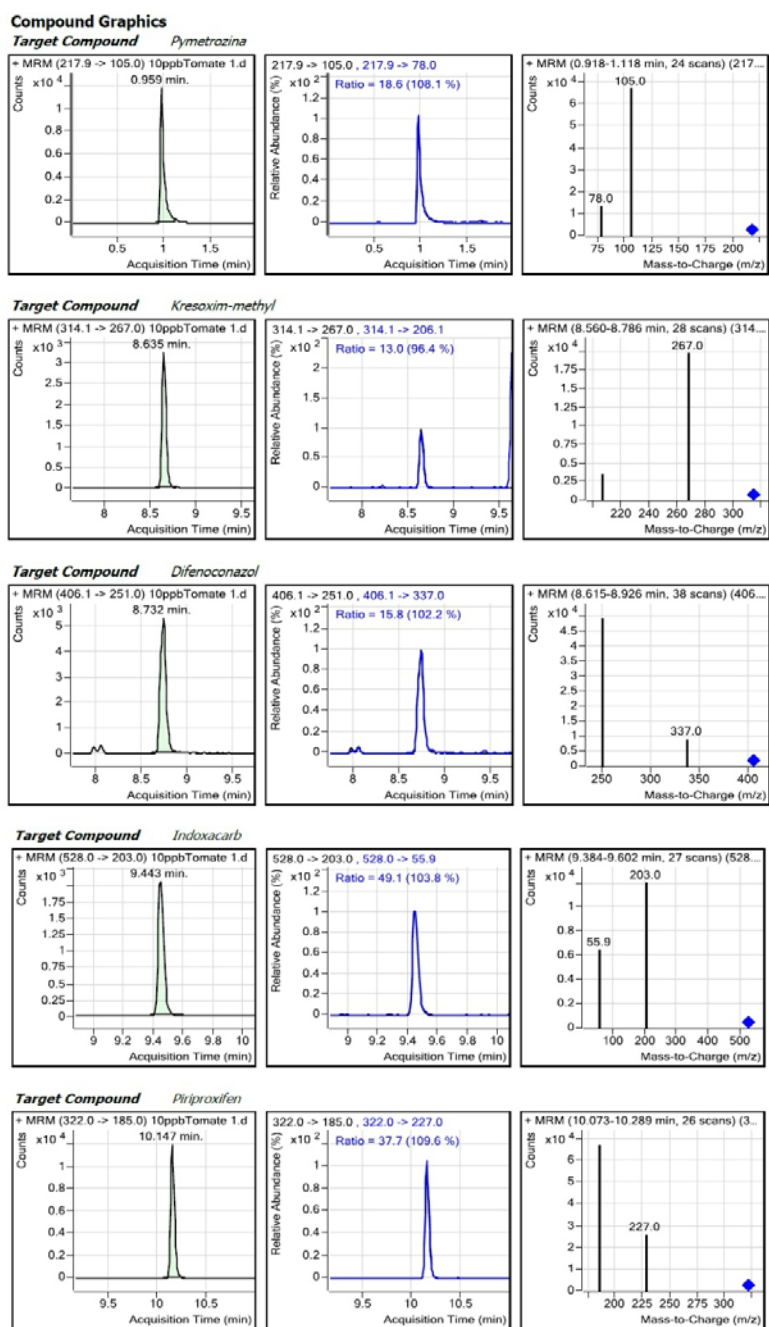


Figura 4.50. Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS.

En el estudio de la precisión del método analítico, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, por el mismo operador y el mismo sistema analítico para establecer repetibilidad y en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico, para reproducibilidad.

En la Tabla 4.57., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos. Como podemos observar, los valores obtenidos no superan en ningún caso el 20%, límite de aceptación fijado por nosotros.

Tabla 4.57. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en tomate.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Pimetrocina	5,80	2,91	5,64	10,43
Indoxacarb	2,14	2,30	5,01	1,76
Piriproxifén	4,31	2,92	4,77	2,85
Kresoxim-metil	3,25	2,03	2,76	3,00
Difenoconazol	1,54	2,49	1,32	2,34

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de tomate, a dos niveles de concentración (LQ y 10LQ). Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.58. y 4.59. En la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.58. Recuperaciones de las muestras de tomate fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Pimetrocina	107,8	120 - 102,4	95,5	99,5 - 93,7
Indoxacarb	113,5	117 - 111	112,3	116 - 109
Piriproxifén	94,7	99 - 89	98,5	103 - 95
Kresoxim-metil	90,7	95 - 87	96,7	100 - 95
Difenoconazol	92,0	94 - 90	90,3	94 - 88

Tabla 4.59. Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Pimetrocina	110,8	120 - 105,4	85,2	98,6 - 76,1
Indoxacarb	111,8	117 - 104	110,2	113 - 108
Piriproxifén	94,2	99 - 89	98,3	103 - 95
Kresoxim-metil	92,8	96 - 90	92,8	96 - 89
Difenoconazol	92,5	93 - 90	88,5	92 - 87

En ambos casos, todos los valores medios, así como los máximos-mínimos están dentro del rango aceptado en esta validación (70-120%).

4.5.2. RESIDUOS

4.5.2.1. Residuos en tomate.

En la Tabla 4.60., se exponen los valores residuales encontrados en tomate fresco, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas.

Tabla 4.60. Residuos de los plaguicidas estudiados en tomate fresco.

Plaguicidas	LMR	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Pimetrocina	500	<10	<10
Indoxacarb	500	<10	<10
Piriproxifén	1000	<10	<10
Kresoxim-metil	600	<10	<10
Difenoconazol	2000	23,0	<10

Debemos señalar la ausencia de residuos de los plaguicidas estudiados en ambos tipos de cultivo, excepto para difenoconazol, que en las condiciones más críticas alcanza un valor de 1/100 de su LMR.

En la Figura 4.51., se muestra un cromatograma de una muestra de tomate, sin residuos cuantificables.

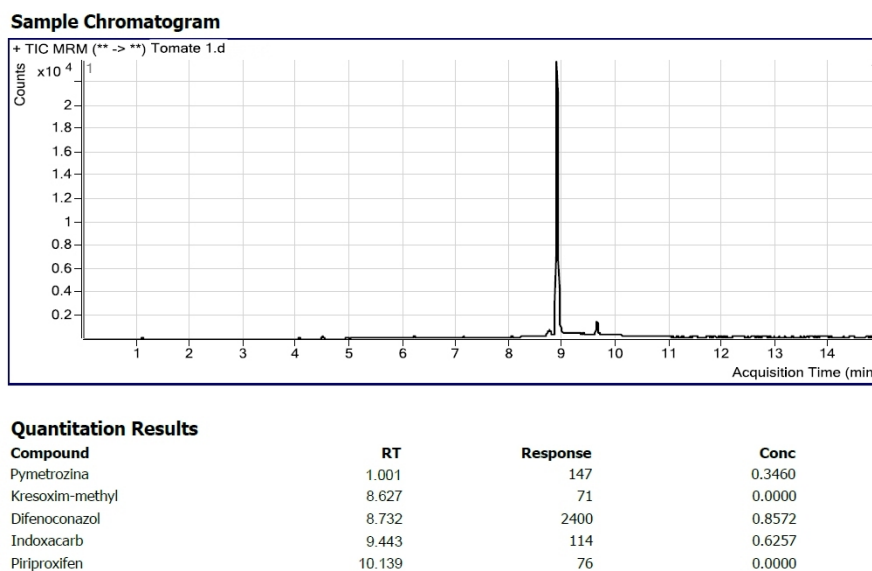


Figura 4.51. Cromatograma de una muestra de tomate.

4.5.2.2. Residuos en tomate procesado.

A pesar de la ausencia de residuos cuantificables en las muestras de cosecha, se realizaron las determinaciones en las diferentes etapas de fabricación de conserva de tomate, partiendo del tomate de cosecha (Tabla 4.61.).

Tabla 4.61. Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de conserva de tomate.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)				
		Pimetrocina	Indoxacarb	Piriproxifén	Kresoxim-metil	Difenoconazol
BPA	M ₁	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₂	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₃	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₄	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₅	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₆	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₇	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₈	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₉	<10	<10	<10	<10	<10
CPA	M ₁	<10	<10	<10	<10	23,0
	M ₂	<10	<10	<10	<10	18,8
	M ₃	<10	<10	<10	<10	14,3
	M ₄	<10	<10	<10	<10	11,7
	M ₅	<10	<10	11,1	<10	10,8
	M ₆	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₇	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₈	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₉	<10	<10	<10	<10	<10

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃: Troceado; M₄: Escaldado; M₅: Triturado; M₆: Embotado; M₇: Esterilizado; M₈: Almacenado 3 meses; M₉: Almacenado 6 meses

Como se puede observar, tan sólo difenoconazol y en el tratamiento bajo CPA, presenta residuos cuantificables durante las cinco primeras etapas del procesado, llegando en la cuarta prácticamente a su LQ; por esta razón se obvia la representación gráfica de la evolución de los residuos a lo largo de la fabricación de conserva de tomate.

4.5.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE TOMATE.

Se realizaron los controles de calidad para la recuperación de muestras fortificadas de tomate a niveles de 10 ppb y 50 ppb, que fueron incluidas en las secuencias de análisis. En la Tabla 4.62., se muestran los porcentajes de recuperación en las diferentes etapas de elaboración analizadas.

Tabla 4.62. Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de tomate.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Pimetrocina	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₅	108	104
	M ₆	102	105,4
Indoxacarb	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₅	108	105,6
	M ₆	104	104,2
Piriproxifén	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₅	110	103
	M ₆	105	94,8
Kresoxim-metil	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₅	99	102,2
	M ₆	104	109,4
Difenoconazol	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₅	106	104,2
	M ₆	112	112,2

M₁: cosecha; M₂: lavado agua; M₃ Troceado; M₄: Escaldado; M₅: Triturado; M₆: Embotado;

Como se puede comprobar todos los valores para todos los plaguicidas estudiados, están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

4.5.4. FACTORES DE PROCESADO.

Dado que sólo difenoconazol presenta residuos en las primeras etapas de la fabricación de la conserva, se exponen a continuación sus factores de procesado, señalando que para todos los demás casos los factores son cero.

Así, los factores de procesamiento para difenoconazol son:

$$F_1 (M_2/M_1)=0,82 \quad F_2 (M_3/M_2)=0,76 \quad F_3 (M_4/M_3)=0,82 \quad \text{y} \quad F_4 (M_5/M_4)=0,92$$

Como se puede observar, estos valores indican una muy pequeña desaparición de los ya bajos residuos de este fungicida en el tomate. El factor global es cero, ya que los residuos en la fase de embotado son menores del LQ (<10 ppb).

4.5.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.5.5.1. Efecto matriz.

El estudio del efecto matriz con ensayos de biodisponibilidad de los plaguicidas estudiados se ha realizado, como en los casos anteriores, comparando la dialización de diferentes concentraciones (100-5000 ppb) de estándares en agua y tomate. En la Tabla 4.63., se exponen las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón en agua.

Tabla 4.63. Resultados de la biodisponibilidad de estándares en agua.

ESTÁNDARES EN AGUA										
[ppb]	Pimetrocina		Indoxacarb		Piriproxifén		Kresoxim-metil		Difenoconazol	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
100	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
500	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	12,8	2,56
1000	<10	0	12,1	1,21	<10	0	12,0	1,20	24,0	2,40
3000	18,5	0,62	32,8	1,09	29,0	0,97	40,2	1,34	67,1	2,23
5000	31,1	0,62	60,6	1,21	55,1	1,10	74,4	1,49	111,7	2,23

En la Figura 4.52., se representan los porcentajes dializados en la experiencia con estándares en agua de los plaguicidas utilizados.

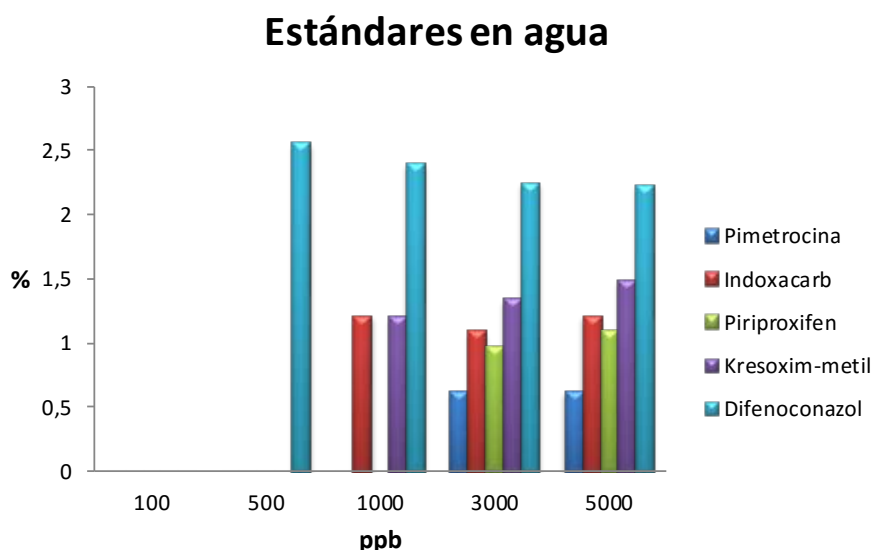


Figura 4.52. Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.

De los datos expuestos se deduce que no existe dialización para ningún plaguicida estudiado a la concentración más baja. Los porcentajes dializados son independientes de la concentración, ya que los valores son similares para cualquier concentración. Para ningún plaguicida se produce una dialización superior al 3%.

En la Tabla 4.64., se muestran las cantidades dializadas cuando los estándares están embebidos en muestra de tomate.

Tabla 4.64. Resultados de la biodisponibilidad de los estándares en matriz de tomate.

ESTÁNDARES EN TOMATE										
[ppb]	Pimetrocina		Indoxacarb		Piriproxifén		Kresoxim-metil		Difenoconazol	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
100	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
500	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
1000	16,4	1,64	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
3000	77,2	2,57	13,5	0,45	<10	0	53,5	1,78	36,7	1,22
5000	118,6	2,37	22,0	0,44	<10	0	87,2	1,74	59,6	1,19

En la Figura 4.53., se representan los porcentajes dializados en la experiencia con estándares de los plaguicidas en matriz de tomate, para comprobar el efecto matriz.

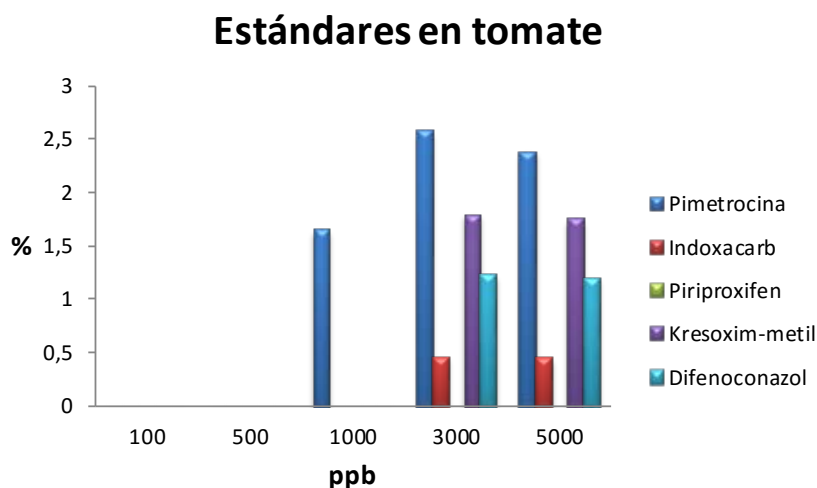


Figura 4.53. Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en tomate.

Cuando los estándares se encuentran en matriz de tomate se produce un descenso del porcentaje de diálisis, por lo tanto, la presencia de material vegetal

produce un efecto matriz positivo, transfiriéndose menor cantidad del plaguicida hacia el objetivo diana.

4.5.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

Por último, se comprobó la biodisponibilidad de los plaguicidas en las muestras M_1 (cosecha) y M_7 (esterilizado) del procesado, aún siendo conscientes de que al no determinarse residuos en dichas muestras, no deberíamos encontrar dialización (Tabla 4.65.).

Tabla 4.65. Resultados de biodisponibilidad en tomate procesado.

TOMATE (ppb)						
Tratamiento	Muestra	Pimetrocina	Indoxacarb	Piriproxifén	Kresoxim-metil	Difenoconazol
BPA	M_1	<10	<10	<10	<10	<10
	M_7	<10	<10	<10	<10	<10
CPA	M_1	<10	<10	<10	<10	<10
	M_7	<10	<10	<10	<10	<10

M_1 : cosecha; M_7 : Esterilizado.

4.6. ESTUDIO 6. NARANJA.

4.6.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA

En la Tabla 4.66., se recogen las condiciones de análisis para cada plaguicida.

Tabla 4.66. Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de naranja.

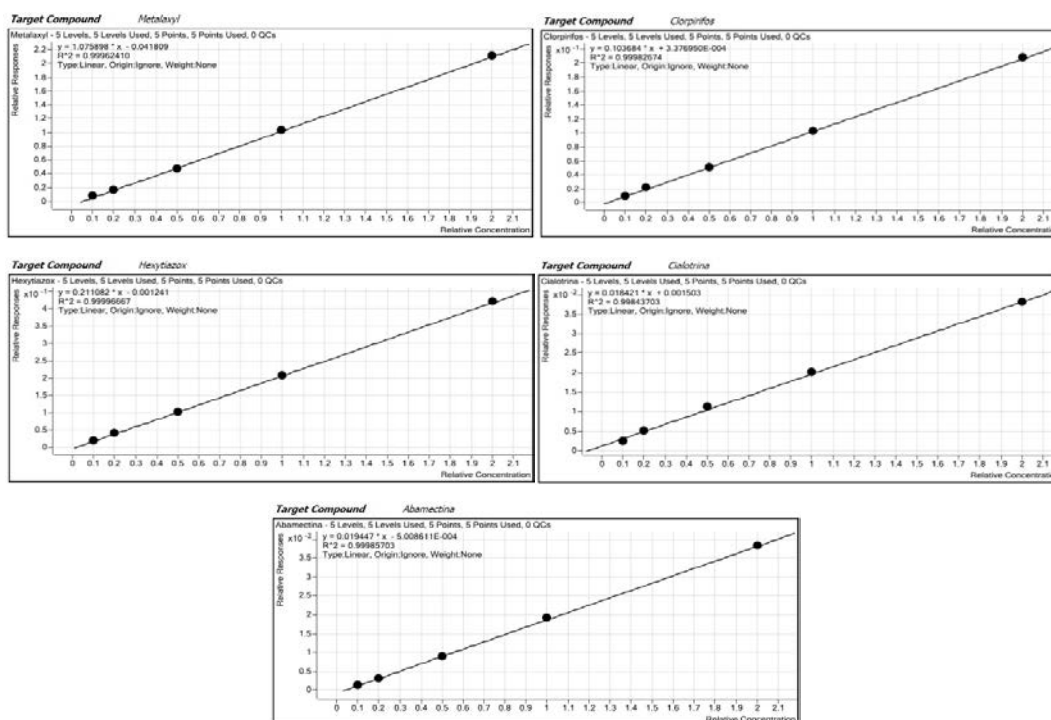
Plaguicidas	Técnica	Ión principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t_R (min.)
Metalaxil	LC-MS/MS	$[M+H]^+$ 280,1	280,1 → 159,9	280,1 → 220,0	3,44
Clorpirifos		$[M+H]^+$ 352,0	352,0 → 200,0	352,0 → 97,0	4,85
Hexitiazox		$[M+H]^+$ 353,0	353,0 → 168,0	353,0 → 227,8	4,89
Cialotrina		$[M+NH_4]^+$ 467,0	467,0 → 225,0	467,0 → 141,0	5,13
Abamectina		$[M+H]^+$ 895,5	895,5 → 751,4	895,5 → 449,2	5,43

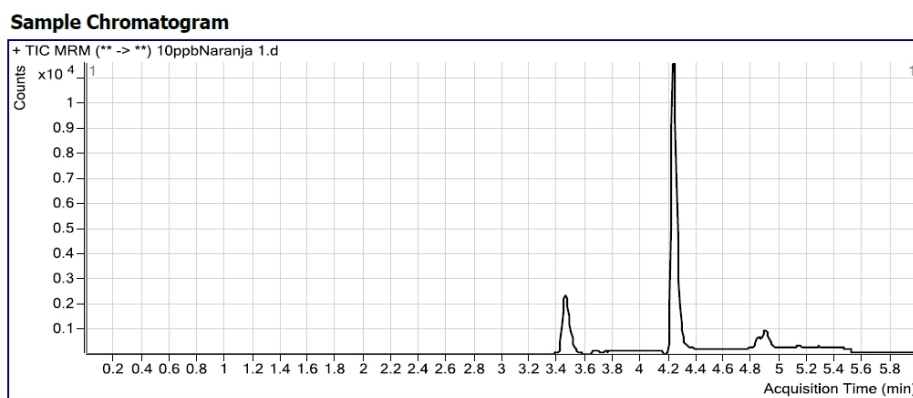
En la Tabla 4.67., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de naranja.

Tabla 4.67. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de naranja, analizados en LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	R ²
Metalaxil	$y = 1,075898x - 0041809$	11,06	0,9998
Clorpirifos	$y = 0,10368x + 3,37695 \times 10^{-4}$	4,05	0,9999
Hexitiazox	$y = 0,211082x - 0,001241$	0,79	0,9999
Cialotrina	$y = 0,01842x + 0,001503$	14,08	0,9992
Abamectina	$y = 0,019447x - 5,00861 \times 10^{-4}$	11,01	0,9999

En la Figura 4.54., se representan gráficamente las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados. En la Figura 4.55., se expone un cromatograma de una calibración en matriz de naranja al nivel de 10 ppb, como ejemplo y en la Figura 4.56., la ruptura de iones producida en el detector de masas.

**Figura 4.54.** Rectas de calibrado en matriz naranja.

**Quantitation Results**

Compound	RT	Response	Conc
Metalaxyl	3.444	4541	10.3051
Clorpirifos	4.843	574	10.5937
Hexitiazox	4.893	1230	10.3552
Cialotrina	5.123	149	11.1846
Abamectina	5.413	81	10.1581

Figura 4.55. Cromatograma de una calibración en naranja de 10 ppb.

Para el estudio de la precisión del método analítico, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, por el mismo operador y el mismo sistema analítico para repetibilidad y en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico, para reproducibilidad.

En la Tabla 4.68., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos.

Tabla 4.68. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en naranja.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Metalaxil	7,2	1,4	9,7	3,2
Clorpirifos	7,0	1,1	12,3	2,4
Hexitiazox	7,2	1,0	10,9	3,3
Cialotrina	7,6	1,2	8,2	4,2
Abamectina	7,3	1,4	6,8	2,5

Como podemos observar, los valores obtenidos son realmente bajos, no superando en ningún caso el 20%, límite de aceptación fijado por nosotros.

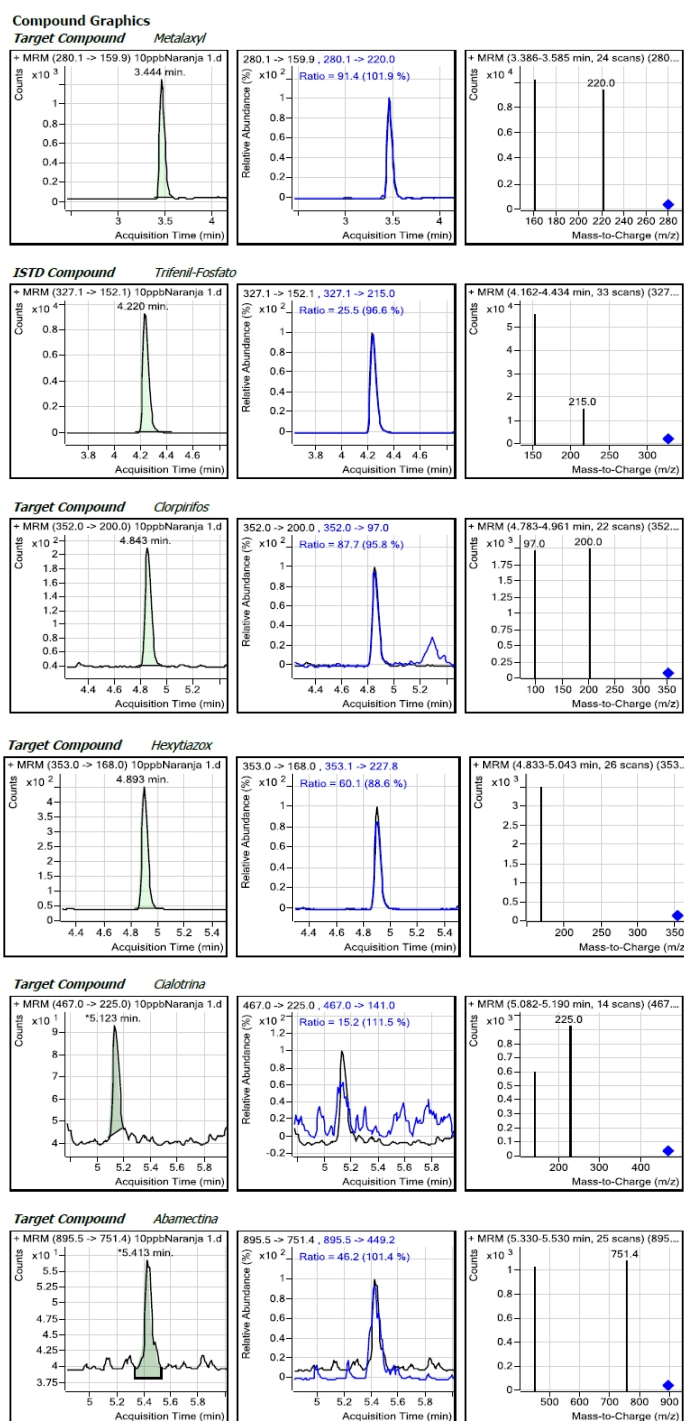


Figura 4.56. Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS.

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de naranja, a dos niveles de concentración (LQ y 10LQ). Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos, tanto para condiciones de repetibilidad como de reproducibilidad, se muestran en las Tablas 4.69. y 4.70.

Tabla 4.69. Recuperaciones de las muestras de naranja fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Metalaxil	114,8	118 - 111	105,3	119 - 100
Clorpirifos	115,2	120 - 112	111,2	116 - 107
Hexitiazox	113,5	119 - 108	112,3	116 - 109
Cialotrina	101,2	117 - 82	74,2	79 - 72
Abamectina	111,0	116 - 103	100,7	118 - 90

Tabla 4.70. Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Metalaxil	115,8	118 - 109	104,8	112 - 98
Clorpirifos	109,8	116 - 102	112,3	118 - 107
Hexitiazox	111,0	119 - 90	115,7	120 - 113
Cialotrina	97,7	117 - 71	91,3	114 - 72
Abamectina	105,7	117 - 98	101,3	119 - 82

Todos los valores obtenidos están dentro del rango 70-120%, criterio establecido como aceptable en el ensayo de validación.

4.6.2. RESIDUOS

4.6.2.1. Residuos en naranja.

En la Tabla 4.71., se exponen los valores residuales encontrados en naranja, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas y en la Figura 4.57., se representa gráficamente la comparación de estos valores con sus LMR.

Tabla 4.71. Residuos de los plaguicidas estudiados en naranja.

Plaguicidas	LMR	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Metalaxil	500	390,1	178,4
Clorpirifos	300	751,2	427,5
Hexitiazox	1000	20,4	<10
Cialotrina	200	230,7	150,6
Abamectina	15*	25,3	<10

* LQ

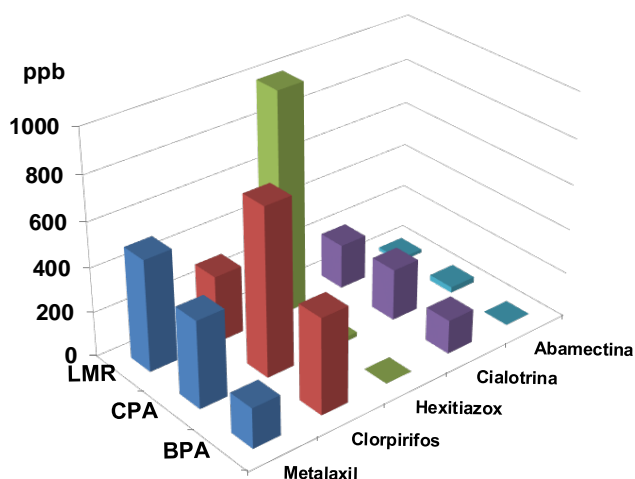
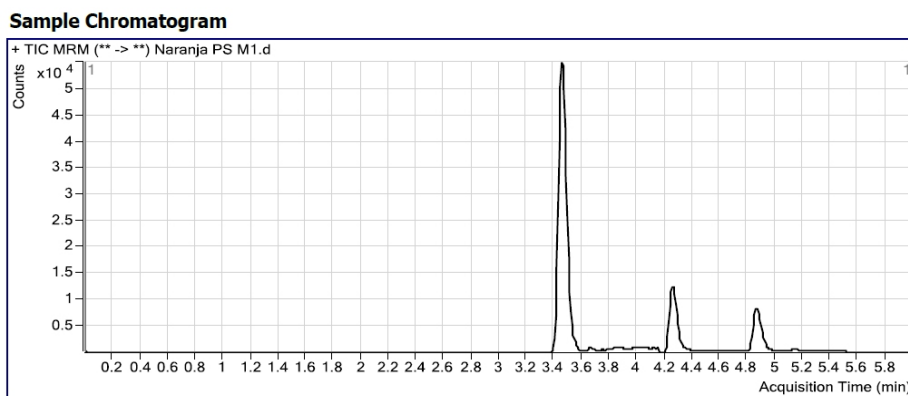


Figura 4.57. Comparación de los residuos en naranja bajo BPA y CPA, con su LMR.

Como se comprueba, tan sólo clorpirifos en ambos tipos de tratamiento y cialotrina y abamectina en CPA, superan los LMR establecidos.

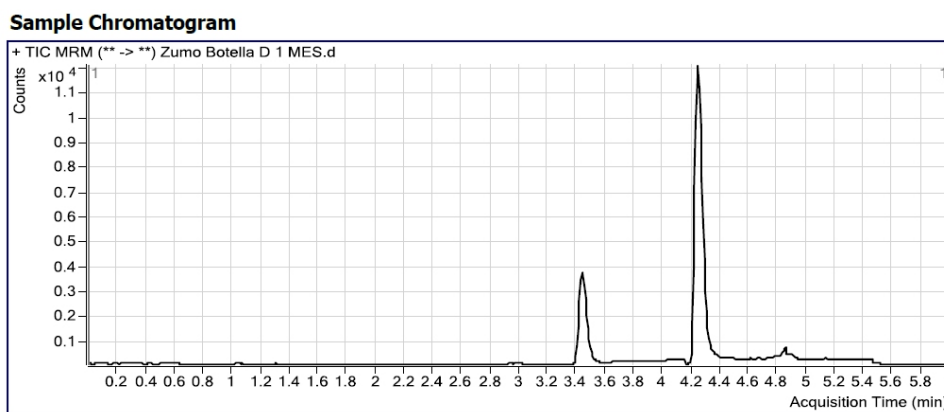
En las Figuras 4.58. y 4.59., se muestran como ejemplo los cromatogramas de una muestra de naranja tratada bajo BPA y de una muestra de zumo de naranjas tratadas bajo CPA, respectivamente.



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Metalaxil	3.444	119995	178.3658
Clorpirifos	4.860	18757	427.5345
Hexitiazox	4.918	378	4.4513
Cialotrina	5.132	1105	150.6435
Abamectina	5.430	29	4.4698

Figura 4.58. Cromatograma de una muestra de naranja cultivada bajo BPA.

**Quantitation Results**

Compound	RT	Response	Conc
Metalaxyl	3.428	7477	13.1219
Clorpirifos	4.851	520	12.3091
Hexytiazox	4.893	216	2.7577
Cialotrina	5.132	235	33.3961

Figura 4.59. Cromatograma de una muestra de zumo de naranja cultivada bajo CPA.

4.6.2.2. Residuos en naranja procesada.

En la Tabla 4.72., se exponen los valores residuales encontrados durante las diferentes etapas de fabricación de zumo de naranja.

En la Figura 4.60., se representan gráficamente las variaciones de los niveles residuales presentes en la naranja y en las diferentes etapas de su manipulación para preparar zumo envasado.

Tabla 4.72. Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de zumo de naranja.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)				
		Metalaxil	Clorpirifos	Hexitiazox	Cialotrina	Abamectina
BPA	M ₁	178,4	427,5	<10	150,6	<10
	M ₂	147,5	338,9	<10	120,9	<10
	M ₃	129,0	317,0	<10	118,2	<10
	M ₄	11,2	<10	<10	31,3	<10
	M ₅	275,0	906,6	<10	192,9	<10
	M ₆	<10	<10	<10	<10	<10
	M ₇	<10	<10	<10	<10	<10
CPA	M ₁	390,1	751,2	20,4	230,7	25,3
	M ₂	206,0	570,9	11,0	177,0	13,4
	M ₃	165,3	336,9	<10	134,0	<10
	M ₄	<10	15,0	<10	52,6	<10
	M ₅	330,8	987,5	11,9	314,5	24,8
	M ₆	<10	13,1	<10	30,2	<10
	M ₇	<10	12,3	<10	33,4	<10

M₁: cosecha; M₂: lavado Cl₂; M₃: Exprimido; M₄: zumo; M₅: corteza; M₆: zumo pasteurizado; M₇: almacenado 1 mes.

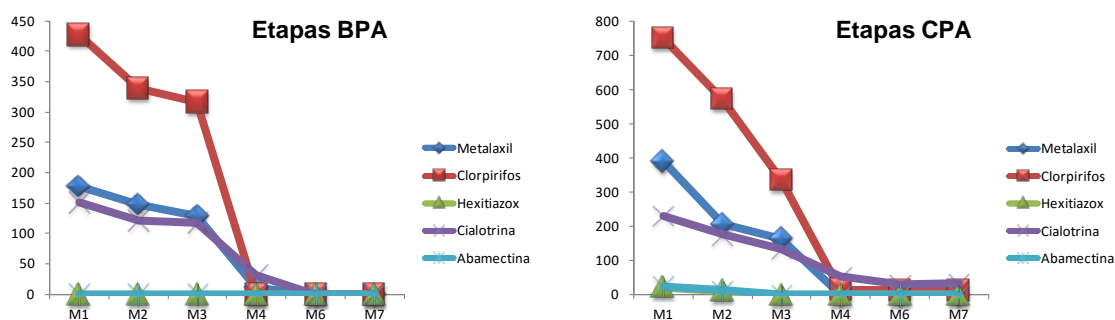


Figura 4.60. Variación de los residuos en el proceso de preparación de zumo de naranja.

En ella, se ha omitido la etapa del pelado y el valor de los niveles en corteza, para poder comparar de forma homogénea la influencia del lavado, exprimido y pasteurizado del zumo en los valores residuales finales.

De lo expuesto, podemos observar que en la fase de exprimido y obtención de zumo los niveles residuales para todos los plaguicidas se reducen en más del 75% del valor inicial en naranja entera. Por lo tanto, la mayor parte de los residuos se van a encontrar en la corteza de la naranja y muy pocos en el zumo (<10%).

Para las muestras de zumo pasteurizado tratadas bajo BPA los niveles residuales para todos los plaguicidas estudiados es inferior al límite de cuantificación. Lo mismo ocurre para los ensayos bajo CPA, excepto para clorpirifos y cialotrina, donde todavía quedan residuos cuantificables, aunque en niveles inferiores al LMR.

4.6.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE NARANJA.

Se realizaron los controles de calidad para la recuperación de muestras fortificadas de naranja y zumo a niveles de 10 ppb y 50 ppb, que fueron introducidas en las secuencias de análisis dependiendo de la etapa de fabricación que se estaba analizando. En la Tabla 4.73., se muestran los porcentajes de recuperación en las diferentes etapas de elaboración.

Como se puede comprobar todos los valores para todos los plaguicidas estudiados, están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

Tabla 4.73. Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de zumo de naranja.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Metalaxil	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₅	106	104,2
	M ₆	112	112,2
Clorpirifos	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₅	108	104
	M ₆	102	105,4
Hexitiazox	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₅	108	105,6
	M ₆	104	104,2
Cialotrina	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₅	110	103
	M ₆	105	94,8
Abamectina	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₅	99	102,2
	M ₆	104	109,4

M₁: cosecha; M₂: lavado Cl₂; M₃: Exprimido; M₄: zumo; M₅: corteza; M₆: zumo pasteurizado.

4.6.4. FACTORES DE PROCESADO.

En la Tabla 4.74., se exponen los factores de transferencia calculados tanto en las muestras de naranjas cultivadas bajo BPA como CPA. No tenemos en cuenta el factor de procesamiento de la corteza ya que se comprueba claramente que la casi totalidad de los residuos encontrados se localizan en dicha parte de la naranja y esta parte no es utilizada para la obtención del zumo.

Tabla 4.74. Factores de procesado calculados en naranjas tratadas bajo BPA y CPA y sometidos al proceso de elaboración de zumo.

Plaguicidas	BPA					CPA				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F _{global}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F _{global}
Metalaxil	0,827	0,874	0,087	0	0	0,528	0,802	0	0	0
Clorpirifos	0,755	0,965	0	0	0	0,76	0,59	0,044	0,873	0,017
Hexitiazox	0	0	0	0	0	0,539	0	0	0	0
Cialotrina	0,803	0,977	0,265	0	0	0,767	0,757	0,392	0,574	0,145
Abamectina	0	0	0	0	0	0,529	0	0	0	0

$F_1 = M_2/M_1$; $F_2 = M_3/M_2$; $F_3 = M_4/M_3$; $F_4 = M_6/M_4$; $F_{global} = M_6/M_1$

En la Figura 4.61., se representan gráficamente los factores de procesado y sus diferencias entre ambos tipos de tratamiento.

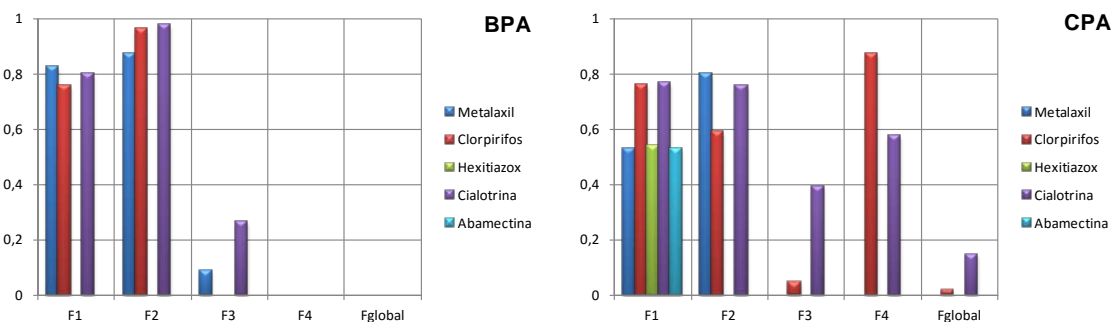


Figura 4.61. Variación de los factores de procesado del zumo de naranja.

Las diferentes etapas del procesado de la naranja entera influyen en la pérdida casi total de los residuos independientemente de la concentración inicial. Por ello, los factores de procesado globales en los ensayos bajo BPA son cero y en los de CPA también, excepto para cialotrina (0,145) y clorpirifos (0,017). Por tanto, los residuos de plaguicidas se eliminan unidos a la corteza o en la pulpa de la naranja.

4.6.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.6.5.1. Efecto matriz.

En la Tabla 4.75., reflejamos las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón de todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en agua, también se realizan en naranja y zumo, para comprobar si existe un efecto de la matriz en el porcentaje de dialización y también se comprueba el efecto de la concentración de la materia activa en su posible absorción. En este caso, solo se han realizado las fortificaciones a tres niveles dados los bajos niveles residuales encontrados en los zumos respecto a los valores en naranja total (por absorción de los plaguicidas en los aceites esenciales de la corteza).

Tabla 4.75. Cantidades dializadas (ppb) de los estándares de los plaguicidas en agua.

ESTÁNDARES EN AGUA					
[ppb]	Metalaxil	Clorpirifos	Hexitiazox	Cialotrina	Abamectina
200	37,0	<10	<10	<10	<10
1000	198,1	14,8	19,2	<10	<10
5000	755,3	53,2	57,1	<10	12,3

La Figura 4.62., representa los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de estándares estudiadas en agua.

Estándares en agua

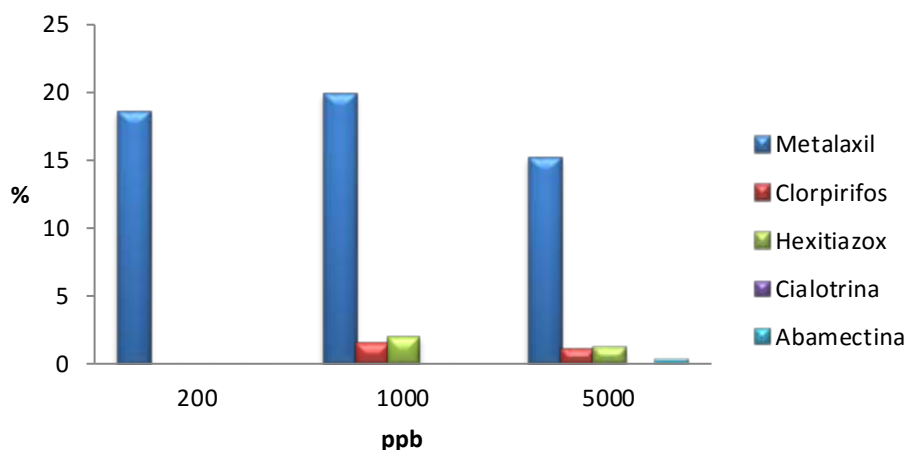


Figura 4.62. Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua.

Los porcentajes de dialización para los plaguicidas estudiados no alcanzan el 5%, excepto metalaxil que presenta un valor cercano al 20% de la cantidad inicial, posiblemente debido al carácter sistémico de este fungicida.

En la Tabla 4.76., se muestran las cantidades dializadas en los ensayos realizados con todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en naranja (considerando el fruto completo), para comprobar el efecto de la cantidad de materia activa, junto con el efecto matriz, en su posible absorción.

En la Figura 4.63., se representan los porcentajes dializados respecto a las cantidades originales para las diferentes concentraciones de estándares estudiados en muestras de naranja.

Tabla 4.76. Cantidades dializadas de los plaguicidas en muestras de naranja.

ESTÁNDARES EN NARANJA					
[ppb]	Metalaxil	Clorpirifos	Hexitiazox	Cialotrina	Abamectina
200	22,0	<10	<10	<10	<10
1000	119,8	<10	<10	<10	<10
5000	432,35	<10	<10	<10	<10

Estándares en naranja

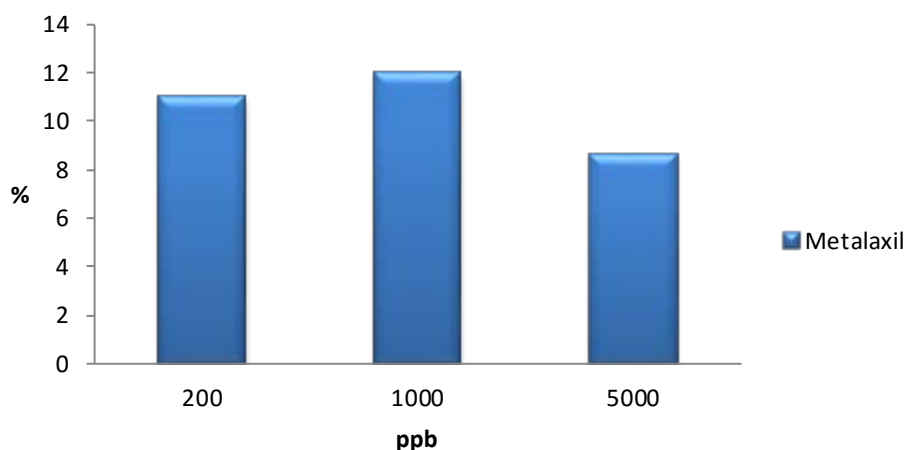


Figura 4.63. Porcentajes dializados de metalaxil en naranja.

Como se observa, solamente metalaxil presenta dialización en las 3 concentraciones, aunque en ningún caso ésta supera el 12 %, lo que puede ser debido a que presenta carácter sistémico y residual. Además, se produce un descenso acusado en los porcentajes dializados por lo que la presencia de componentes de la naranja en el extracto a dializar produce un efecto matriz, provocando una menor absorción de los plaguicidas por el organismo.

En la Tabla 4.77., se exponen las cantidades dializadas en los ensayos realizados con disoluciones patrón de todos los plaguicidas a diferentes concentraciones en zumo de naranja, para determinar las posibles diferencias en la absorción entre diferentes matrices.

Tabla 4.77. Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas en muestras de zumo de naranja.

ZUMO					
[ppb]	Metalaxil	Clorpirifos	Hexitiazox	Cialotrina	Abamectina
200	<10	<10	<10	<10	<10
1000	<10	<10	<10	<10	<10
5000	<10	<10	<10	<10	<10

Dado que las concentraciones dializadas son inferiores a 10 ppb en todos los casos, no se ha realizado la gráfica para el porcentaje dializado de los plaguicidas seleccionados en zumo de naranja. En este caso, metalaxil no presenta valores de dialización, a diferencia de los resultados en matriz de naranja.

4.6.5.2. Biodisponibilidad en el material vegetal estudiado.

En la Tabla 4.78., se detallan los valores de las concentraciones de los plaguicidas estudiados en los dializados de las muestras de naranja en fresco y zumo, en ambas condiciones de cultivo.

Tabla 4.78. *Cantidades dializadas (ppb) de las muestras para los plaguicidas seleccionados.*

Plaguicidas	BPA				CPA			
	M ₁	M ₄	M ₆	M ₇	M ₁	M ₄	M ₆	M ₇
Metalaxil	14,1	<10	<10	<10	29,9	<10	<10	<10
Clorpirifos	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Hexitiazox	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Cialotrina	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Abamectina	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

M₁: cosecha; M₄: zumo; M₆: zumo pasteurizado; M₇: zumo 1 mes.

En este caso, tan solo metalaxil presenta residuos en la primera etapa, aunque éstos son muy inferiores a su LMR (500 ppb).

4.7. ESTUDIO 7. UVA Y VINO.

4.7.1. VALIDACIÓN ANALÍTICA

4.7.1.1. Validación del método en uva

En la Tabla 4.79., se recogen las condiciones de análisis para cada plaguicida.

Tabla 4.79. *Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de uva.*

Plaguicidas	Técnica	Ión principal	Ion cuantificador	Ion cualificador	t _R (min.)
Boscalid	LC-MS/MS	[M+H] ⁺ 343	343 → 307	343 → 140	7,57
Penconazol		[M+H] ⁺ 284	284 → 70	284 → 159	7,95
Tebufenocida		[M+H] ⁺ 353,2	353,2 → 297,2	353,2 → 133,1	8,34
Kresoxim-metil		[M+H] ⁺ 314,1	314,1 → 206,1	314,1 → 267	8,53
Trifloxistrobin		[M+H] ⁺ 409	409 → 186	409 → 206	9,43
Clorpirifos		[M+H] ⁺ 352,0	352,0 → 200,0	352,0 → 97,0	10,24
Cialotrina		[M+NH ₄] ⁺ 467	467 → 225	467 → 141	11,05

En la Tabla 4.80., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibrado obtenidas al comparar la respuesta del detector a cantidades crecientes de los plaguicidas estudiados preparadas en matriz de uva.

Tabla 4.80. Ecuaciones de regresión, desviación estándar y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de uva, analizados en LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD (%)	r
Boscalid	$y = 0,297617x + 0,002851$	8,59	0,9990
Penconazol	$y = 1,155187x + 0,020041$	5,37	0,9999
Tebufenocida	$y = 2,874921x + 0,052448$	3,70	0,9998
Kresoxim-metil	$y = 0,354249x + 0,008726$	10,43	0,9998
Trifloxistrobin	$y = 5,497684x + 0,065746$	5,65	0,9999
Clorpirifos	$y = 0,242439x - 0,002897$	8,10	0,9997
Cialotrina	$y = 0,021152x + 8,04 \times 10^{-5}$	6,35	0,9998

En la Figura 4.64., se representan gráficamente las rectas de calibrado de los seis plaguicidas estudiados.

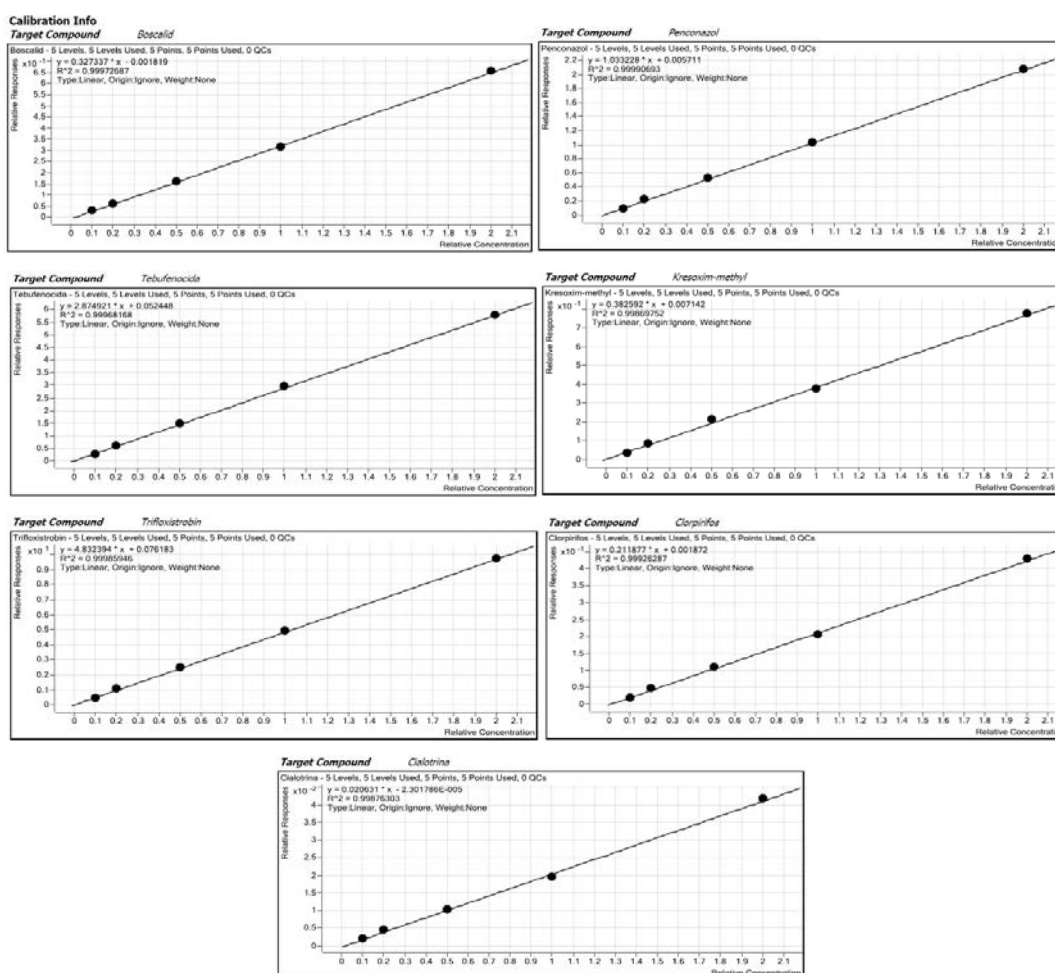


Figura 4.64. Rectas de calibrado en matriz uva.

En la Figura 4.65., se muestra, como ejemplo, un cromatograma de una calibración en matriz de uva al nivel de 10 ppb y en la Figura 4.66., la ruptura de iones de los compuestos analizados.

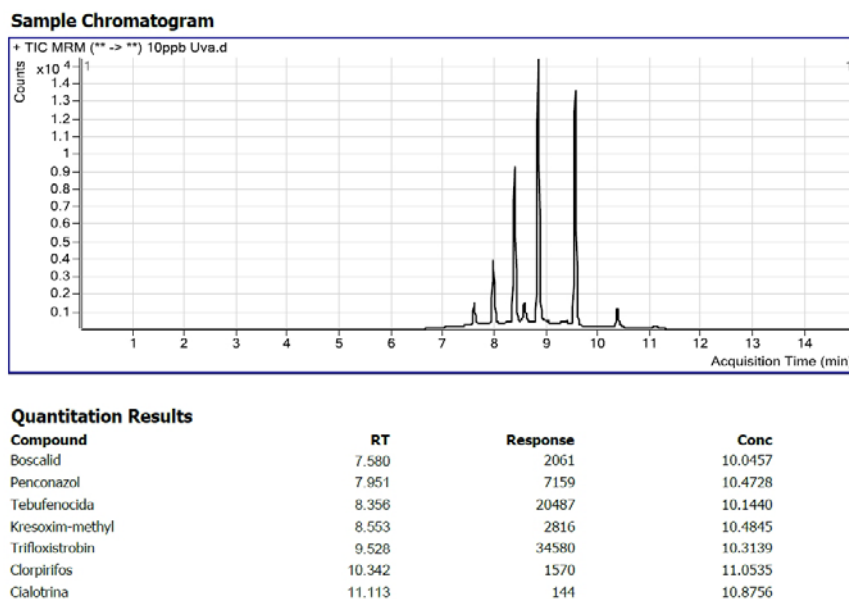


Figura 4.65. Cromatograma de una calibración en uva de 10 ppb.

En el estudio de la precisión del método, se analizaron seis muestras iguales, seguidas en el tiempo, por el mismo operador y el mismo sistema analítico para el cálculo de la repetibilidad y en días diferentes, manteniendo el mismo operador y sistema analítico, para la reproducibilidad.

En la Tabla 4.81., se muestran los valores medios de los coeficientes de variación obtenidos.

Tabla 4.81. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en uva.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Boscalid	2,59	2,46	3,13	4,04
Penconazol	4,01	2,77	4,47	3,09
Tebuconocida	4,67	3,00	2,98	5,29
Kresoxim-metil	3,09	3,04	1,63	4,23
Trifloxistrobin	2,74	2,54	4,00	4,18
Clorpirifos	4,50	2,76	5,11	4,02
Cialotrina	4,76	3,86	6,79	3,88

Como podemos observar, los valores obtenidos son realmente bajos, no superando en ningún caso el 20%, límite de aceptación fijado por nosotros.

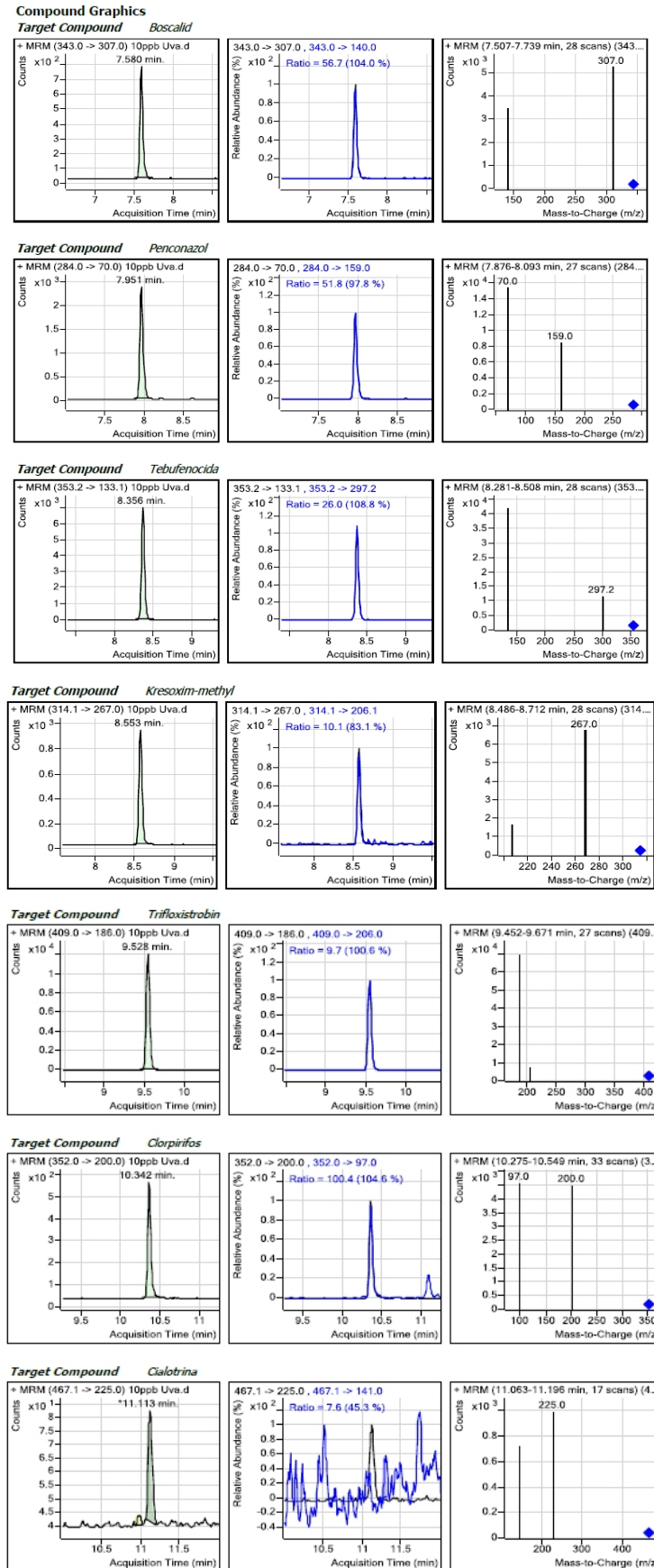


Figura 4.66. Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS.

En el estudio de recuperación, se fortificaron seis muestras de uva, a dos niveles LQ y 10LQ. Los resultados medios y el rango de máximo-mínimo de los valores obtenidos se muestran en las Tablas 4.82. y 4.83. En la primera de ellas, se exponen los resultados en condiciones de repetibilidad y en la segunda en condiciones de reproducibilidad.

Tabla 4.82. Recuperaciones de las muestras de uva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Boscalid	100,2	105 - 98	106,0	109 - 102
Penconazol	96,0	101 - 90	108,7	113 - 106
Tebufenocida	96,3	103 - 92	101,0	103 - 95
Kresoxim-metil	101,7	106 - 97	110,0	114 - 105
Trifloxistrobin	101,8	105 - 98	110,5	115 - 107
Clorpirifos	107,0	114 - 100	113,7	118 - 109
Cialotrina	111,7	117 - 102	114,3	119 - 110

Tabla 4.83. Recuperaciones de las muestras de uva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Boscalid	101,8	108 - 99	103,2	109 - 98
Penconazol	99,0	107 - 95	107,2	113 - 104
Tebufenocida	98,7	102 - 94	104,7	110 - 95
Kresoxim-metil	100,3	102 - 98	106,2	114 - 102
Trifloxistrobin	100,0	105 - 95	106,7	115 - 102
Clorpirifos	108,8	119 - 104	108,7	116 - 103
Cialotrina	104,5	114 - 94	114,0	118 - 109

También en este caso, se obtienen valores medios superiores al 98,7% para el nivel de LQ y al 103,2 % para 10LQ; no sobrepasándose el 114 % para el caso más desfavorable. Todos los valores medios, así como los máximos-mínimos están dentro del rango aceptado en esta validación (70-120%).

4.7.1.2. Validación del método en vino

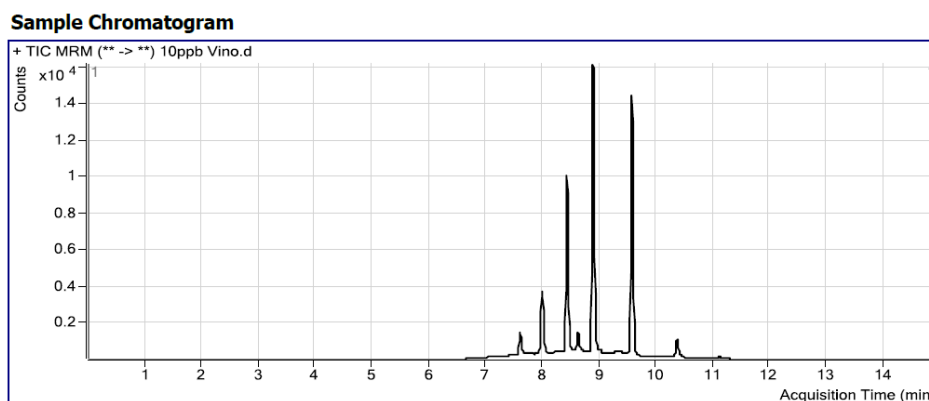
Al tener que realizar medidas de residuos también en vino, consideramos necesario realizar la validación de la metodología con esta matriz, basándonos en la diferente estructura de la uva y de la composición de la misma. Por ello, se realizó el estudio de la validación, con los mismos criterios que en el caso de la uva de vinificación y utilizando los mismos iones target para la identificación de los plaguicidas

estudiados (Tabla 4.79.). En la Tabla 4.84., se muestran las ecuaciones de las rectas de calibración, sus coeficientes de correlación y sus desviaciones estándar relativas, obtenidas con la matriz de vino.

Tabla 4.84. Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en vino, analizados en LC-MS/MS.

Linealidad (0,005-0,1 ppm)			
Plaguicida	Ecuación	RSD(%)	R ²
Boscalid	$y = 0,288744x + 0,006937$	8,29	0,9998
Penconazol	$y = 1,134442x + 0,023968$	6,73	0,9999
Tebufenocida	$y = 2,839644x + 0,008442$	4,50	0,9998
Kresoxim-metil	$y = 0,335692x + 0,014556$	14,67	0,9998
Trifloxistrobin	$y = 5,043221x + 0,196333$	6,17	0,9997
Clorpirifos	$y = 0,243448x - 0,006533$	5,36	0,9999
Cialotrina	$y = 0,017833x + 8,02E-4$	8,88	0,9998

En la Figura 4.67., se expone un cromatograma de una muestra de calibración de 10 ppb en matriz de vino.



Quantitation Results

Compound	RT	Response	Conc
Boscalid	7.588	2256	10.0718
Penconazol	7.976	7041	10.8485
Tebufenocida	8.406	22062	9.9883
Kresoxim-methyl	8.612	2505	9.7727
Trifloxistrobin	9.553	35856	10.6540
Clorpirifos	10.350	1496	10.5659
Cialotrina	11.121	130	9.6949

Figura 4.67. Cromatograma de una calibración en vino de 10 ppb.

En la Tabla 4.85., se detallan los valores de los coeficientes de variabilidad obtenidos en los ensayos de repetibilidad y reproducibilidad.

Tabla 4.85. Valores de CV% en el cálculo de la precisión en vino.

Plaguicidas	CV % Repetibilidad		CV % Reproducibilidad	
	LQ	10LQ	LQ	10LQ
Boscalid	4,60	3,81	6,25	2,11
Penconazol	3,21	1,63	3,33	1,48
Tebufenocida	2,53	2,67	4,99	2,77
Kresoxim-metil	6,35	3,07	7,92	1,63
Trifloxistrobin	1,25	1,82	0,55	2,04
Clorpirifos	4,49	1,62	4,01	2,37
Cialotrina	4,35	1,97	8,69	7,40

Podemos observar que los valores de los coeficientes de variabilidad en ningún caso superan el límite del 20% fijado por nosotros como límite de aceptación.

Igualmente, se comprobaron los valores de exactitud obtenidos para seis muestras iguales en condiciones de repetibilidad (Tabla 4.86.) y de reproducibilidad (Tabla 4.87.). Como se muestra, en todos los casos se cumplen también los criterios de aceptación acordados y tanto los valores medios, como los intervalos de máximo-mínimo, están comprendidos entre el 70-120%.

Tabla 4.86. Recuperaciones de las muestras de vino fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Boscalid	100,7	108 – 96	98,83	103 - 94
Penconazol	91,7	97 – 89	100,5	102 - 98
Tebufenocida	92,3	95 – 90	106,8	110 - 103
Kresoxim-metil	95,3	103 – 89	100,5	106 - 98
Trifloxistrobin	93,2	95 – 92	104,0	106 - 101
Clorpirifos	98,3	103 – 92	101,5	104 - 99
Cialotrina	99,5	102 – 91	85,0	87 - 83

Tabla 4.87. Recuperaciones de las muestras de vino fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.

Plaguicidas	LQ		10LQ	
	Media	Máximo-Mínimo	Media	Máximo-Mínimo
Boscalid	95,3	102 – 87	98,5	101 - 95
Penconazol	96,5	100 - 91	99,2	101 - 98
Tebufenocida	95,2	103 – 91	102,0	105 - 98
Kresoxim-metil	98,3	109 – 90	100,3	103 - 98
Trifloxistrobin	93,3	94 - 93	101,5	104 - 99
Clorpirifos	97,8	103 – 93	101,2	105 - 99
Cialotrina	101,3	112 – 86	92,7	101 - 83

Por todo lo expuesto, podemos asegurar que la metodología empleada para la determinación de los residuos de los plaguicidas seleccionados en uva y vino es exacta y precisa.

4.7.2. RESIDUOS.

4.7.2.1. Residuos en uva.

En la Tabla 4.88., se exponen los valores residuales encontrados en uva, en condiciones de buenas y críticas prácticas agrícolas (BPA y CPA).

Tabla 4.88. Residuos de los plaguicidas estudiados en uva.

Plaguicidas	LMR	CPA (ppb)	BPA (ppb)
Boscalid	5000	161,78	43,68
Penconazol	200	74,21	<10
Tebufenocida	3000	253,53	182,76
Kresoxim-metil	1000	55,3	<10
Trifloxistrobin	3000	81,86	<10
Clorpirifos	500	434,67	25,66
Cialotrina	200	41,23	22,45

En la Figura 4.68., se expone la representación gráfica de la comparación de los residuos encontrados en ambos tipos de cultivo, frente a sus LMR.

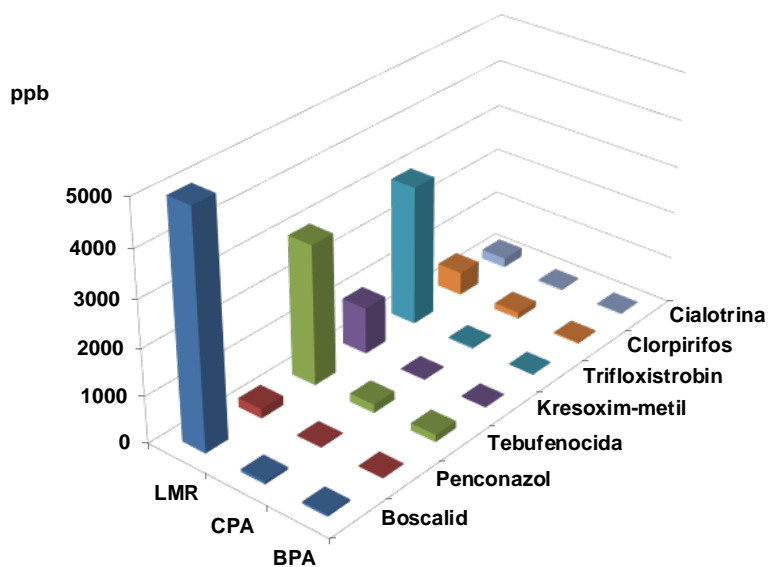


Figura 4.68. Comparación de los residuos en uva bajo BPA y CPA, con su LMR.

En ningún caso, los residuos encontrados en la uva vendimiada superan los LMR establecidos en la legislación europea para uva de vinificación en estas materias activas. En todos los casos los niveles residuales para ambos tipos de tratamiento están por debajo del 10% de los máximos autorizados.

4.7.2.2. Residuos en vino.

En la Tabla 4.89., se exponen los valores residuales encontrados tanto en cosecha (M₁) como en las diferentes etapas de la elaboración de vino. En la Figura 4.69., se exponen las variaciones de los residuos encontrados en las diferentes etapas del proceso de vinificación.

Tabla 4.89. Valores residuales en las diferentes etapas de la elaboración de vino.

Tratamiento	Muestra	Plaguicida (ppb)						
		Boscalid	Penconazol	Tebufenocida	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin	Clorpirifos	Cialotrina
BPA	M ₁	43,68	<10	182,76	<10	<10	25,66	22,45
	M ₂	24,30	<10	90,62	<10	<10	11,02	13,47
	M ₃	29,12	<10	95,22	<10	11,65	21,46	17,06
	M ₄	20,25	<10	52,18	<10	<10	<10	12,29
	M ₅	108,02	<10	354,91	<10	29,08	65,85	42,65
	M ₆	37,26	<10	98,21	<10	17,45	26,39	21,61
	M ₇	<10	<10	24,23	<10	<10	<10	<10
	M ₈	<10	<10	22,79	<10	<10	<10	<10
	M ₉	<10	<10	21,58	<10	<10	<10	<10
	M ₁₀	<10	<10	22,47	<10	<10	<10	<10
	M ₁₁	22,20	<10	47,67	<10	<10	<10	<10
	M ₁₂	<10	<10	21,71	<10	<10	<10	<10
CPA	M ₁	161,78	74,21	253,53	55,3	81,86	434,67	41,22
	M ₂	112,84	60,93	222,79	37,84	67,76	403,88	38,27
	M ₃	120,59	64,19	263,0	48,39	74,82	368,08	37,15
	M ₄	61,74	30,16	118,65	24,30	39,41	274,53	23,83
	M ₅	327,89	173,26	692,19	100,33	210,77	1470,63	10,25
	M ₆	148,93	84,43	257,82	66,29	131,04	829,08	62,02
	M ₇	25,55	<10	60,23	<10	<10	<10	<10
	M ₈	27,93	<10	60,19	<10	<10	<10	<10
	M ₉	25,96	<10	57,29	<10	<10	<10	<10
	M ₁₀	27,26	<10	58,86	<10	<10	<10	<10
	M ₁₁	43,69	15,52	81,31	11,38	12,76	64,07	<10
	M ₁₂	23,62	<10	50,30	<10	<10	<10	<10

M₁: Cosecha; M₂: Estrujado; M₃: ½ maceración; M₄: Mosto-vino; M₅: Orujo; M₆: Heces; M₇: Vino; M₈: Vino 7 días; M₉: Clarificado; M₁₀: Sin clarificar; M₁₁: Lias; M₁₂: Filtrado.

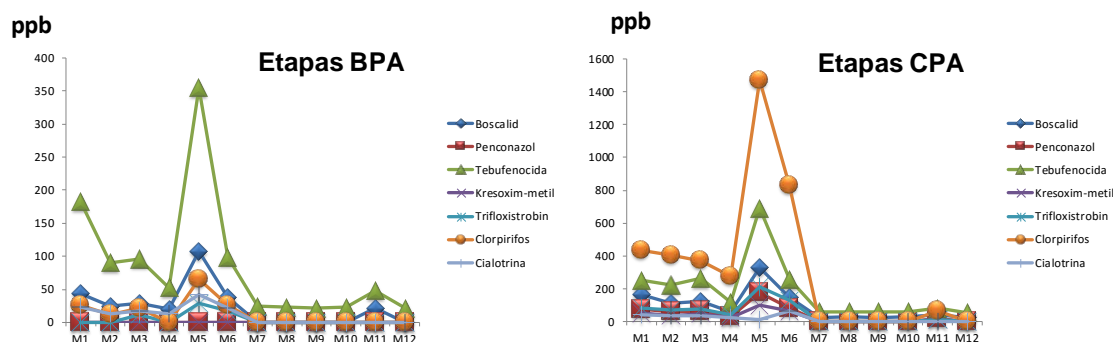


Figura 4.69. Variación de los residuos en el proceso de elaboración de vino.

Como se puede observar las fases que presentan mayores disminuciones en la concentración de residuos de plaguicidas son aquellas donde se produce una eliminación de partes sólidas (prensado, trasiego y clarificación), ya que al eliminar del proceso de elaboración del vino los subproductos del mismo (orujo, heces y lías), éstos compuestos sólidos absorben cantidades importantes de los plaguicidas estudiados. Por el contrario, las fases donde menor eliminación se produce son la clarificación y filtrado del vino trasegado.

Lo anterior nos indica que no existe ningún riesgo toxicológico en el vino obtenido, ya que la casi totalidad del residuo que hemos encontrado en la uva se elimina durante la fermentación alcohólica y clarificación. Sin embargo, los subproductos del vino (orujo, heces y lías) que pueden ser utilizados en la industria si pueden presentar un riesgo por la acumulación de los plaguicidas en los mismos.

4.7.3. CONTROLES DE CALIDAD EN LOS ANÁLISIS DE UVA Y VINO.

Al igual que en los estudios anteriores, se realizaron los controles de calidad para la recuperación de muestras fortificadas de uva y vino a niveles de 10 ppb y 50 ppb. En la Tabla 4.90., se muestran los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas incluidas en las secuencias donde se analizaban las muestras de las diferentes etapas de elaboración de vino.

Como se puede comprobar todos los valores para todos los plaguicidas estudiados, están comprendidos entre 70-120%, criterio de aceptación acordado en la validación del método.

Tabla 4.90. Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de elaboración de vino.

Plaguicidas	Recuperación		
	Etapas	% (10 ppb)	% (50 ppb)
Boscalid	M ₁ -M ₄	94	96,6
	M ₇	110	103
	M ₁₀	105	94,8
Penconazol	M ₁ -M ₄	87	96,6
	M ₇	106	104,2
	M ₁₀	112	112,2
Tebufenocida	M ₁ -M ₄	99	100
	M ₇	101	104
	M ₁₀	98	99
Kresoxim-metil	M ₁ -M ₄	105	102,2
	M ₇	99	102,2
	M ₁₀	104	109,4
Trifloxistrobin	M ₁ -M ₄	114	107,4
	M ₇	100	100,8
	M ₁₀	110	113,4
Clorpirifos	M ₁ -M ₄	103	106,4
	M ₇	108	104
	M ₁₀	102	105,4
Cialotrina	M ₁ -M ₄	111	99,6
	M ₇	108	105,6
	M ₁₀	104	104,2

M₁: Cosecha; M₂: Estrujado; M₃: ½ maceración; M₄: Mosto-vino; M₇: Vino; M₁₀: Sin clarificar

4.7.4. FACTORES DE PROCESADO.

En la Tabla 4.91., se exponen los factores de procesado tanto en las muestras tratadas bajo BPA como CPA.

Se puede observar que solamente la etapa de prensado, en donde se separa el orujo, (F₄) y posteriormente en las etapas de clarificado y filtrado (F₇, F₈, F₉ y F₁₀) se sobrepasa el valor 1. Ello se debe a que en estas fases se separan del vino los componentes que por adsorción y absorción eliminan prácticamente los residuos de plaguicidas del mosto o del vino.

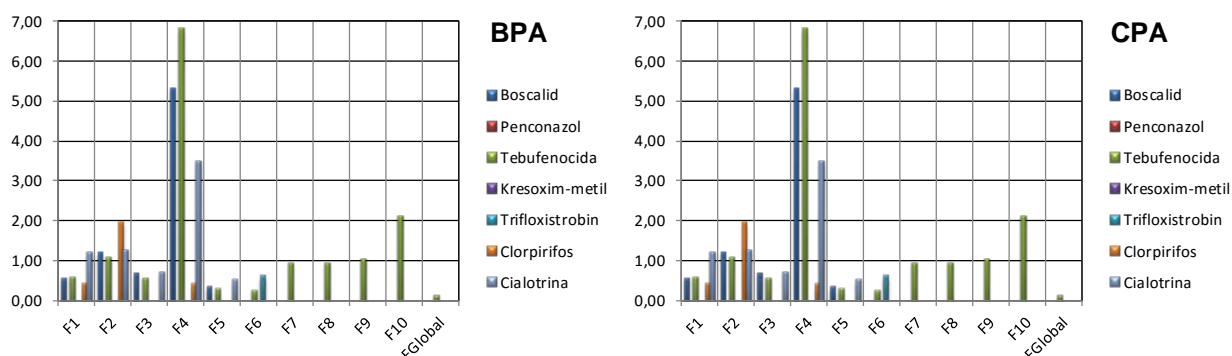
Se debe resaltar que los únicos plaguicidas que presentan factores globales de procesado, boscalid y tebufenocida, no alcanzan el 0,2. En el resto de los plaguicidas estudiados no existen acumulaciones de sus residuos durante la vinificación.

Tabla 4.91. Factores de procesado en uva tratada bajo BPA y CPA y sometida a vinificación.

Tratamiento	Factor	Plaguicida						
		Boscalid	Penconazol	Tebufenocida	Kresoxim-metil	Trifloxistrobin	Clorpirifos	Cialotrina
BPA	F ₁	0,56	0	0,59	0	0	0,43	1,2
	F ₂	1,20	0	1,05	0	0	1,95	1,27
	F ₃	0,69	0	0,55	0	--	0	0,72
	F ₄	5,33	0	6,8	0	0	0,4	3,47
	F ₅	0,34	0	0,28	0	--	0	0,5
	F ₆	0	0	0,25	0	0,6	0	0
	F ₇	0	0	0,94	0	0	0	0
	F ₈	0	0	0,95	0	0	0	0
	F ₉	0	0	1,04	0	0	0	0
	F ₁₀	0	0	2,12	0	0	0	0
	F _{global}	0	0	0,14	0	0	0	0
CPA	F ₁	0,69	0,82	0,88	0,68	0,83	0,93	0,93
	F ₂	1,07	1,05	1,18	1,27	1,1	0,91	0,98
	F ₃	0,51	0,47	0,45	0,5	0,53	0,74	0,64
	F ₄	5,31	5,74	5,83	4,13	5,34	5,36	0,43
	F ₅	0,45	0,49	0,37	0,66	0,62	0,56	6,05
	F ₆	0,17	0	0,23	0	0	0	0
	F ₇	1,09	0	0,99	0	0	0	0
	F ₈	1,05	0	0,95	0	0	0	0
	F ₉	1,05	0	1,03	0	0	0	0
	F ₁₀	1,6	--	1,38	--	--	--	0
	F _{global}	0,15	0	0,19	0	0	0	0

F₁= M₂/M₁; F₂= M₃/M₂; F₃= M₄/M₃; F₄= M₅/M₄; F₅= M₆/M₅; F₆= M₇/M₆; F₇= M₈/M₇; F₈= M₉/M₈; F₉= M₁₀/M₉; F₁₀= M₁₁/M₁₀; F_{global}= M₁₂/M₁₁

En la Figura 4.70., se representa gráficamente la variación de los factores de procesado en la uva y en ambos tipos de cultivo.

**Figura 4.70.** Variación de los factores de procesado de la uva de vinificación.

4.7.5. ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.

4.7.5.1. Efecto matriz.

En el presente apartado se ha realizado un estudio de efecto de la matriz en la capacidad de diálisis de los plaguicidas estudiados. Para ello, se han utilizado disoluciones patrón de los estándares a concentraciones de 100, 500, 1000, 2000 y 5000 ppb, para fortificar cuatro matrices: agua (matriz blanca o patrón), etanol, vino y uva. En la Tabla 4.92., se exponen los valores de las cantidades y porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas ensayados, en agua.

Tabla 4.92. *Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en agua.*

[ppb] agua	Estándares en agua													
	Boscalid		Penconazol		Tebufenocida		Kresoxim-metil		Trifloxistrobin		Clorpirifos		Cialotrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
100	21,7	21,7	25	25	28,2	28,2	23,4	23,4	16,6	16,6	<10	0	<10	0
500	124,7	24,94	128,3	25,66	137,4	27,48	121	24,2	77,7	15,54	<10	0	<10	0
1000	157,3	15,73	161,7	16,17	163	16,3	163,1	16,31	96,4	9,64	<10	0	<10	0
2000	237,9	11,9	237,3	11,87	229	11,45	235,5	11,78	136	6,8	<10	0	<10	0
5000	710,6	14,21	670,8	13,42	607,3	12,15	613,3	12,27	311	6,22	11,4	0,23	<10	0

En la Figura 4.71., se exponen gráficamente las variaciones porcentuales de los plaguicidas dializados en la experiencia.

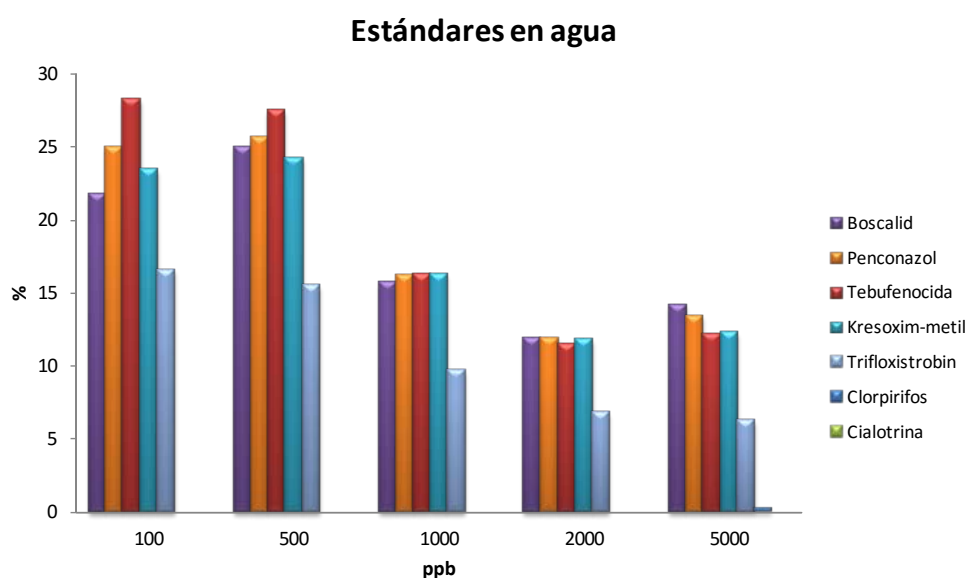


Figura 4.71. *Variación de los porcentajes de los estándares dializados en agua.*

En la Tabla 4.93., se exponen los valores de las cantidades y porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas ensayados, en etanol.

Tabla 4.93. *Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en etanol.*

[ppb] EtOH	Estándares es etanol													
	Boscalid		Penconazol		Tebufenocida		Kresoxim-metil		Trifloxistrobin		Clorpirifos		Cialotrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
100	21,6	21,6	22,4	22,4	25,8	25,8	21,8	21,8	11,6	11,6	<10	0	<10	0
500	101,6	20,32	104,2	20,84	120,6	24,12	107,8	21,56	55,5	11,1	<10	0	<10	0
1000	150,6	15,06	148,9	14,89	165,7	16,57	154,3	15,43	73,7	7,37	<10	0	<10	0
2000	421,6	21,08	409,9	20,5	438,8	21,94	421,6	21,08	237,8	11,89	<10	0	<10	0
5000	845,7	16,91	799,5	15,99	808,6	16,17	784,8	15,7	423,7	8,47	15,9	0,32	<10	0

En la Figura 4.72., se exponen gráficamente las variaciones porcentuales de los plaguicidas dializados en la experiencia.

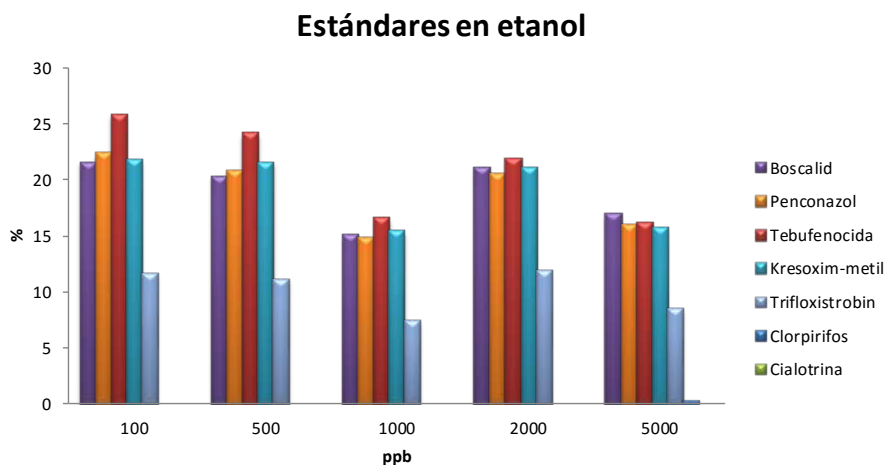


Figura 4.72. *Variación de los porcentajes de los estándares dializados en etanol.*

En la Tabla 4.94., se exponen los valores de las cantidades y porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas ensayados, en vino.

Tabla 4.94. *Cantidades dializadas de los plaguicidas en vino.*

[ppb] Vino	Plaguicida													
	Boscalid		Penconazol		Tebufenocida		Kresoxim-metil		Trifloxistrobin		Clorpirifos		Cialotrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	Ppb	%
100	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
500	18,1	3,62	18,2	3,64	22,3	4,46	20,3	4,06	10,8	2,16	<10	0	<10	0
1000	161,8	16,18	157,5	15,75	172,4	17,24	172,6	17,26	92,1	9,21	<10	0	<10	0
2000	318,9	15,95	298,3	14,92	336,9	16,85	345,6	17,28	169,3	8,47	<10	0	<10	0
5000	559,2	11,18	504,7	10,09	545,2	10,9	557,4	11,15	276,1	5,52	<10	0	<10	0

En la Figura 4.73., se exponen gráficamente las variaciones porcentuales de los plaguicidas dializados en la experiencia.

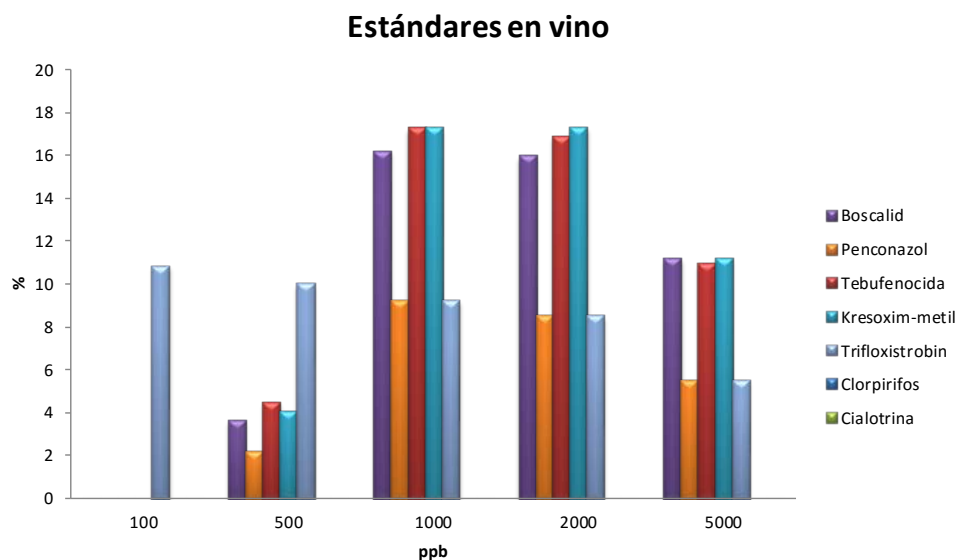


Figura 4.73. Variación de los porcentajes dializados en vino.

Por último, en la Tabla 4.95., se exponen los valores de las cantidades y porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas ensayados, en uva y en la Figura 4.74., las variaciones porcentuales en los dializados.

Tabla 4.95. Cantidades dializadas de los plaguicidas en uva.

[ppb] Uva	Plaguicida													
	Boscalid		Penconazol		Tebufenocida		Kresoxim-metil		Trifloxistrobin		Clorpirifos		Cialotrina	
	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%	Ppb	%	ppb	%	ppb	%
100	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0	<10	0
500	45,4	9,08	36,7	7,34	42,9	8,58	45,5	9,1	12,1	2,42	<10	0	<10	0
1000	89,0	8,9	71,8	7,18	84,7	8,47	92,5	9,25	27,8	2,78	<10	0	<10	0
2000	154,6	7,73	124,5	6,23	143,7	7,19	161,4	8,07	47,2	2,36	<10	0	<10	0
5000	339,9	6,8	273,4	5,47	311,3	6,23	324,6	6,49	90,1	1,8	15,9	0,32	<10	0

De los datos obtenidos en las tablas anteriores se deduce que la presencia de etanol produce un aumento en el porcentaje de dialización para todos los plaguicidas estudiados, ello puede ser debido a que el etanol hace que aumente la solubilidad de las distintas materias activas y por lo tanto tenga una mayor capacidad para dializarse. También puede que la presencia de etanol produzca una mayor permeabilidad en la membrana. Cuando la matriz es vino (disolución hidroalcohólica) disminuye la diálisis con respecto al agua; esta disminución puede ser debida al efecto matriz que llevan a acabo componentes del vino como azúcares residuales, ácidos orgánicos, compuestos

fenólicos, etc. Por último, para la uva, donde hay una presencia muy importante de azúcares, se produce una mayor disminución del porcentaje dializado.

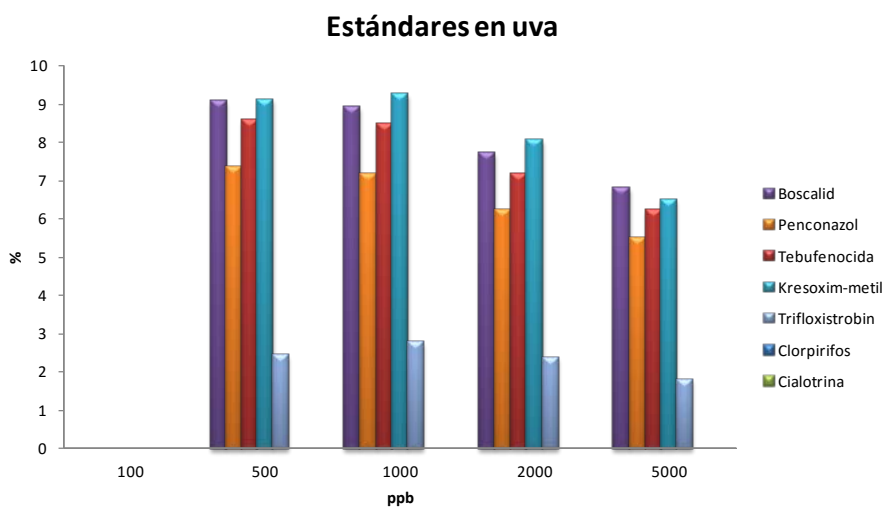


Figura 4.74. Variación de los porcentajes dializados en uva.

También se observa que con el aumento de la concentración se produce una disminución del porcentaje de diálisis. Los plaguicidas que tienen una mayor capacidad de absorción a través de la membrana son boscalid, penconazol, tebufenocida y kresoxim-metil. Para cialotrina, en cualquier matriz, no existe dialización a las concentraciones ensayadas; y para clorpirifos sólo se produce diálisis en la de 5000 ppb.

4.7.5.2. Biodisponibilidad del material vegetal estudiado.

Los estudios de biodisponibilidad realizados tanto en uva como en el vino obtenido, procedentes de los tratamientos con buenas y críticas prácticas agrícolas, corroboraron que en ningún caso se detectaron residuos de los plaguicidas ensayados en los dializados de todas estas muestras, lo que indica que a pesar de que las uvas o sus vinos pudieran presentar residuos, estos no son capaces de atravesar la membrana digestiva y no tendrían efecto toxicológico sobre el consumidor.

4.8. ESTUDIO 8. CÁLCULOS DE INGESTIÓN.

En este estudio se han calculado las ingestiones diarias estimadas (IDE) en función del consumo del producto en fresco y de sus manufacturados, según datos de

la Encuesta Nacional de consumo Familiar (INE, 2005) y de los datos del Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente para los años 2013-15 (MAGRAMA, 2014), separando los datos en consumo nacional, en la Región de Murcia y en ambientes urbanos y no urbanos.

En los casos concretos de albaricoque, calabacín y lechuga, se han hecho los cálculos sólo de los productos en fresco al no disponer de datos sobre el consumo de conserva, congelados y cuarta gama, respectivamente. En todos los apartados de este estudio seguiremos la misma sistemática, exponiendo los datos de consumo y posteriormente los resultados de los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA, para comprobar el posible riesgo alimentario en cada caso.

4.8.1. ALBARICOQUE.

En la Tabla 4.96., se exponen las cifras de consumo de albaricoque en fresco, expresadas en kg/persona y año.

Tabla 4.96. Consumo de albaricoque en fresco.

Consumo	Albaricoque
Nacional	0,57
Región de Murcia	0,47
Urbano	0,69
No urbano	0,45

En las Tablas 4.97. y 4.98., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para albaricoque en fresco y en los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

Tabla 4.97. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de albaricoque tratado bajo BPA.

ALBARICOQUE. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Tiacloprid	0,01	1,4523E-06	0,00014523	1,1975E-06	0,00011975	1,7581E-06	0,00017581	1,1466E-06	0,00011466
Bupirinato	0,05	3,5918E-07	7,1836E-06	2,9616E-07	5,9233E-06	4,3479E-07	8,6959E-06	2,8356E-07	5,6712E-06
Spinosad	0,024	4,6537E-06	0,0001939	3,8373E-06	0,00015989	5,6334E-06	0,00023473	3,674E-06	0,00015308
Flusilazol	0,002	3,5189E-06	0,00175945	2,9016E-06	0,00145078	4,2597E-06	0,00212986	2,7781E-06	0,00138904
Triflumizol	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0
Piridaben	0,01	5,5595E-06	0,00055595	4,5841E-06	0,00045841	6,7299E-06	0,00067299	4,389E-06	0,0004389

Tabla 4.98. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de albaricoque en fresco cultivado bajo CPA.

ALBARICOQUE. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Tiacloprid	0,01	5,8145E-06	0,00058145	4,7944E-06	0,00047944	7,0386E-06	0,00070386	4,5904E-06	0,00045904
Bupirimate	0,05	7,3137E-06	0,00014627	6,0306E-06	0,00012061	8,8534E-06	0,00017707	5,774E-06	0,00011548
Spinosad	0,024	6,1503E-06	0,00025626	5,0713E-06	0,0002113	7,4451E-06	0,00031021	4,8555E-06	0,00020231
Flusilazol	0,002	1,3251E-05	0,00662527	1,0926E-05	0,00546295	1,604E-05	0,00802007	1,0461E-05	0,00523048
Triflumizol	0,05	7,069E-06	0,00014138	5,8289E-06	0,00011658	8,5573E-06	0,00017115	5,5808E-06	0,00011162
Piridaben	0,01	1,4068E-05	0,00140678	1,16E-05	0,00115998	1,7029E-05	0,00170295	1,1106E-05	0,00111062

Como podemos observar la relación IDE/IDA alcanza, en general, valores inferiores a una milésima de la unidad, siendo aún más baja en el caso del cultivo tratado bajo condiciones BPA. Estos valores, menores de la unidad, ponen en evidencia el riesgo nulo de ingestión de esta fruta en condiciones de mercado.

4.8.2. MELOCOTÓN.

En la Tabla 4.99., se exponen las cifras de consumo de melocotón en fresco y en conserva, expresadas en kg/persona y año.

Tabla 4.99. Consumo de melocotón en fresco y en conserva.

Consumo	En fresco	Conserva
Nacional	6,31	0,67
Región de Murcia	6,23	0,38
Urbano	6,63	0,63
No urbano	5,96	0,72

En las Tablas 4.100. a 4.103., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para melocotón en fresco y en conserva, para los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

Tabla 4.100. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en fresco cultivado bajo BPA.

MELOCOTÓN. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Flonicamida	0,025	2,2589E-05	0,00090357	2,2303E-05	0,00089211	2,3735E-05	0,00094939	2,1336E-05	0,00085345
Imidacloprid	0,06	7,4913E-06	0,00012486	7,3963E-06	0,00012327	7,8712E-06	0,00013119	7,0758E-06	0,00011793
Ciproconazol	0,02	3,544E-06	0,0001772	3,499E-06	0,00017495	3,7237E-06	0,00018618	3,3474E-06	0,00016737
Fludioxinil	0,37	0,00018532	0,00050088	0,00018297	0,00049452	0,00019472	0,00052628	0,00017504	0,00047309
Ciprodinil	0,03	0,00012297	0,0040991	0,00012141	0,00404713	0,00012921	0,00430698	0,00011615	0,00387173
Bupirimate	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	6,9439E-06	0,00277755	6,8558E-06	0,00274234	7,296E-06	0,00291841	6,5587E-06	0,00262349

Tabla 4.101. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en fresco cultivado bajo CPA.

MELOCOTÓN. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Flonicamida	0,025	6,3388E-05	0,00253553	6,2584E-05	0,00250338	6,6603E-05	0,00266411	5,9872E-05	0,00239489
Imidacloprid	0,06	4,3104E-05	0,0007184	4,2557E-05	0,00070929	4,529E-05	0,00075483	4,0713E-05	0,00067855
Ciproconazol	0,02	7,6642E-06	0,00038321	7,567E-06	0,00037835	8,0529E-06	0,00040264	7,2391E-06	0,00036195
Fludioxinil	0,37	0,00033388	0,00090239	0,00032965	0,00089094	0,00035081	0,00094815	0,00031536	0,00085233
Ciprodinil	0,03	0,00025857	0,00861886	0,00025529	0,00850959	0,00027168	0,00905595	0,00024422	0,0081408
Bupirimate	0,05	5,9642E-05	0,00119285	5,8886E-05	0,00117773	6,2667E-05	0,00125334	5,6334E-05	0,00112668
Cialotrina	0,0025	1,4867E-05	0,00594696	1,4679E-05	0,00587156	1,5621E-05	0,00624855	1,4043E-05	0,0056171

Tabla 4.102. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en conserva cultivado bajo BPA.

MELOCOTÓN EN CONSERVA. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Flonicamida	0,025	1,3283E-05	0,00053131	1,3114E-05	0,00052457	1,3956E-05	0,00055825	1,2546E-05	0,00050184
Imidacloprid	0,06	3,1406E-06	5,2343E-05	3,1008E-06	5,168E-05	3,2999E-06	5,4998E-05	2,9664E-06	4,944E-05
Ciproconazol	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0
Fludioxinil	0,37	4,78E-05	0,00012919	4,7194E-05	0,00012755	5,0225E-05	0,00013574	4,5149E-05	0,00012202
Ciprodinil	0,03	3,3077E-05	0,00110257	3,2658E-05	0,00108859	3,4755E-05	0,00115848	3,1242E-05	0,00104141
Bupirimate	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 4.103. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en conserva cultivado bajo CPA.

MELOCOTÓN EN CONSERVA.CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plagucida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Flonicamida	0,025	3,5267E-05	0,00141067	3,482E-05	0,00139279	3,7055E-05	0,00148221	3,3311E-05	0,00133243
Imidacloprid	0,06	1,7345E-05	0,00028909	1,7125E-05	0,00028542	1,8225E-05	0,00030375	1,6383E-05	0,00027305
Ciproconazol	0,02	3,1694E-06	0,00015847	3,1292E-06	0,00015646	3,3301E-06	0,00016651	2,9936E-06	0,00014968
Fludioxinil	0,37	6,9554E-05	0,00018798	6,8672E-05	0,0001856	7,3081E-05	0,00019752	6,5696E-05	0,00017756
Ciprodinil	0,03	8,1742E-05	0,00272473	8,0706E-05	0,00269018	8,5887E-05	0,00286291	7,7208E-05	0,0025736
Bupirimato	0,05	8,3845E-06	0,00016769	8,2782E-06	0,00016556	8,8097E-06	0,00017619	7,9195E-06	0,00015839
Cialotrina	0,0025	4,7253E-06	0,00189012	4,6654E-06	0,00186616	4,9649E-06	0,00198597	4,4632E-06	0,00178528

Como se puede comprobar, la relación IDE/IDA, tanto en el consumo en fresco como en conserva, alcanza valores próximos a la milésima de unidad, lo que asegura la falta total de riesgo toxicológico en el consumo de melocotón en cualquiera de los ámbitos de población estudiados.

4.8.3. CALABACÍN.

En la Tabla 4.104., se exponen sólo las cifras de consumo de calabacín en fresco, expresadas en kg/persona y año, al no disponer de cifras de consumo de congelado.

Tabla 4.104. Consumo de calabacín en fresco.

Consumo	Calabacín
Nacional	0,70
Región de Murcia	0,66
Urbano	0,82
No urbano	0,56

En las Tablas 4.105. y 4.106., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para calabacín en fresco y en los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

En el caso del calabacín, la relación IDE/IDA disminuye aún más que en los casos anteriores, alcanzando valores próximos a la cienmilésima de la unidad e incluso a la millonésima, asegurando así la total seguridad toxicológica en la ingestión de esta solanácea.

Tabla 4.105. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de calabacín en fresco cultivado bajo BPA.

CALABACÍN. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Imidacloprid	0,06	4,8904E-07	8,15068E-06	4,611E-07	7,6849E-06	5,7288E-07	9,5479E-06	3,9123E-07	6,5205E-06
Dietofencarb	0,43	0	0	0	0	0	0	0	0
Piriproxifén	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Miclobutanil	0,06	7,5434E-07	1,25723E-05	7,1123E-07	1,1854E-05	8,8365E-07	1,4728E-05	6,0347E-07	1,0058E-05
Trifloxistrobin	0,1	4,2511E-07	4,25114E-06	4,0082E-07	4,0082E-06	4,9799E-07	4,9799E-06	3,4009E-07	3,4009E-06
Deltametrina	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 4.106. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de calabacín en fresco cultivado bajo CPA.

CALABACÍN. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Imidacloprid	0,06	1,5918E-06	2,65297E-05	1,5008E-06	2,5014E-05	1,8647E-06	3,1078E-05	1,2734E-06	2,1224E-05
Dietofencarb	0,43	3,1516E-06	7,3293E-06	2,9715E-06	6,9105E-06	3,6919E-06	8,5857E-06	2,5213E-06	5,8634E-06
Piriproxifén	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Miclobutanil	0,06	9,3653E-07	1,56088E-05	8,8301E-07	1,4717E-05	1,0971E-06	1,8285E-05	7,4922E-07	1,2487E-05
Trifloxistrobin	0,1	1,3393E-06	1,33927E-05	1,2627E-06	1,2627E-05	1,5689E-06	1,5689E-05	1,0714E-06	1,0714E-05
Deltametrina	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0

4.8.4. LECHUGA.

En la Tabla 4.107., se exponen sólo las cifras de consumo de lechuga en fresco (expresadas en kg/persona y año), al no disponer de cifras de consumo de lechuga preparada como ensalada o cuarta gama.

Tabla 4.107. Consumo de lechuga en fresco.

Consumo	Lechuga
Nacional	8,64
Región de Murcia	8,08
Urbano	8,65
No urbano	8,62

En las Tablas 4.108. y 4.109., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para lechuga en fresco y en los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

Tabla 4.108. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de lechuga en fresco cultivado bajo BPA.

LECHUGA. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Imidacloprid	0,06	4,2214E-06	7,0356E-05	3,9478E-06	6,5796E-05	4,2263E-06	7,0438E-05	4,2116E-06	7,0193E-05
Tebufenocida	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0
Metalaxil	0,08	0	0	0	0	0	0	0	0
Tebuconazol	0,03	7,9812E-05	0,00266038	7,4639E-05	0,00248795	7,9904E-05	0,00266346	7,9627E-05	0,00265423
Cipermetrina	0,05	7,3775E-06	0,00014755	6,8994E-06	0,00013799	7,3861E-06	0,00014772	7,3605E-06	0,00014721
Azoxistrobin	0,2	8,8767E-06	4,4384E-05	8,3014E-06	4,1507E-05	8,887E-06	4,4435E-05	8,8562E-06	4,4281E-05

Tabla 4.109. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de lechuga en fresco cultivado bajo CPA.

LECHUGA. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Imidacloprid	0,06	2,3474E-05	0,00039123	2,1953E-05	0,00036588	2,3501E-05	0,00039169	2,342E-05	0,00039033
Tebufenocida	0,02	4,6751E-05	0,00233753	4,3721E-05	0,00218603	4,6805E-05	0,00234024	4,6642E-05	0,00233212
Metalaxil	0,08	0,00015457	0,00193216	0,00014455	0,00180693	0,00015475	0,0019344	0,00015422	0,00192769
Tebuconazol	0,03	0,00012609	0,00420296	0,00011792	0,00393054	0,00012623	0,00420782	0,0001258	0,00419323
Cipermetrina	0,05	0,00025817	0,00516348	0,00024144	0,00482881	0,00025847	0,00516946	0,00025758	0,00515153
Azoxistrobin	0,2	0,0001511	0,00075551	0,00014131	0,00070654	0,00015128	0,00075638	0,00015075	0,00075376

También en el caso de la lechuga, nos encontramos con relaciones IDE/IDA del orden de milésimas, confirmando por tanto la ausencia de riesgos toxicológicos por la ingestión de esta hortaliza.

4.8.5. TOMATE.

En la Tabla 4.110., se exponen las cifras de consumo de tomate en fresco y en conserva, expresadas en kg/persona y año.

Tabla 4.110. Consumo de tomate en fresco y en conserva.

Consumo	En fresco	Conserva
Nacional	15,38	2,10
Región de Murcia	26,36	2,20
Urbano	15,18	2,38
No urbano	15,59	1,79

En tomate, solo se expone la tabla de valores correspondiente a tomate en fresco, bajo condiciones de cultivo CPA, ya que difenoconazol es el único plaguicida

que presenta una IDE/IDA mayor que cero (Tabla 4.111.). En todos los demás casos, fresco en BPA y conserva en BPA y CPA, el valor de la citada relación es cero.

Tabla 4.111. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de tomate en fresco cultivado bajo CPA.

TOMATE. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Pimetrocina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0
Kresoxim-metil	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Difenoconazol	0,01	1,6153E-05	0,00161525	2,7684E-05	0,0027684	1,5942E-05	0,00159425	1,6373E-05	0,00163731
Indoxacarb	0,006	0	0	0	0	0	0	0	0
Piriproxifén	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0

Como se puede comprobar en el único caso que existen valores de la IDE/IDA, alcanzan el rango de milésima de la unidad, por tanto, al no superar esa relación la unidad no existe riesgo toxicológico para el consumidor.

4.8.6. NARANJA.

En la Tabla 4.112., se exponen las cifras de consumo de naranja y de zumo, expresadas en kg/persona y año y en l/persona y año, respectivamente.

Tabla 4.112. Consumo de naranja en fresco y en zumo.

Consumo	Naranja	Zumo
Nacional	29,71	1,71
Región de Murcia	23,63	1,06
Urbano	30,42	2,08
No urbano	29,08	1,31

En las Tablas 4.113. a 4.115., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para naranja en fresco y zumo, para los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

Tabla 4.113. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de naranja en fresco cultivada bajo BPA.

NARANJA. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Metalaxil	0,08	0,00024202	0,00302526	0,00019249	0,00240616	0,0002478	0,00309756	0,00023689	0,00296111
Clorpirifos	0,001	0,00057996	0,57995548	0,00046127	0,46127055	0,00059382	0,59381507	0,00056766	0,56765753
Hexitiazox	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	0,00020431	0,08172285	0,0001625	0,06499868	0,00020919	0,08367584	0,00019997	0,07998992
Abamectina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 4.114. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de naranja en fresco cultivada bajo CPA.

NARANJA. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Metalaxil	0,08	0,00052922	0,00661522	0,00042092	0,00526145	0,00054186	0,00677331	0,000518	0,00647495
Clorpirifos	0,001	0,00101909	1,0190937	0,00081054	0,81054137	0,00104345	1,04344767	0,00099748	0,99748384
Hexitiazox	0,03	2,7675E-05	0,0009225	2,2012E-05	0,00073372	2,8336E-05	0,00094455	2,7088E-05	0,00090294
Cialotrina	0,0025	0,00031297	0,12518899	0,00024892	0,0995697	0,00032045	0,12818071	0,00030634	0,12253436
Abamectina	0,0025	3,4323E-05	0,013729	2,7299E-05	0,01091943	0,00004554	0,018216	3,3595E-05	0,01343788

En esta fruta, se observa que la relación IDE/IDA del insecticida clorpirifos presenta valores muy próximos a la unidad en el ámbito no urbano y en la Región de Murcia, e incluso supera ligeramente la unidad en ámbito nacional y urbano en el caso de cultivo bajo CPA. Este hecho implica que se debería tener un especial seguimiento de los residuos de este plaguicida en el cultivo de naranja. Cialotrina que es el segundo insecticida que presenta valores de IDE/IDA más altos, no supera dos décimas de unidad. En zumo y para naranjas cultivadas bajo BPA, no aparecen residuos de ninguno de los plaguicidas estudiados, por lo que obviamos la tabla correspondiente.

Tabla 4.115. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de zumo de naranja cultivada bajo CPA.

ZUMO. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Metalaxil	0,08	0	0	0	0	0	0	0	0
Clorpirifos	0,001	1,7772E-05	0,01777174	1,4135E-05	0,01413484	1,8196E-05	0,01819644	1,7395E-05	0,01739489
Hexitiazox	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	4,097E-05	0,01638798	3,2586E-05	0,01303426	4,1949E-05	0,01677962	4,0101E-05	0,01604047
Abamectina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

Al contrario que en naranja, los dos insecticidas que tenían más problemas clorpirifos y cialotrina, no superan valores de IDE/IDA de dos centésimas de unidad.

4.8.7. VINO.

En la Tabla 4.116., se exponen las cifras de consumo de vino (expresadas en l/persona y año).

Tabla 4.116. Consumo de vino.

Consumo	Vino
Nacional	22,12
Región de Murcia	14,35
Urbano	17,29
No urbano	27,27

En las Tablas 4.117. y 4.118., se exponen los valores de IDA, los cálculos de IDE y de la relación IDE/IDA (expresados en mg plaguicida/kg de persona y día) para vino obtenido de uvas en los dos tipos de cultivo BPA y CPA.

Tabla 4.117. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de vino de uva cultivada bajo BPA.

VINO. BPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Boscalid	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0
Penconazol	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0
Tebufenocida	0,02	2,1928E-05	0,0010964	1,4226E-05	0,00071128	1,714E-05	0,000857	0,00027033	0,01351671
Kresoxim-metil	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
Trifloxistrobin	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Clorpirifos	0,001	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

Como se puede comprobar, ni aún en el caso del cultivo más desfavorable CPA, se alcanzan valores de IDE/IDA superiores a las cuatro milésimas de unidad.

Tabla 4.118. Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de vino de uva cultivada bajo CPA.

VINO. CPA									
Ámbito		Nacional		Reg. Murcia		Urbano		No urbano	
Plaguicida	IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA	IDE	IDE/IDA
Boscalid	0,04	2,3837E-05	0,00059593	1,5464E-05	0,0003866	1,8632E-05	0,0004658	2,9387E-05	0,00073467
Penconazol	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0
Tebufenocida	0,02	5,0805E-05	0,00254026	3,2959E-05	0,00164796	3,9712E-05	0,00198559	6,2634E-05	0,00313169
Kresoxim-metil	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
Trifloxistrobin	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Clorpirifos	0,001	0	0	0	0	0	0	0	0
Cialotrina	0,0025	0	0	0	0	0	0	0	0

Para finalizar comprobamos que no hay ningún riesgo toxicológico en la ingestión de cualquiera de estos alimentos, salvo en el caso de naranjas tratadas con clorpirifos, en condiciones extremas. Pero aún en este caso si corregimos estos valores con los datos obtenidos de biodisponibilidad, todavía tendremos un margen de más de un 50% de seguridad toxicológica.



5. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

5. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

La exposición de resultados realizada a lo largo de esta Memoria, nos permite resumir el trabajo realizado en las siguientes conclusiones:

1. La metodología analítica multirresidual validada, extracción Quechers y cromatografía de gases y líquida con detector de espectrometría de masas, es suficientemente fiable, exacta y robusta para el fin perseguido y permite realizar correctamente los análisis de residuos de plaguicidas necesarios para este estudio.
 - a. Para todos los plaguicidas estudiados y en todos los estudios, se establece como límite de detección (LD) del método analítico el valor de 0,001 ppm y como límite de cuantificación (LQ) 0,01 ppm, ya que ninguno de ellos tiene legislado un LMR inferior a esta cantidad.
 - b. Para todas las materias activas ensayadas se comprueba la linealidad de respuesta del detector, con coeficientes de correlación (r^2) superiores a 0,999.
 - c. Los valores de repetibilidad, reproducibilidad y exactitud, así como sus coeficientes de variabilidad obtenidos en la validación del método cumplen los requisitos previos establecidos (CV>20% y recuperación 70-120%).
 - d. Los controles de calidad internos realizados en cada secuencia analítica y producto vegetal para 10 y 50 ppb cumplen los criterios establecidos y por tanto consideramos válido el método analítico utilizado.
 - e. Sólo en albaricoque se realizó la validación de la metodología analítica, tanto en producto fresco como en conserva, dadas las diferencias significativas en los parámetros de validación entre ambas matrices.

2. Los niveles residuales encontrados en las muestras de melocotón, lechuga, tomate y uva de vinificación son inferiores a sus LMR, tanto en los tratamientos BPA y CPA. En albaricoque, flusilazol supera su LMR en los dos tratamientos y triflumizol y piridaben lo hacen en CPA. En calabacín, únicamente dietofencarb supera su LMR en CPA. Por último, en naranja clorpirifos sobrepasa el LMR en ambos tratamientos y cialotrina y abacmectina en CPA.
3. Las diferentes etapas del proceso de elaboración de conservas, zumos, congelado y cuarta gama producen una disminución progresiva de los niveles residuales presentes en las muestras de campo. Sobre todo las etapas de lavado, pelado y escaldado.

En el caso del vino la mayor parte de los residuos presentes en la uva se retienen en el orujo, heces y lías.

4. Los factores de procesado (FP) calculados para cada uno de los distintos productos elaborados ponen de manifiesto que en tomate en conserva y en vino $F_{global}=0$ por lo que no se produce transferencia de los residuos de plaguicidas. En zumo de naranja no se supera el valor de 0,15, en lechuga 4ª gama y conserva de albaricoque no se supera el 0,3 y en calabacín congelado y melocotón en conserva no alcanzan el valor de 0,6.

Estos resultados indican que el procesado industrial de estos productos agrícolas produce una disminución de los niveles residuales iniciales en al menos un 40%, llegando incluso en alguno de ellos al 100%.

5. El estudio de la biodisponibilidad de los distintos plaguicidas en cada uno de los productos vegetales pone de manifiesto un claro efecto de la matriz y de la concentración en la capacidad de diálisis.
 - a. La presencia de las distintas matrices disminuye, en general, el porcentaje dializado de los estándares frente a su disolución en agua.
 - b. El incremento de la concentración de los plaguicidas produce un ligero descenso en la capacidad de diálisis en albaricoque y melocotón; mientras que en naranja y tomate produce un ligero aumento y en calabacín y lechuga prácticamente no afecta.
 - c. En el caso de calabacín congelado, tomate en conserva y zumo de naranja y vino, dados los bajos niveles residuales presentes no se

observa dialización. Para albaricoque en conserva, tiacloprid alcanza el 25% y el resto de los plaguicidas no supera el 10% de dialización. En melocotón en conserva y en lechuga 4ª gama, flonicamida e imidacloprid en el primero y tebuconazol, imidacloprid y metalaxil en el segundo dializan en niveles del 40%.

6. Los cálculos de ingestión diaria estimada (IDE) ponen de manifiesto la ausencia de riesgo toxicológico derivado del consumo de los productos vegetales estudiados. La relación IDE/IDA para todos los plaguicidas es inferior a la milésima, excepto para clorpirifos en naranja tratada bajo CPA, condiciones más desfavorables, que es de uno, lo que significa que no podría consumirse; cuando se elabora como zumo la relación es inferior a la centésima.
7. La aplicación de los valores obtenidos en los ensayos de biodisponibilidad *in vitro* al cálculo de la IDE implicaría una disminución de aproximadamente un 30%. Esto supondría una mayor disminución de la relación IDE/IDA y por tanto un mayor margen de seguridad alimentaria. Así, incluso en el caso antes mencionado de clorpirifos en naranja, haría posible su consumo con seguridad.
8. Los resultados obtenidos en esta memoria ponen de manifiesto que los tratamientos fitosanitarios siguiendo Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y las diferentes etapas de procesado de los productos vegetales aseguran una correcta calidad higiénica-sanitaria de los alimentos. Por tanto, el riesgo toxicológico por la ingestión de residuos de los plaguicidas estudiados y a las concentraciones encontradas es mínimo. Además, si se tienen en cuenta los valores de biodisponibilidad, este riesgo es todavía menor por la disminución de la ingestión diaria estimada (IDE).



6. BIBLIOGRAFÍA.

6. BIBLIOGRAFÍA.

- Abdel-Gawad, H., Mahdy, F., Hashad, A., & Elgemeie, G. H. (2014). Fate of ¹⁴C-ethion insecticide in the presence of deltamethrin and dimilin pesticides in cotton seeds and oils, removal of ethion residues in oils, and bioavailability of its bound residues to experimental animals. *J Agric Food Chem*, 62(51), 12287-12293.
- Abdel-Gawad, H., & Taha, H. (2011). Bioavailability and toxicological potential of sunflower-bound residues of (14)C-chlorpyrifos insecticide in rats. *J Environ Sci Health B*, 46(8), 683-690.
- Abdel-Ghany, M. F., Hussein, L. A., El Azab, N. F., El-Khatib, A. H., & Linscheid, M. W. (2016). Simultaneous determination of eight neonicotinoid insecticide residues and two primary metabolites in cucumbers and soil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1031, 15-28.
- Alder, L., Hill, A., Holland, P. T., Lantos, J., Lee, S. M., Macneil, J. D., O'rangers, J., Van Zoonen, P., & Ambrus, A. (2000). Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals. In *Principles and practices of method validation*. London, UK.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC Int*, 86(2), 412-431.
- Anastassiades, M., Scherbaum, E., Taşdelen, B., & Stajnbaher, D. (2007). Recent Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis. In H. Ohkawa, H. Miyagawa & P. W. Lee (Eds.), *Pesticide Chemistry*, (pp. 439-458): Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Angioni, A., Porcu, L., & Pirisi, F. (2011). LC/DAD/ESI/MS method for the determination of imidacloprid, thiacloprid, and spinosad in olives and olive oil after field treatment. *J Agric Food Chem*, 59(20), 11359-11366.
- Artursson, P. (1990). Epithelial transport of drugs in cell culture. I: A model for studying the passive diffusion of drugs over intestinal absorptive (Caco-2) cells. *J Pharm Sci*, 79(6), 476-482.

- Artursson, P., & Borchardt, R. T. (1997). Intestinal drug absorption and metabolism in cell cultures: Caco-2 and beyond. *Pharm Res*, 14(12), 1655-1658.
- Artursson, P., & Karlsson, J. (1991). Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 175(3), 880-885.
- Audus, K. L., Bartel, R. L., Hidalgo, I. J., & Borchardt, R. T. (1990). The use of cultured epithelial and endothelial cells for drug transport and metabolism studies. *Pharm Res*, 7(5), 435-451.
- Australian Government. (2015). Residue Trials to Obtain Permanent MRLS for Crops - Residue Guideline No. 24. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority.
- Bajwa, U., & Sandhu, K. S. (2014). Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review. *J Food Sci Technol*, 51(2), 201-220.
- Blaauboer, B. J. (2002). The applicability of in vitro-derived data in hazard identification and characterisation of chemicals. *Environ Toxicol Pharmacol*, 17(3-4), 213-225.
- Blaauboer, B. J. (2003). The integration of data on physico-chemical properties, in vitro-derived toxicity data and physiologically based kinetic and dynamic as modelling a tool in hazard and risk assessment. A commentary. *Toxicol Lett*, 138(1-2), 161-171.
- Bollinger, D. W., Tsunoda, A., Ledoux, D. R., Ellersieck, M. R., & Veum, T. L. (2005). A comparison of the test tube and the dialysis tubing in vitro methods for estimating the bioavailability of phosphorus in feed ingredients for swine. *J Agric Food Chem*, 53(9), 3287-3294.
- Bordagaray, A., Garcia-Arrona, R., & Millan, E. (2013). Development and application of a screening method for triazole fungicide determination in liquid and fruit samples using solid-phase microextraction and HPLC-DAD. *Analytical Methods*, 5(10), 2565-2571.
- Cai, D., Gao, L., & Guo, J. (1999). Determination of triflumizole and its metabolite residues in vegetables by high performance liquid chromatography. *Se Pu*, 17(3), 299-300.
- Camenisch, G., Alsenz, J., Van de Waterbeemd, H., & Folkers, G. (1998). Estimation of permeability by passive diffusion through Caco-2 cell monolayers using the drugs' lipophilicity and molecular weight. *Eur J Pharm Sci*, 6(4), 317-324.
- Camenisch, G., Folkers, G., & Van de Waterbeemd, H. (1998). Shapes of membrane permeability-lipophilicity curves: extension of theoretical models with an aqueous pore pathway. *Eur J Pharm Sci*, 6(4), 325-329.
- CARM. (2003). Orden de 3 de diciembre de 2003, que aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Región de Murcia. In A. y. M. A. Consejería de

- Agricultura (Ed.), Ed. CARM ed., (pp. 20517- 20530). Murcia, España: BORM. 286°.
- Carrero, J. M., & Planes, S. (1995). *Plagas del campo* (12^a ed.). Madrid, España.
- Chavarri, M. J., Herrera, A., & Ariño, A. (2004). Pesticide residues in field-sprayed and processed fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(10), 1253-1259.
- Chiou, W. L., & Barve, A. (1998). Linear correlation of the fraction of oral dose absorbed of 64 drugs between humans and rats. *Pharm Res*, 15(11), 1792-1795.
- Coscolla, C., Yusa, V., Beser, M. I., & Pastor, A. (2009). Multi-residue analysis of 30 currently used pesticides in fine airborne particulate matter (PM 2.5) by microwave-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1216(51), 8817-8827.
- Comisión Europea. (2008). Dirección General de Sanidad y Protección de los Consumidores. *Nuevas normas sobre residuos de plaguicidas en los alimentos*. Hoja informativa, 4 pp. Bruselas.
- Comisión Europea. (2014). Dirección General de Comunicación Información al ciudadano. *Comprender las políticas de la Unión Europea: Seguridad alimentaria*. 16 pp. Bruselas.
- Dedola, F., Cabizza, M., & Satta, M. (2014). Determination of 28 pesticides applied on two tomato cultivars with a different surface/weight ratio of the berries, using a multiresidue GC-MS/MS method. *J Environ Sci Health B*, 49(9), 671-678.
- DG SANCO. (1997). Processing studies, Appendix E of Guidelines for the generation of data concerning residues as provided in Annex II part A, section 6 and Annex III, part A, section 8 of Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. In S. V. rev.5. (Ed.), (*EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE GENERAL*).
- DG SANCO. (2011). Method validation and Quality control procedures for Pesticide residues analysis in Food and Feed. *SANCO/12495/2011*.
- DG SANCO. (2015). Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. *SANCO/12571/2013*.
- Duhan, A., Kumari, B., & Gulati, R. (2010). Effect of household processing on fenazaquin residues in okra fruits. *Bull Environ Contam Toxicol*, 84(2), 217-220.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2012). Guidance on the Use of Probabilistic Methodology for Modelling Dietary Exposure to Pesticide Residues. *EFSA Journal* 10(10):2839, 95 pp. <http://www.efsa.europa.eu> Accesed 15.06.16.

- EFSA (European Food Safety Authority). (2013). Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for cyproconazole in mustard seed and gold of pleasure. *EFSA Journal* 2013;11(4):3194, 26 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3194
- EFSA (European Food Safety Authority). (2014). Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for lambda-cyhalothrin according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA Journal*, 12(1:3546), 117.
- EU PESTICIDES DATABASE. (2016). <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN> Accessed 08.09.16.
- Fait, A., & Colosio, C. (1998). Recent advances and current concepts in pesticide hazards. In F. A. Emmett EA, Gochfeld M, Hez SM.(eds) (Ed.), *The year book of occupational and environmental medicine*, (pp. 15-29). St. Louis: Mosby.
- Fajgelj, A., & Ambrus, A. (2000). *Principles and practices of method validation*. London, UK.
- FAO. (1986). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Guidelines on pesticide residue trials to provide data for the registration of pesticides and the establishment of maximum residue limits*. UN. Roma.
- FAO. (1993). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Codex Alimentarius: Pesticides residues in food*. 2nd Edition, Ed. FAO, Rome, Italy, p. 480.
- FAO. (1995). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Application risk analysis to food standard issues*. Ed. FAO, Rome, Italy, p. 39.
- FAO. (1997). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Manual on the Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed*. Rome, Italy: (FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION).
- FAO. (2002). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Agricultura mundial: hacia los años 2015-2030*. Food Agriculture Organization. UN. Roma.
- FAO. (2003). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Development of a good agricultural practice approach*. Rome, Italy, Ed. FAO, Rome, Italy, p. 27.
- FAO. (2006). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas*. Roma. Ed. FAO, Roma, Italia, pp. 7.
- FAO. (2008). (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Pesticide residues in food. Evaluations. Part II. Toxicology. World Health Organization, FAO/WHO/IPCS, 9-18 September 2008.

- FAO/OMS. (1993). Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y Organización Mundial de la Salud. *Reunión Mixta de Consulta FAO/OMS junto con Residuos de plaguicidas en los alimentos -1993 Informe conjunto*.
- FEDIOL (Federation European Vegetable Oil and Proteinmeal Industry). (2015) <http://www.fediol.be> Accessed 15.06.16.
- Ferreira, J. A., Ferreira, J. M., Talamini, V., Facco Jde, F., Rizzetti, T. M., Prestes, O. D., Adaime, M. B., Zanella, R., & Bottoli, C. B. (2016). Determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera* Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS. *Food Chem*, 213, 616-624.
- Ferrier, H., Nieuwenhuijsen, M., Boobis, A., & Elliott, P. (2002). Current knowledge and recent developments in consumer exposure assessment of pesticides: a UK perspective. *Food Addit Contam*, 19(9), 837-852.
- Forsberg, N. D., Rodriguez-Proteau, R., Ma, L., Morre, J., Christensen, J. M., Maier, C. S., Jenkins, J. J., & Anderson, K. A. (2011). Organophosphorus pesticide degradation product in vitro metabolic stability and time-course uptake and elimination in rats following oral and intravenous dosing. *Xenobiotica*, 41(5), 422-429.
- Gad, S. C. (2000). *In vitro toxicology* (2nd ed.). CRC Press, London, United Kingdom, p. 410.
- Garcia-Valcarcel, A. I., & Tadeo, J. L. (2011). Determination of azoles in sewage sludge from Spanish wastewater treatment plants by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*, 34(11), 1228-1235.
- Garrido Frenich, A., Arrebola Liébanas, F. J., Egea González, F., & Martínez Vidal, J. L. (2003). Análisis de residuos de plaguicidas en muestras vegetales de carácter graso mediante técnicas cromatográficas de gases y de líquidos con sistemas de detección de espectrometría de masas. *Expoliva 2003. XI Simposio Científico Técnico. Foro de la Tecnología Oleícola y la Calidad, TEC-31*, 6.
- Gil-Izquierdo, A., Zafrilla, P., & Tomás Barberán, F. (2002). An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *European Food Research and Technology*, 214(2), 155-159.
- Gilbert-Lopez, B., Garcia-Reyes, J. F., & Molina-Diaz, A. (2012). Determination of fungicide residues in baby food by liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Food Chem*, 135(2), 780-786.
- Gubbels-van Hal, W. M. L. G., Blaauboer, B. J., Barentsen, H. M., Hoitink, M. A., Meerts, I. A. T. M., & van der Hoeven, J. C. M. (2005). An alternative approach for the safety evaluation of new and existing chemicals, an exercise in integrated testing. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 42(3), 284-295.
- Gülden, M., Dierickx, P., & Seibert, H. (2006). Validation of a prediction model for estimating serum concentrations of chemicals which are equivalent to toxic concentrations in vitro. *Toxicol In Vitro*, 20(7), 1114-1124.

- Gülden, M., & Seibert, H. (2005). Impact of bioavailability on the correlation between in vitro cytotoxic and in vivo acute fish toxic concentrations of chemicals. *Aquat Toxicol*, 72(4), 327-337.
- Hadjikinova, M., Prokopov, T., & Taneva, D. (2006). Decontaminating effect in the processing of contaminated with pesticides cherries. *Khranitelno-vkusova-Promishlenost* 12:24-27.
- Harris, C. A., Renfrew, M. J., & Woolridge, M. W. (2001). Assessing the risks of pesticide residues to consumers: recent and future developments. *Food Addit Contam*, 18(12), 1124-1129.
- Hill, A. R., & Reynolds, S. L. (1999). Guidelines for in-house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124(6), 953-958.
- Hodgson, E., Smart, R. (2001). *Introduction to biochemical toxicology*. (3rd ed.). Appleton & Lange, Connecticut, USA, p. 588.
- INE. 2005. Gasto total por alimentos, bebidas y tabaco y valor unitario. En: Encuesta continua de presupuestos familiares, Base 1997, Resultados anuales 2005. Ed. INE, Madrid, España, <http://www.ine.es/> Acceso 07.09.16.
- ISO. (2005). *ISO/IEC 17025:2005: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. Ed. ISO, Geneva, Switzerland, p. 28.
- Jankowska, M., Kaczynski, P., Hrynko, I., & Lozowicka, B. (2016). Dissipation of six fungicides in greenhouse-grown tomatoes with processing and health risk. *Environ Sci Pollut Res Int*, 23(12), 11885-11900.
- Johnson, L. R. (1997). *Gastrointestinal physiology* (5th ed.). St Louis, USA, p.190.
- Juhasz, A. L., Smith, E., Weber, J., Rees, M., Rofe, A., Kuchel, T., Sansom, L., & Naidu, R. (2006). In vivo assessment of arsenic bioavailability in rice and its significance for human health risk assessment. *Environ Health Perspect*, 114(12), 1826-1831.
- Keikotlhaile, B. M., Spanoghe, P., & Steurbaut, W. (2010). Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: a meta-analysis approach. *Food Chem Toxicol*, 48(1), 1-6.
- Khan, S. U., Kacew, S., Dupont, S., Stratton, G. D. J., & Wheeler, W. B. (1987). Bioavailability in rats of bound residues from radishes treated with either radiolabeled dieldrin or carbofuran. *J Agric Food Chem*, 35, 89-93.
- Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Semeniuk, S., Gawel, M., Borzecka, M., & Posyniak, A. (2016). Multi-residue method for the determination of pesticides and pesticide metabolites in honeybees by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry-Honeybee poisoning incidents. *J Chromatogr A*, 1435, 100-114.

- Lennon, S. F., Reighard, G. L., Schermerhorn, P., Podhorniak, L., & Horton, D. (2006). Profiling presence and concentration of eighteen pesticide residues through a commercial canning process. In 713 ed., (pp. 409-416): International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Liang, Y., Liu, Y., Ding, Y., & Liu, X. J. (2014). Meta-analysis of food processing on pesticide residues in fruits. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 31(9), 1568-1573.
- Liu, M., Xie, Y., Li, H., Meng, X., Zhang, Y., Hu, D., Zhang, K., & Xue, W. (2016). Multiresidue determination of 29 pesticide residues in pepper through a modified QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* (DOI: 10.1002/bmc.3742).
- Liu, N., Dong, F., Chen, Z., Xu, J., Liu, X., Duan, L., Li, M., & Zheng, Y. (2016). Distribution behaviour of acaricide cyflumetofen in tomato during home canning. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 33(5), 824-830.
- Lozowicka, B., Jankowska, M., Hrynko, I., & Kaczynski, P. (2016). Removal of 16 pesticide residues from strawberries by washing with tap and ozone water, ultrasonic cleaning and boiling. *Environ Monit Assess*, 188, 51.
- Luetzow, M. (2003). Harmonization of exposure assessment for food chemicals: the international perspective. *Toxicol Lett*, 140-141, 419-425.
- Macbean, C. (2013). *The Pesticide Manual: A World Compendium* (16 th ed.). Alton, Hampshire, UK.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). (2014). Registro de productos fitosanitarios In MAGRAMA (Ed.), <http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/fitos.asp> Acceso 01.09.16.
- Martínez, G., Cermeño, S., Morales, A., Maestro, A., Oliva, J., Barba, A. (2015). Biodisponibilidad in vitro de boscalid, kresoximmetil y mepanipirín en vinos tintos (var. Tempranillo y Graciano). *Enología* 2.015. Innovación Vitivinícola (ISBN: 978-84-8424-378-6 (OT02)), 443-446.
- Martinez, G., Morales, A., Maestro, A., Cermeño, S., Oliva, J., & Barba, A. (2015). Determination of Nine Fungicides in Grape and Wine Using QuEChERS Extraction and LC/MS/MS Analysis. *J AOAC Int*, 98(6), 1745-1751.
- Matencio, E., Oliva, J., Cámara, M. A., Barba, A., Romero, F., & Abellán, P. (2004). Presencia de residuos de plaguicidas en alimentos infantiles industriales y de elaboración doméstica. *CTC Alimentación*, 19, 17-19.
- Mathew, R., Kacew, S., & Khan, S. U. (1998). Bioavailability in rats of bound pesticide residues from tolerant or susceptible varieties of soybean and canola treated with metribuzin or atrazine. *Chemosphere*, 36(3), 589-596.

- Miller, D. D., Schrickler, B. R., Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr*, *34*(10), 2248-2256.
- Mohapatra, S., Kumar, S., & Prakash, G. S. (2015). Residue evaluation of imidacloprid, spirotetramat, and spirotetramat-enol in/on grapes (*Vitis vinifera* L.) and soil. *Environ Monit Assess*, *187*(10), 632.
- Moore, R., Clark, W. D., & Vodopich, D. S. (1998). Botany. In WCB-McGraw-Hill (Ed.), 2nd ed.). Boston, USA.
- Morales, A., Ruiz, I., Oliva, J., & Barba, A. (2011). Determination of sixteen pesticides in peppers using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Environ Sci Health B*, *46*(6), 525-529.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, M. (2011). *Tablas de composición de alimentos* (13^a ed.).
- Navarro, S., Barba, A., Oliva, J., Navarro, G., & Pardo, F. (1999). Evolution of residual levels of six pesticides during elaboration of red wines. Effect of wine-making procedures in their disappearance. *J Agric Food Chem*, *47*(1), 264-270.
- Navarro, S., García, B., Navarro, G., Oliva, J., & Barba, A. (1997). Effect of Wine-Making Practices on the Concentrations of Fenarimol and Penconazole in Rosé Wines. *Journal of Food Protection*, *60*(9), 1120-1124.
- Nolan, R. J., Rick, D. L., Freshour, N. L., & Saunders, J. H. (1984). Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicol Appl Pharmacol*, *73*(1), 8-15.
- Nougadere, A., Sirot, V., Kadar, A., Fastier, A., Truchot, E., Vergnet, C., Hommet, F., Bayle, J., Gros, P., & Leblanc, J. C. (2012). Total diet study on pesticide residues in France: levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers. *Environ Int*, *45*, 135-150.
- Park, D. W., Kim, K. G., Choi, E. A., Kang, G. R., Kim, T. S., Yang, Y. S., Moon, S. J., Ha, D. R., Kim, E. S., & Cho, B. S. (2016). Pesticide residues in leafy vegetables, stalk and stem vegetables from South Korea: a long-term study on safety and health risk assessment. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, *33*(1), 105-118.
- Payá, P., Anastassiades, M., Mack, D., Sigalova, I., Tasdelen, B., Oliva, J., & Barba, A. (2007). Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Anal Bioanal Chem*, *389*(6), 1697-1714.
- Payá, P., Mulero, J., Oliva, J., Camara, M. A., & Barba, A. (2013). Influence of the matrix in bioavailability of flufenoxuron, lufenuron, pyriproxyfen and fenoxycarb residues in grapes and wine. *Food Chem Toxicol*, *60*, 419-423.

- Payá, P., Mulero, J., Oliva, J., Barba, A., Morillas, J., Zafrilla, P. 2006. In vitro availability of insect growth regulators from vegetables. *Comm. Appl. Biol. Sci. Ghent University*, 71/2b:549-553.
- Payá, P., Mulero, J., Oliva, J., Camara, M. A., Zafrilla, P., & Barba, A. (2007). Bioavailability of insect growth regulators in citrus and stone fruits. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 72(2), 151-159.
- Payá, P., Oliva, J., & Barba, A. (2009). Disappearance of fungicides in fresh and processed agricultural product. Influence of the elaboration techniques. In N. S. P. I. USA. (Ed.), *Fungicides: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*, 335-360.
- Payá, P., Oliva, J., Camara, M. A., & Barba, A. (2007a). Dissipation of insect growth regulators in fresh orange and orange juice. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 72(2), 161-169.
- Payá, P., Oliva, J., Cámara, M. A., & Barba, A. (2007b). Dissipation of insect growth regulators in fresh and canned fruits. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 87(13-14), 971-983.
- Payá, P., Oliva, J., Cámara, M. A., & Barba, A. (2007c). Dissipation of fenoxycarb and pyriproxyfen in fresh and canned peach. *J Environ Sci Health B*, 42(7), 767-773.
- Payá, P., Oliva, J., Zafrilla, P., Camara, M. A., & Barba, A. (2009). Bioavailability of insect growth regulator residues in citrus. *Ecotoxicology*, 18(8), 1137-1142.
- Pazzirota, T., Martin, L., Mezcuca, M., Ferrer, C., & Fernandez-Alba, A. R. (2013). Processing factor for a selected group of pesticides in a wine-making process: distribution of pesticides during grape processing. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 30(10), 1752-1760.
- Pineda, S., Schneider, M. I., & Martínez, A. M. (2007). El spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. *Ciencia Nicolaita*, 46, 29-42.
- Poet, T. S., Wu, H., Kousba, A. A., & Timchalk, C. (2003). In vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides chlorpyrifos and diazinon. *Toxicol Sci*, 72(2), 193-200.
- Pose, E., Cancho, B., Rial, R., & Simal, J. (2006). The dissipation rates of cyprodinil, fludioxonil, procymidone and vinclozoline during storage of grape juice. *Food Control*, 17(12), 1012-1017.
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch. Prev. Riesgos Labor.*, 4(2), 67-75.
- Renwick, A. G. (2002). Pesticide residue analysis and its relationship to hazard characterisation (ADI/ARfD) and intake estimations (NEDI/NESTI). *Pest Manag Sci*, 58(10), 1073-1082.
- Rieger, M. (2008). *Introduction to fruit crops*. Ed. Haworth Press, Philadelphia, USA, p. 462.

- Rizzetti, T. M., Kemmerich, M., Martins, M. L., Prestes, O. D., Adaime, M. B., & Zanella, R. (2016). Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS. *Food Chem*, *196*, 25-33.
- Romeh, A. A., Mekky, T. M., Ramadan, R. A., & Hendawi, M. Y. (2009). Dissipation of profenofos, imidacloprid and penconazole in tomato fruits and products. *Bull Environ Contam Toxicol*, *83*(6), 812-817.
- Ross, J. H., Driver, J. H., Cochran, R. C., Thongsinthusak, T., & Krieger, R. I. (2001). Could pesticide toxicology studies be more relevant to occupational risk assessment? *Ann Occup Hyg*, *45 Suppl 1*, S5-s17.
- Ruiz, I., Morales, A., Barba, A., & Oliva, J. (2012). Determination of natural pesticides in fresh fruits using liquid chromatography/mass spectrometry. *J AOAC Int*, *95*(1), 238-243.
- Sabbioni, G., & Neumann, H. G. (1990). Biomonitoring of arylamines: hemoglobin adducts of urea and carbamate pesticides. *Carcinogenesis*, *11*(1), 111-115.
- Sandermann, H., Arjmand, M., Gennity, I., Winkler, R., Struble, C. B., & Aschbacher, P. W. (1990). Animal bioavailability of defined xenobiotic lignin metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *38*(9), 1877-1880.
- Sandermann, H., Musick, T. J., & Aschbacher, P. W. (1992). Animal bioavailability of a 3,4-dichloroaniline-lignin metabolite fraction from wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*(10), 2001-2007.
- Sannino, A. (2007). Determination of three natural pesticides in processed fruit and vegetables using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, *21*(13), 2079-2086.
- Schneider, K., Ollroge, I., Clauberg, M., & Schuhmacher-Wolz, U. (2007). Analysis of risk assessment and risk management processes in the derivation of maximum levels for environmental contaminants in food. *Food Addit Contam*, *24*(7), 768-776.
- Schricker, B. R., Miller, D. D., Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). A comparison of in vivo and in vitro methods for determining availability of iron from meals. *Am J Clin Nutr*, *34*(10), 2257-2263.
- Soler, C., Manes, J., & Pico, Y. (2005). Routine application using single quadrupole liquid chromatography-mass spectrometry to pesticides analysis in citrus fruits. *J Chromatogr A*, *1088*(1-2), 224-233.
- Souci, S. W., Fachmann, W., & Kraut, H. (1999). *El pequeño "Souci-Fachmann-Kraut": tablas de composición de alimentos*: Acribia.
- Thompson, G. D., Dutton, R., & Sparks, T. C. (2000). Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science*, *56*(8), 696-702.

- Timchalk, C., Nolan, R. J., Mendrala, A. L., Dittenber, D. A., Brzak, K. A., & Mattsson, J. L. (2002). A Physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic (PBPK/PD) model for the organophosphate insecticide chlorpyrifos in rats and humans. *Toxicol Sci*, *66*(1), 34-53.
- Tiryaki, O. (2016). Validation of QuEChERS method for the determination of some pesticide residues in two apple varieties. *J Environ Sci Health B*, 1-8.
- Tomerlin, J. R., & Petersen, B. J. (2004). Diets and Dietary Modelling for Dietary Exposure Assessment. In *Pesticide Residues in Food and Drinking Water*, (pp. 167-211): John Wiley & Sons, Ltd.
- Tomlin, C., & Council, B. C. P. (2009). *The Pesticide Manual: A World Compendium* (15th ed.): BCPC.
- Tran, K., Eide, D., Nickols, S. M., Cromer, M. R., Sabaa-Srur, A., & Smith, R. E. (2012). Finding of pesticides in fashionable fruit juices by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chem*, *134*(4), 2398-2405.
- United Kingdom Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. (2004). *Instructions for carrying out long term consumer risk assessment using PSD's ten consumer model*. Ed. United Kingdom Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, United Kingdom, p. 12.
- Urieta, I., Jalón, M., & Eguileor, I. (1996). Food surveillance in the Basque Country (Spain). II. Estimation of the dietary intake of organochlorine pesticides, heavy metals, arsenic, aflatoxin M1, iron, zinc through the total diet study, 1990/91. *Food Addit. Contam.*, *13*, 29-52.
- USDA. (2013). *Food Availability (Per Capita) Data System*. <http://www.ers.usda.gov/Data/FoodConsumption/> Accessed 27.07.16.
- US EPA, 2006. *Terminology reference system*. Ed. US EPA, Washington, DC, USA, <http://www.epa.gov/trs/> Accessed 20.07.16.
- Uygun, U., Senoz, B., Ozturk, S., & Koksel, H. (2009) Degradation of organophosphorus pesticides in wheat during cookie processing. *Food Chem* *117*:261-264.
- Valcke, M., Chaverri, F., Monge, P., Bravo, V., Mergler, D., Partanen, T., & Wesseling, C. (2005). Pesticide prioritization for a case-control study on childhood leukemia in Costa Rica: a simple stepwise approach. *Environ Res*, *97*(3), 335-347.
- Velasco-Reynold, C., Navarro-Alarcon, M., Lopez, G. d. I. S. H., Perez-Valero, V., & Lopez-Martinez, M. C. (2008). In vitro determination of zinc dialyzability from duplicate hospital meals: influence of other nutrients. *Nutrition*, *24*(1), 84-93.
- Vuik, J. (1991). Rapid determination of abamectin in lettuce and cucumber by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, *553*(1-2), 299-304.

- Wang, C., Duan, H. Y., & Teng, J. W. (2014). Assessment of microwave cooking on the bioaccessibility of cadmium from various food matrices using an in vitro digestion model. *Biol Trace Elem Res*, 160(2), 276-284.
- Wang, Y., Wang, C., Gao, J., Liu, C., Cui, L., & Li, A. (2015). Dissipation, residues, and safety evaluation of trifloxystrobin and tebuconazole on ginseng and soil. *Environ Monit Assess*, 187(6), 344.
- WHO. (1997). (World Health Organization of the United Nations). *Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues*. Ed. WHO, Geneva, Switzerland, p. 30.
- Woollen, B. H. (1993). Biological monitoring for pesticide absorption. *Ann Occup Hyg*, 37(5), 525-540.
- Yanez, K. P., Bernal, J. L., Nozal, M. J., Martin, M. T., & Bernal, J. (2013). Determination of seven neonicotinoid insecticides in beeswax by liquid chromatography coupled to electrospray-mass spectrometry using a fused-core column. *J Chromatogr A*, 1285, 110-117.
- Yeh, L.-T., Schwedler, D. A., Schelle, G. E., & Balcer, J. L. (1997). Application of Empore Disk Extraction for Trace Analysis of Spinosad and Metabolites in Leafy Vegetables, Peppers, and Tomatoes by High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1746-1751.
- Zhang, Y., Xu, J., Dong, F., Liu, X., Li, X., Li, Y., Wu, X., Liang, X., & Zheng, Y. (2013). Simultaneous determination of four neonicotinoid insecticides residues in cereals, vegetables and fruits using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*, 5(6), 1449-1455.



7. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

7. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

7.1. TABLAS.

Tabla 3.1. <i>Características y ubicación de la parcela experimental</i>	88
Tabla 3.2. <i>Características de los productos comerciales aplicados</i>	88
Tabla 3.3. <i>Características y ubicación de la parcela experimental.</i>	89
Tabla 3.4. <i>Características de los productos comerciales aplicados</i>	90
Tabla 3.5. <i>Características y ubicación de la parcela experimental.</i>	91
Tabla 3.6. <i>Características de los productos comerciales aplicados.</i>	91
Tabla 3.7. <i>Características y ubicación de la parcela experimental.</i>	93
Tabla 3.8. <i>Características de los productos comerciales aplicados.</i>	93
Tabla 3.9. <i>Características y ubicación de la parcela experimental.</i>	94
Tabla 3.10. <i>Características de los productos comerciales aplicados.</i>	95
Tabla 3.11. <i>Características y ubicación de la parcela experimental</i>	96
Tabla 3.12. <i>Características de los productos comerciales aplicados.</i>	96
Tabla 3.13. <i>Características y ubicación de la parcela experimental</i>	98
Tabla 3.14. <i>Características de los productos comerciales aplicados</i>	98
Tabla 3.15. <i>Gradientes de flujos utilizados en el análisis LC-MS/MS QqQ.</i>	106
Tabla 4.1. <i>Condiciones de análisis en LC-MS/MS para albaricoque</i>	118
Tabla 4.2. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas en albaricoque, analizados por LC-MS/MS</i>	118
Tabla 4.3. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en albaricoque</i>	121
Tabla 4.4. <i>Recuperaciones de las muestras de albaricoque fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.</i>	121

Tabla 4.5. <i>Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.</i>	122
Tabla 4.6. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas en conserva de albaricoque, analizados por LC-MS/MS</i>	122
Tabla 4.7. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en albaricoque en conserva</i>	123
Tabla 4.8. <i>Recuperaciones de las muestras de albaricoque en conserva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.</i>	124
Tabla 4.9. <i>Recuperaciones de las muestras de albaricoque en conserva fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.</i>	124
Tabla 4.10. <i>Diferencias significativas entre matrices.</i>	125
Tabla 4.11. <i>LMR y residuos de los plaguicidas estudiados en albaricoque fresco.</i>	126
Tabla 4.12. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de albaricoque en conserva.</i>	127
Tabla 4.13. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad en las diferentes etapas de fabricación de conserva de albaricoque.</i>	129
Tabla 4.14. <i>Factores de procesado en albaricoque en conserva en condiciones de BPA y CPA.</i>	130
Tabla 4.15. <i>Cantidades dializadas (ppb) de estándares de los plaguicidas en agua</i>	131
Tabla 4.16. <i>Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas seleccionados en albaricoque fresco.</i>	132
Tabla 4.17. <i>Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas en albaricoque conserva</i>	133
Tabla 4.18. <i>Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas seleccionados en las muestras.</i>	134
Tabla 4.19. <i>Condiciones de análisis en LC-MS/MS para melocotón.</i>	136
Tabla 4.20. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en melocotón, en LC-MS/MS.</i>	136
Tabla 4.21. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en melocotón</i>	139
Tabla 4.22. <i>Recuperaciones de las muestras de melocotón fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.</i>	139
Tabla 4.23. <i>Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de reproducibilidad</i>	139
Tabla 4.24. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en melocotón fresco.</i>	140
Tabla 4.25. <i>Valores residuales en las etapas de fabricación de conserva de melocotón.</i>	142
Tabla 4.26. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de melocotón</i>	143
Tabla 4.27. <i>Factores de procesado calculados en melocotón en conserva tratados bajo BPA y CPA</i>	144

Tabla 4.28. <i>Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	145
Tabla 4.29. <i>Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en melocotón.</i>	146
Tabla 4.30. <i>Cantidades dializadas (ppb) de las muestras para los plaguicidas seleccionados.</i> ..	147
Tabla 4.31. <i>Condiciones de análisis para la matriz de calabacín</i>	148
Tabla 4.32. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en calabacín, en LC-MS/MS y GC-MS.</i>	148
Tabla 4.33. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en calabacín</i>	152
Tabla 4.34. <i>Recuperaciones de las muestras de calabacín fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.</i>	152
Tabla 4.35. <i>Recuperaciones de las muestras de calabacín fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad</i>	152
Tabla 4.36. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en calabacín fresco.</i>	153
Tabla 4.37. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de calabacín congelado</i>	155
Tabla 4.38. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad en el análisis de las diferentes etapas de fabricación de congelado de calabacín.</i>	156
Tabla 4.39. <i>Factores de procesado calculados en calabacín cultivados bajo BPA y CPA y sometidos al proceso de conservación.</i>	157
Tabla 4.40. <i>Resultados de biodisponibilidad de estándares en agua</i>	158
Tabla 4.41. <i>Resultados de biodisponibilidad en matriz de calabacín.</i>	159
Tabla 4.42. <i>Dializados en el estudio de biodisponibilidad de calabacín fresco y congelado</i>	160
Tabla 4.43. <i>Condiciones de análisis para la matriz de lechuga</i>	160
Tabla 4.44. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en lechuga, en LC-MS/MS y GC-MS.</i>	161
Tabla 4.45. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en lechuga</i>	164
Tabla 4.46. <i>Recuperaciones de las muestras de lechuga fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad.</i>	164
Tabla 4.47. <i>Recuperaciones de las muestras de lechuga fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de reproducibilidad.</i>	165
Tabla 4.48. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en lechuga fresca.</i>	165
Tabla 4.49. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de elaboración de lechuga 4ª gama.</i> ..	167
Tabla 4.50. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de lechuga.</i>	168
Tabla 4.51. <i>Factores de procesado calculados en lechuga tratados bajo BPA y CPA</i>	169

Tabla 4.52. <i>Resultados de biodisponibilidad en estándares</i>	170
Tabla 4.53. <i>Resultados de biodisponibilidad en lechuga</i>	171
Tabla 4.54. <i>Resultados de biodisponibilidad en lechuga procesada</i>	172
Tabla 4.55. <i>Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de tomate</i>	173
Tabla 4.56. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de tomate, analizados en LC-MS/MS</i>	173
Tabla 4.57. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en tomate</i>	176
Tabla 4.58. <i>Recuperaciones de las muestras de tomate fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad</i>	176
Tabla 4.59. <i>Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de reproducibilidad</i>	176
Tabla 4.60. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en tomate fresco</i>	177
Tabla 4.61. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de conserva de tomate</i>	178
Tabla 4.62. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de conserva de tomate</i>	179
Tabla 4.63. <i>Resultados de la biodisponibilidad de estándares en agua</i>	180
Tabla 4.64. <i>Resultados de la biodisponibilidad de los estándares en matriz de tomate</i>	181
Tabla 4.65. <i>Resultados de biodisponibilidad en tomate procesado</i>	182
Tabla 4.66. <i>Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de naranja</i>	182
Tabla 4.67. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de naranja, analizados en LC-MS/MS</i>	183
Tabla 4.68. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en naranja</i>	184
Tabla 4.69. <i>Recuperaciones de las muestras de naranja fortificadas a LQ y 10LQ, en condiciones de repetibilidad</i>	186
Tabla 4.70. <i>Recuperaciones de las muestras fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de reproducibilidad</i>	186
Tabla 4.71. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en naranja</i>	186
Tabla 4.72. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de fabricación de zumo de naranja</i> ..	188
Tabla 4.73. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de fabricación de zumo de naranja</i>	190
Tabla 4.74. <i>Factores de procesado calculados en naranja tratadas bajo BPA y CPA y sometidos al proceso de elaboración de zumo</i>	190
Tabla 4.75. <i>Cantidades dializadas (ppb) de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	191

Tabla 4.76. <i>Cantidades dializadas de los plaguicidas en muestras de naranja.</i>	192
Tabla 4.77. <i>Cantidades dializadas (ppb) de los plaguicidas en muestras de zumo de naranja.</i> ..	193
Tabla 4.78. <i>Cantidades dializadas (ppb) de las muestras para los plaguicidas seleccionados.</i> ..	194
Tabla 4.79. <i>Condiciones de análisis en LC-MS/MS para la matriz de uva</i>	194
Tabla 4.80. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en matriz de uva, analizados en LC-MS/MS.</i>	195
Tabla 4.81. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en uva.</i>	196
Tabla 4.82. <i>Recuperaciones de las muestras de uva fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de repetibilidad</i>	198
Tabla 4.83. <i>Recuperaciones de las muestras de uva fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de reproducibilidad</i>	198
Tabla 4.84. <i>Ecuaciones de regresión, desviación estándar relativa y coeficiente de regresión de los plaguicidas estudiados en vino, analizados en LC-MS/MS</i>	199
Tabla 4.85. <i>Valores de CV% en el cálculo de la precisión en vino</i>	200
Tabla 4.86. <i>Recuperaciones de las muestras de vino fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de repetibilidad</i>	200
Tabla 4.87. <i>Recuperaciones de las muestras de vino fortificadas a LQ y 10LQ en condiciones de reproducibilidad</i>	200
Tabla 4.88. <i>Residuos de los plaguicidas estudiados en uva</i>	201
Tabla 4.89. <i>Valores residuales en las diferentes etapas de la elaboración de vino</i>	202
Tabla 4.90. <i>Porcentajes de recuperación en controles de calidad de las diferentes etapas de elaboración de vino</i>	204
Tabla 4.91. <i>Factores de procesado en uva tratada bajo BPA y CPA y sometida a vinificación.</i>	205
Tabla 4.92. <i>Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	206
Tabla 4.93. <i>Cantidades dializadas de los estándares de los plaguicidas en etanol</i>	207
Tabla 4.94. <i>Cantidades dializadas de los plaguicidas en vino</i>	207
Tabla 4.95. <i>Cantidades dializadas de los plaguicidas en uva</i>	208
Tabla 4.96. <i>Consumo de albaricoque en fresco</i>	210
Tabla 4.97. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de albaricoque tratado bajo BPA</i>	210
Tabla 4.98. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de albaricoque en fresco cultivado bajo CPA</i>	211
Tabla 4.99. <i>Consumo de melocotón en fresco y en conserva</i>	211
Tabla 4.100. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en fresco cultivado bajo BPA</i>	212
Tabla 4.101. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en fresco cultivado bajo CPA</i>	212

Tabla 4.102. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en conserva cultivado bajo BPA ..</i>	212
Tabla 4.103. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de melocotón en conserva cultivado bajo CPA ..</i>	213
Tabla 4.104. <i>Consumo de calabacín en fresco</i>	213
Tabla 4.105. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de calabacín en fresco cultivado bajo BPA</i>	214
Tabla 4.106. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de calabacín en fresco cultivado bajo CPA</i>	214
Tabla 4.107. <i>Consumo de lechuga en fresco</i>	214
Tabla 4.108. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de lechuga en fresco cultivado bajo BPA</i>	215
Tabla 4.109. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de lechuga en fresco cultivado bajo CPA</i>	215
Tabla 4.110. <i>Consumo de tomate en fresco y en conserva</i>	215
Tabla 4.111. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de tomate en fresco cultivado bajo CPA</i>	216
Tabla 4.112. <i>Consumo de naranja en fresco y en zumo</i>	216
Tabla 4.113. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de naranja en fresco cultivada bajo BPA</i>	217
Tabla 4.114. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de naranja en fresco cultivada bajo CPA</i>	217
Tabla 4.115. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de zumo de naranja cultivada bajo CPA</i>	217
Tabla 4.116. <i>Consumo de vino</i>	218
Tabla 4.117. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de vino de uva cultivada bajo BPA</i>	218
Tabla 4.118. <i>Valores de IDA, IDE y IDE/IDA de vino de uva cultivada bajo CPA</i>	219

7.2. FIGURAS.

Figura 1.1. <i>Esquema del trabajo realizado</i>	5
Figura 2.1. <i>Consumo de fitosanitarios en agricultura en España 1995-2010</i>	11
Figura 2.2. <i>Consumo de plaguicidas en Europa</i>	12
Figura 2.3. <i>Consumo de plaguicidas en España</i>	12
Figura 3.1. <i>Variedad de albaricoque utilizada</i>	87
Figura 3.2. <i>Variedad de melocotón utilizada</i>	89
Figura 3.3. <i>Variedad de calabacín utilizada en este estudio</i>	90
Figura 3.4. <i>Variedad de lechuga utilizada en este estudio</i>	92
Figura 3.5. <i>Variedad de tomate utilizada en este estudio</i>	94

Figura 3.6. <i>Variedad de naranja utilizada en este estudio</i>	96
Figura 3.7. <i>Variedad de uva utilizada en este estudio</i>	97
Figura 3.8. <i>Elaboración de albaricoque en conserva</i>	101
Figura 3.9. <i>Elaboración de melocotón en conserva</i>	102
Figura 3.10. <i>Elaboración de calabacín congelado</i>	102
Figura 3.11. <i>Elaboración de lechuga 4ª gama</i>	103
Figura 3.12. <i>Elaboración de conserva de tomate</i>	103
Figura 3.13. <i>Elaboración de zumo de naranja</i>	104
Figura 3.14. <i>Elaboración de vino</i>	104
Figura 3.15. <i>Esquema del método de extracción utilizado</i>	105
Figura 3.16. <i>Protocolo del ensayo de biodisponibilidad in vitro</i>	111
Figura 4.1. <i>Rectas de calibrado en matriz albaricoque</i>	119
Figura 4.2. <i>Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en albaricoque</i>	119
Figura 4.3. <i>Ionización de los compuestos de interés</i>	120
Figura 4.4. <i>Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en conserva de albaricoque</i>	123
Figura 4.5. <i>Cromatograma de la muestra de 50 ppb de albaricoque fresco</i>	125
Figura 4.6. <i>Cromatograma de la muestra de 50 ppb de albaricoque en conserva</i>	126
Figura 4.7. <i>Comparación de los residuos en albaricoque con su LMR</i>	127
Figura 4.8. <i>Variación de los residuos en el proceso de conserva de albaricoque</i>	128
Figura 4.9. <i>Variación de los factores de procesado en conserva de albaricoque</i>	130
Figura 4.10. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	131
Figura 4.11. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en albaricoque</i>	132
Figura 4.12. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en albaricoque en conserva</i>	133
Figura 4.13. <i>Porcentajes dializados de los plaguicidas en albaricoque, respecto a sus valores residuales en las diferentes etapas de fabricación</i>	135
Figura 4.14. <i>Rectas de calibrado en matriz de melocotón</i>	136
Figura 4.15. <i>Cromatograma correspondiente a la concentración de 10 ppb en melocotón</i>	137
Figura 4.16. <i>Ionización de los compuestos de interés</i>	138

Figura 4.17. <i>Comparación de los residuos en melocotón tratado bajo BPA y CPA con su LMR</i>	140
Figura 4.18. <i>Cromatograma de una muestra de melocotón BPA</i>	141
Figura 4.19. <i>Cromatograma de una muestra de melocotón CPA</i>	141
Figura 4.20. <i>Variación de los residuos en el proceso de conserva de melocotón</i>	142
Figura 4.21. <i>Variación de los factores de procesado en conserva de melocotón</i>	144
Figura 4.22. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	145
Figura 4.23. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en melocotón</i>	146
Figura 4.24. <i>Porcentajes dializados de melocotón de los plaguicidas respecto a sus valores residuales en las etapas de fabricación</i>	147
Figura 4.25. <i>Rectas de calibrado en matriz calabacín a) LC-MS/MS y b) GC-MS</i>	149
Figura 4.26. <i>Cromatograma de una calibración en calabacín de 10 ppb en LC-MS/MS</i>	149
Figura 4.27. <i>Cromatograma de una calibración en calabacín de 10 ppb en GC-MS</i>	150
Figura 4.28. <i>Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS</i>	150
Figura 4.29. <i>Ionización de los compuestos de interés en GC-MS</i>	151
Figura 4.30. <i>Comparación de los residuos en calabacín cultivado bajo BPA y CPA con su LMR</i>	153
Figura 4.31. <i>Cromatograma de una muestra de calabacín a) LC-MS/MS y b) GC-MS</i>	154
Figura 4.32. <i>Variación de los residuos en el proceso de congelación de calabacín</i>	155
Figura 4.33. <i>Variación de los factores de procesado de congelación de calabacín</i>	157
Figura 4.34. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	158
Figura 4.35. <i>Porcentajes dializados de los plaguicidas seleccionados en calabacín</i>	159
Figura 4.36. <i>Rectas de calibrado en matriz lechuga a) LC/MS-MS y b) GC/MS</i>	161
Figura 4.37. <i>Cromatograma de una calibración en lechuga de 10 ppb en LC/MS-MS</i>	162
Figura 4.38. <i>Cromatograma de una calibración en lechuga de 10 ppb en GC/MS</i>	162
Figura 4.39. <i>Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS</i>	163
Figura 4.40. <i>Ionización de los compuestos de interés en GC/MS</i>	163
Figura 4.41. <i>Comparación de los residuos en lechuga con su LMR</i>	165
Figura 4.42. <i>Cromatogramas de una muestra de lechuga a) LC-MS/MS y b) GC-MS</i>	166
Figura 4.43. <i>Variación de los residuos en el proceso de preparación de lechuga 4ª gama</i>	167
Figura 4.44. <i>Variación de los factores de procesado de lechuga 4ª gama</i>	169

Figura 4.45. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	170
Figura 4.46. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en matriz de lechuga</i>	171
Figura 4.47. <i>Porcentajes dializados de los plaguicidas en lechuga procesada</i>	172
Figura 4.48. <i>Rectas de calibrado en matriz tomate</i>	174
Figura 4.49. <i>Cromatograma de una calibración en tomate de 10 ppb</i>	174
Figura 4.50. <i>Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS</i>	175
Figura 4.51. <i>Cromatograma de una muestra de tomate</i>	177
Figura 4.52. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	180
Figura 4.53. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en tomate</i>	181
Figura 4.54. <i>Rectas de calibrado en matriz naranja</i>	183
Figura 4.55. <i>Cromatograma de una calibración en naranja de 10 ppb</i>	184
Figura 4.56. <i>Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS</i>	185
Figura 4.57. <i>Comparación de los residuos en naranja bajo BPA y CPA, con su LMR</i>	187
Figura 4.58. <i>Cromatograma de una muestra de naranja cultivada bajo BPA</i>	187
Figura 4.59. <i>Cromatograma de una muestra de zumo de naranja cultivada bajo CPA</i>	188
Figura 4.60. <i>Variación de los residuos en el proceso de preparación de zumo de naranja</i>	189
Figura 4.61. <i>Variación de los factores de procesado del zumo de naranja</i>	191
Figura 4.62. <i>Porcentajes dializados de los estándares de los plaguicidas en agua</i>	192
Figura 4.63. <i>Porcentajes dializados de metalaxil en naranja</i>	193
Figura 4.64. <i>Rectas de calibrado en matriz uva</i>	195
Figura 4.65. <i>Cromatograma de una calibración en uva de 10 ppb</i>	196
Figura 4.66. <i>Ionización de los compuestos de interés en LC-MS/MS</i>	197
Figura 4.67. <i>Cromatograma de una calibración en vino de 10 ppb</i>	199
Figura 4.68. <i>Comparación de los residuos en uva bajo BPA y CPA, con su LMR</i>	201
Figura 4.69. <i>Variación de los residuos en el proceso de elaboración de vino</i>	203
Figura 4.70. <i>Variación de los factores de procesado de la uva de vinificación</i>	205
Figura 4.71. <i>Variación de los porcentajes de los estándares dializados en agua</i>	206
Figura 4.72. <i>Variación de los porcentajes de los estándares dializados en etanol</i>	207

Figura 4.73. *Variación de los porcentajes dializados en vino*..... 208

Figura 4.74. *Variación de los porcentajes dializados en uva*..... 209



8. SIGLAS.

8. SIGLAS.

ACN	Acetonitrilo.
ADA-asa	Enzima adenosina-deaminasa.
ADME	Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción.
AEPLA	Asociación Empresarial para la Protección de Las Plantas.
ANOVA	ANalysis Of VAriance.
AOAC	Association of Official Analytical Chemists.
AOAC International	Association of Analytical Communities.
ARN	Ácido ribonucleico.
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas.
CARM	Consejería de Agricultura de la Región de Murcia.
CE	Comisión Europea.
CL₅₀	Concentración letal media.
CPA	Críticas Prácticas Agrícolas.
CS	Capsulas en dispersión.
CV	Coefficiente de variación.
DG SANCO	Dirección General Sanidad y Consumo.
DL₅₀	Dosis letal media.
DP	Polvo dispersable.
DRfA	Dosis de Referencia Aguda.
DS	Polvo tratamiento seco de semillas.
DT₉₀	Dosis que provoca un efecto determinado en el 90% de la población.
EC	Emulsión concentrada.
EFSA	European Food Safety Authority. Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

EI	Impacto electrónico.
EM	Espectrometría de masas.
ES	Emulsión tratamiento en semillas.
(ESI)-MS/MS	Electrospray Ionization tandem mass/mass spectrometer.
EURACHEM	Red europea de organizaciones para establecer sistemas de trazabilidad en las medidas analíticas.
EW	Emulsión de aceite en agua.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
FEDIOL	Industria Europea de Aceites Vegetales y Harinas Proteicas.
FP	Factor de Procesado.
FS	Suspensión concentrada para tratamiento de semillas.
FU	Fumígeno (generador de humo).
GC	Gas chromatography.
GC-MS	Gas chromatography tandem mass.
GF	Gel para tratamiento de semillas.
GPS	Global Positioning System.
GR	Granulados.
HN	Termonebulizable.
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography.
IDA	Ingesta Diaria Admisible.
IDE	Ingesta Diaria Estimada.
INE	Instituto Nacional de Estadística.
ISO/IEC	International Organization for Standardization /International Electrotechnical Commission.
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
LC	Liquid chromatography.
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass/mass spectrometry.
LD	Límite de detección.
LMR	Límite máximo de residuos.
LQ	Límite de cuantificación.
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
MRM	Multiple Reaction Monitoring.
MS	Mass spectrometry.
MSQQQ	Triple quadrupole mass spectrometer.

NOEL	No Observed Effect Level (Nivel sin efecto observado).
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PO	Vertido directo dorsal epicutáneo.
ppb	Partes por billón.
ppm	Partes por millón.
PS	Plazo de seguridad.
QUECHERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe.
RSD	Relative standard deviation.
SC	Suspensión concentrada.
SE	Suspo-emulsión.
SL	Concentrado soluble.
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences.
SU	Suspensión de ultra-bajo volumen.
TB	Tabletas.
t_R	Tiempo de retención.
UE	Unión Europea.
ULV	Líquidos de Ultrabajo Volumen.
UPLC-MS/MS	Ultra Performance Liquid Chromatography tandem mass /mass spectrometer.
US EPA	United States Environmental Protection Agency.
USA	United States of America.
USDA	United States Department of Agriculture.
UV	Ultraviolet-visible.
WG	Gránulos dispersables en agua.
WP	Polvo humectable.
WS	Polvo dispersable.