



*Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados*



**EVALUACIÓN DEL NIVEL DE RESIDUOS DE
PLAGUICIDAS EN GRANOS DE CEREALES Y
OLEAGINOSAS APLICADOS EN EL CAMPO Y EN
ALMACENAMIENTO EN LA REGIÓN CENTRAL
DE ARGENTINA**

Ing. Agr. Julieta Strada

Tesis

Para optar al Grado Académico de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

Córdoba, 2014

**EVALUACIÓN DEL NIVEL DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN GRANOS DE
CEREALES Y OLEAGINOSAS APLICADOS EN EL CAMPO Y EN
ALMACENAMIENTO EN LA REGIÓN CENTRAL DE ARGENTINA**

Ing. Agr. Julieta Strada

Comisión Asesora de Tesis

Directora: Dra. María José Martínez

Codirectora: Dra. Mirtha María Nassetta

Asesora: Dra. Cecilia Inés Bruno

Tribunal Examinador de Tesis

- Dr. Daniel Presello:

- Dr. Ricardo Bartosik:

- Dra. Mirtha Nassetta:

Presentación formal Académica:

18 de Marzo de 2014
Escuela para Graduados
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

Agradecimientos

-A mi Directora de Tesis Dra. María José Martínez por darme la posibilidad de realizar esta investigación y de formar parte de su grupo de trabajo y por compartir sus conocimientos a través del constante asesoramiento durante el desarrollo de esta tesis, por su estímulo permanente y paciencia a lo largo de todos estos años. Por sus innumerables gestiones ante INTA y CONICET, asegurando los recursos y equipamientos necesarios en todo momento, por vincularme con profesionales que contribuyeron en enriquecer este trabajo, por su apoyo en la realización de cursos de posgrado, viajes, presentaciones en Congresos procurando siempre mi crecimiento profesional.

- A mi codirectora, Dra. Mirtha María Nassetta por su constante asesoramiento y apoyo durante el desarrollo de esta tesis, como así también por sus valiosos aportes en la validación de las técnicas analíticas e importantes sugerencias en la reuniones de Comisión.

- A mi asesora, Dra. Cecilia Bruno, por su gran predisposición y compromiso con este proyecto como así también por sus valiosos aportes en los análisis estadísticos e invaluable sugerencias en las reuniones de Comisión.

-A la Dra. Alejandra Ricca y a todo el grupo de trabajo del Laboratorio de Contaminantes Químicos del Instituto de Tecnología de Alimentos de INTA Castelar, Bioq. (Magíster) Dante Rojas, Alba Castro y Susana Rojas por su gran predisposición y colaboración en las determinaciones analíticas, por compartir sus conocimientos en el desarrollo y validación de las técnicas y por realizar los análisis de las muestras a través de sus equipos de alta precisión.

- A la Magíster Martha Yolanda Conles, por su ayuda en la definición de los ensayos experimentales, como así también por acompañarme en todo momento y brindar importantes sugerencias.

- A los evaluadores de este trabajo de tesis, Dr. Ricardo Bartosik, Dr. Daniel Presello y Dra. Mirtha Nassetta, por sus importantísimos aportes a través de comentarios y sugerencias que han permitido mejorar tanto la redacción como la interpretación de los resultados obtenidos.

-La presente investigación ha sido desarrollada gracias al aporte del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, a través del Proyecto PNCER 023531 coordinado por la Dra. María José Martínez y el proyecto PNCyO1127022. También se agradece el aporte del Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba a través de su Proyecto de Investigación y Desarrollo (PID) N° 71 año 2008.

-Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET) y al Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba por el financiamiento de mis estudios a través del otorgamiento de mi beca doctoral.

-Al Director de la EEA INTA Manfredi durante el desarrollo de esta tesis, Ing. Enrique Ustarroz por permitirme realizar mis estudios en dicha Institución.

-Al Ing. Agr. y Magíster Federico Piatti y a todo el equipo de trabajo del área soja, trigo y maíz de la EEA INTA Manfredi, David Luna, Jorge Saire y Fernando, por su importantísima colaboración y compromiso durante el desarrollo de los ensayos experimentales.

-Al PhD. Cristiano Casini y al Ing. Agr. Mauricio Santajuliana de PRECOP INTA Manfredi, por brindar la infraestructura y por su colaboración en la realización de los ensayos en almacenamiento de granos.

-A la PhD. Mónica Balzarini por su apoyo para la obtención de la beca CONICET, como así también por su asesoramiento en el desarrollo del proyecto de tesis y predisposición siempre para las consultas realizadas.

-A mis compañeras de trabajo en el Laboratorio de Calidad de Granos de INTA Manfredi, Biol. Mercedes Silva, Biol. Roxana Aguilar y Patricia Fabro, por brindar sus conocimientos en el manejo del laboratorio y por compartir cada día de trabajo entre técnicas y charlas, formando una hermosa amistad.

-A todo el personal de la EEA Manfredi de INTA que de alguna forma ha participado en el proceso de elaboración de esta tesis.

-A mi amigo Juan Carlos Subils por su colaboración en el diseño y realización de los ensayos experimentales, por la compañía y las charlas durante largas jornadas de trabajo a campo y por las anécdotas que nunca voy a olvidar.

-A la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba y a la Escuela para Graduados por haber podido realizar en dicha casa mis estudios tanto de grado como de posgrado.

-A mis padres, Luis y Claudia, grandes pilares en mi vida, por haberme dado una educación, por enseñarme a tener valores, a tener sueños y esforzarme para alcanzarlos, por acompañarme en cada proyecto que he emprendido en mi vida siempre con una sonrisa, un oído dispuesto y una mano extendida para sostenerme. Gracias simplemente por su amor incondicional.

-A mis hermanos Candelaria e Ignacio, por estar siempre presentes en cada momento de mi vida, por alentarme y sacarme una sonrisa hasta en los peores días. A la Biol. (Dra) Magdalena Laurito, mi prima y hermana de la vida por acompañarme siempre durante este camino, por darme sus consejos y su colaboración en todo momento.

-A mi esposo Marcos y mi hijo Joaquín porque sin su amor, compañía y paciencia este sacrificio no hubiera sido posible, por entender mis cansancios y frustraciones, por cada te quiero antes de dormir. Los amo.

*Esta tesis está dedicada a mi hijo Joaquín,
a mi esposo Marcos y a mis Padres Claudia y Luis*

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue analizar el efecto de algunos de los factores relacionados al manejo de cultivos y la aplicación de plaguicidas sobre la disipación y el nivel final de residuos de insecticidas aplicados en campo y en almacenamiento, en soja y maíz en la región central de la República Argentina. Los tratamientos con insecticidas para el control de plagas en los cultivos de soja y maíz, generan niveles de residuos en los granos cosechados por debajo de los límites permitidos, siempre y cuando se respeten las dosis recomendadas y los períodos de carencia para cada principio activo, sin embargo en algunos casos aún en dosis recomendadas pueden superarse debido posiblemente a la variabilidad en la distribución de los plaguicidas durante su aplicación. Es posible inferir efecto de las condiciones ambientales cercanas a la aplicación y existentes durante el ciclo del cultivo, aunque los efectos son más claros para principios activos altamente persistentes como el endosulfán. Las aplicaciones de productos químicos en el almacenamiento de granos de soja y maíz, ocasionan mayores problemas de residuos en los granos que las aplicaciones en el cultivo, sin embargo en la mayoría de los casos siguiendo las recomendaciones de uso, los residuos se encuentran por debajo del LMR establecido por SENASA una vez transcurrido el período de carencia. Se evidencia un importante efecto acumulativo de los residuos en aplicaciones repetidas de plaguicidas durante el almacenamiento por lo tanto esta práctica no debe ser recomendada. Esta investigación demostró que los factores relacionados al manejo de los cultivos y a la aplicación de plaguicidas; tales como la especie, fecha de siembra, tipos de plaguicidas, sus dosis, momentos y número de aplicaciones; influyen en la dinámica de disipación y el nivel final de residuos de insecticidas en granos de soja y maíz producidos y almacenados en la región central de la República Argentina, pudiendo afectar la inocuidad de los alimentos producidos. A fin de asegurar la producción de alimentos saludables, es importante la utilización de las Buenas Prácticas Agrícolas considerando la elección apropiada del producto a aplicar de acuerdo a la plaga y el cultivo, y hacerlo en el momento oportuno y dosis recomendadas a fin de evitar niveles de residuos de plaguicidas por encima de los permitidos legalmente.

Palabras claves: Insecticidas; Soja; Maíz; Residuos; Inocuidad de Alimentos

ABSTRACT

The objective of this thesis was to analyze the effect of some factors related to crop management and pesticide application on the dissipation and the final level of insecticide residues in field and storage applied in soybean and corn in the central region of the Republic Argentina. Insecticide treatments for pests control in soybean and corn generate residue levels, in harvested grains, below the permitted limits provided that the recommended doses and periods for each active ingredient are respected, however in some cases even at recommended doses can possibly be overcome due to the variability in the distribution of pesticides during their application. Is possible to infer the effect of environmental conditions close to the existing application and during the crop cycle, although the effects are clearer for highly persistent endosulfan as active ingredients. The pesticides applications in soybean and corn storage grains cause major problems of residues, however in most cases following the recommendations of use, residues are below the MRL's established by SENASA. Exist an important acumulative effect of waste on repeated applications of pesticides during storage so this practice should not be recommended. This research showed that some factors related to crop management and pesticide application, such as the species, planting date, types of pesticides, their dose, time and number of applications; influence the dynamics of dissipation and the level of final insecticide residues in soybean and corn produced and stored in the central region of Argentina. To ensure the production of healthy food, it is important to use Good Agricultural Practices with an appropriate choice of product to be applied according to the pest and the crop, at the right time and at the recommended dose to avoid residue levels pesticides above the the legally permitted.

Keywords : Insecticides; Soybean; Maize; Residue; Food Safety

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág
LISTA DE TABLAS	XIII
LISTA DE FIGURAS	XIX
LISTA DE ABREVIATURAS	XXV
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
Los plaguicidas en la producción agropecuaria.....	1
Producción de soja y maíz en la República Argentina.....	1
Principales plagas que atacan a los cultivos de soja y maíz y su control.....	2
Plaguicidas.....	8
Concepto.....	8
Clasificación de plaguicidas: Insecticidas.....	9
Clases toxicológicas.....	11
Breve reseña de los insecticidas utilizados en el presente estudio.....	12
Insecticidas derivados organoclorados.....	12
Generalidades.....	12
Endosulfán.....	13
Insecticidas derivados del ácido fosfórico.....	14
Generalidades.....	14
Clorpirifós-etil.....	15
Clorpirifós-metil.....	16
Pirimifós-metil.....	16
Diclorvos.....	17
Insecticidas derivados de piretroides.....	18
Generalidades.....	18
Cipermetrina.....	19
Deltametrina.....	20
β-ciflutrina.....	20
Insecticidas cloronicotilínicos o nitroguanidinas.....	21
Generalidades.....	21
Imidacloprid.....	21
Insecticidas derivados de benzoilureas.....	22
Generalidades.....	22
Novalurón.....	22
Principios en la aplicación de plaguicidas.....	23
Depósito del plaguicida.....	25
La utilización de curvas de disipación.....	27
Conceptos sobre residuos de plaguicidas.....	30
Definiciones.....	30

Marcos regulatorios y Legislación vigente.....	31
Límites Máximos de residuos (LMR) para los plaguicidas en estudio.....	33
Determinación de residuos de plaguicidas.....	34
Métodos analíticos para la valoración de residuos de plaguicidas: Metodología QuEChERS	34
Conceptos sobre validación de métodos.....	35
Parámetros de validación en métodos analíticos.....	36
Controles de calidad y blanco de reactivos.....	40
Identificación y Cuantificación de analitos.....	40
La cromatografía de gases.....	41
Espectrometría de masas.....	42
Acoplamiento de una técnica de separación con un espectrómetro de masas...	44
Estudios sobre residuos de plaguicidas.....	44
Los plaguicidas como contaminantes ambientales.....	45
Residuos de plaguicidas en alimentos.....	47
Hipótesis y Objetivos.....	50
Hipótesis.....	50
Objetivos.....	50
Objetivo general.....	50
Objetivos específicos.....	50
CAPÍTULO II. MATERIALES Y METODOLOGÍA GENERAL.....	51
Obtención de muestras.....	51
Ensayos experimentales.....	52
Ensayos de aplicación de insecticidas en el campo en los cultivos de soja y maíz.....	52
Ensayos de aplicación de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz.....	53
Materiales y Equipamiento.....	54
Determinación de residuos de plaguicidas.....	54
Materiales y Equipamiento.....	55
Drogas y solventes para preparación de muestras.....	56
Insumos para el lavado de materiales.....	57
Recepción, acondicionamiento y conservación de muestras.....	57
Procesamiento de muestras.....	59
Protocolo de lavado del material.....	59
Preparación de soluciones patrón.....	60
Preparación de soluciones madre de plaguicidas (patrón de reserva).....	61
Preparación de soluciones de trabajo de plaguicidas.....	62
Preparación de soluciones mezcla de patrones para calibración.....	63
Método analítico: Técnica de QuEChERS.....	63
Técnica de extracción QuEChERS para granos de soja.....	64
Técnica de extracción QuEChERS para granos de maíz.....	65

Validación de las técnicas QuEChERS en matrices de grano de soja y maíz.....	67
Ensayos de calibración en solvente.....	67
Ensayos de calibración en matriz.....	67
Ensayos de recuperación.....	68
Parámetros de aceptación de las validaciones.....	68
Aseguramiento de la calidad.....	70
Control de Calidad.....	70
Blanco de reactivos.....	71
Análisis de muestras por CG-MS.....	72
Método cromatográfico.....	72
Análisis de datos cromatográficos.....	73
Análisis estadísticos.....	73
CAPÍTULO III. RESIDUOS EN GRANO DE INSECTICIDAS APLICADOS EN EL CULTIVO DE SOJA.....	74
Objetivo específico.....	74
Materiales y métodos.....	74
Resultados de validación de la técnica.....	76
Resultados y discusión.....	84
Residuos de endosulfán.....	85
Residuos de clorpirifós-etil y cipermetrina.....	98
Residuos de clorpirifós-etil.....	98
Residuos de cipermetrina.....	105
Residuos de imidacloprid y β -ciflutrina.....	108
Conclusiones.....	111
CAPÍTULO IV. RESIDUOS EN GRANO DE INSECTICIDAS APLICADOS EN EL CULTIVO DE MAÍZ.....	112
Objetivo específico.....	112
Materiales y métodos.....	112
Resultados de validación de la técnica.....	115
Resultados y discusión.....	120
Conclusiones.....	123
CAPÍTULO V. CURVAS DE DISIPACIÓN DE RESIDUOS DE INSECTICIDAS APLICADOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE GRANOS DE SOJA Y MAÍZ.....	124
Objetivo específico.....	124
Materiales y métodos.....	124
Resultados de validación de la técnica.....	127
Resultados y discusión.....	136
Residuos de pirimifós-metil.....	137
Residuos de diclorvós.....	143

Residuos de deltametrina.....	151
Residuos de clorpirifós-metil y deltametrina.....	156
Residuos de diclorvós y deltametrina.....	166
Residuos de deltametrina en diferentes formulaciones aplicadas.....	173
Residuos de diclorvós en diferentes formulaciones aplicadas.....	176
Conclusiones.....	179

CAPÍTULO VI. RESIDUOS DE INSECTICIDAS APLICADOS DE MANERA REPETIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE GRANOS DE SOJA Y MAÍZ.....	182
Objetivo específico.....	182
Materiales y métodos.....	182
Resultados de validación de la técnica.....	184
Resultados y discusión.....	184
Residuos de pirimifós-metil.....	185
Residuos de diclorvós.....	187
Residuos de deltametrina.....	189
Residuos de clorpirifós-metil y deltametrina.....	190
Residuos de diclorvós y deltametrina.....	193
Conclusiones.....	195

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES FINALES.....	196
--	------------

BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	201
---------------------------------	------------

ANEXOS.....	218
--------------------	------------

Anexo 1. Resumen de las condiciones meteorológicas durante el desarrollo de los ensayos experimentales de aplicación de plaguicidas en el cultivo de soja.....	218
---	-----

Anexo 1.1. Resumen de las condiciones meteorológicas durante la realización de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas a campo en el cultivo de soja para tres campañas agrícolas y dos fechas de siembra en cada campaña.....	219
---	-----

Anexo 1.2. Resumen de las condiciones meteorológicas para la campaña 2009/2010 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.....	220
---	-----

Anexo 1.3. Resumen de las condiciones meteorológicas para la campaña 2010/2011 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.....	221
---	-----

Anexo 1.4. Resumen de las condiciones meteorológicas para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.....	222
---	-----

Anexo 2. Imágenes de los ensayos experimentales realizados.....	223
--	-----

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1.1. Denominación de plaguicidas de acuerdo a su formulación comercial.....	10
Tabla 1.2. Clases toxicológicas de productos plaguicidas según la DL50 y formulación.....	11
Tabla 1.3. Nomenclatura y clase toxicológica de endosulfán.....	13
Tabla 1.4. Nomenclatura y clases toxicológicas de insecticidas organofosforados utilizados en el estudio.....	15
Tabla 1.5. Nomenclatura y clases toxicológicas de insecticidas piretroides utilizados en el estudio.....	19
Tabla 1.6. Nomenclatura y clase toxicológica de nitroguanidinas utilizadas en el estudio.....	21
Tabla 1.7. Nomenclatura y clase toxicológica de benzoilureas utilizadas en el estudio.....	22
Tabla 1.8. Límites Máximo de Residuos de plaguicidas ($\mu\text{g/g}$) para la legislación Argentina, los Estados Unidos de América (EUA), la Unión Europea (UE) y <i>Codex Alimentarius</i>	33
Tabla 2.1. Patrones de plaguicidas utilizados.....	61
Tabla 3.1. Resumen de los datos de cultivos, fechas de siembra, tamaño de parcela, fechas de aplicación, muestreo y días desde aplicación a cosecha de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de soja en tres campañas agrícolas y dos épocas de siembra.....	76
Tabla 3.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz soja.....	78
Tabla 3.3. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo endosulfán en granos de soja.....	79
Tabla 3.4. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo cipermetrina en granos de soja.....	79
Tabla 3.5. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-etil en granos de soja.....	80
Tabla 3.6. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo imidacloprid en granos de soja.....	80
Tabla 3.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo β -ciflutrina en granos de soja.....	80

Tabla 3.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para endosulfán en granos de soja.....	81
Tabla 3.9. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-etil en granos de soja.....	81
Tabla 3.10. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para cipermetrina en granos de soja.....	82
Tabla 3.11. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para imidacloprid en granos de soja.....	82
Tabla 3.12. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para β -ciflutrina en granos de soja.....	82
Tabla 3.13. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de soja y su relación con los LMR establecidos por SENASA.....	83
Tabla 3.14. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2009/2010 (Camp) aplicado en dos fechas de siembra (FS), dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF).....	86
Tabla 3.15. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2010/2011 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo.....	87
Tabla 3.16. Media y D.E. ($\mu\text{g/g}$) de los niveles de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la campaña 2010/2011 en dos fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo sin datos de muestras ND ni <LC.....	88
Tabla 3.17. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2011/2012 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo	89
Tabla 3.18. Media y D.E. de los niveles de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo sin datos de muestras ND ni <LC.....	90

Tabla 3.19. Residuos de clorpirifós-etil ($\mu\text{g/g}$) en granos de soja en la campaña 2009/2010 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo.....	99
Tabla 3.20. Residuos de clorpirifós-etil ($\mu\text{g/g}$) en granos de soja en la campaña 2011/2012 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo	100
Tabla 3.21. Media y D.E. ($\mu\text{g/g}$) de los niveles de residuos de clorpirifós-etil en granos de soja para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo sin datos de muestras ND ni <LC.....	101
Tabla 3.22. Residuos de cipermetrina (suma de isómeros) en granos de soja en la campaña 2009/2010 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo	105
Tabla 4.1. Resumen de los datos de híbridos, fechas de siembra, tamaño de parcela, fechas de aplicación, muestreo y días desde aplicación a cosecha, de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de maíz en tres campañas agrícolas y dos épocas de siembra.....	114
Tabla 4.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz maíz.....	116
Tabla 4.3. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós etil en granos de maíz.....	117
Tabla 4.4. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo cipermetrina en granos de maíz.....	117
Tabla 4.5. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo novalurón en granos de maíz.....	117
Tabla 4.6. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-etil en granos de maíz.....	118
Tabla 4.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para cipermetrina en granos de maíz.....	118
Tabla 4.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para novalurón en granos de maíz.....	119

Tabla 4.9. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de maíz y su relación con los LMR establecidos por SENASA.....	119
Tabla 5.1. Resumen de los datos de principios activos aplicados, dosis teórica, depósito teórico de principio activo, fecha de aplicación, tiempo desde la aplicación y fecha de muestreo de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz.....	126
Tabla 5.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz soja.....	129
Tabla 5.3 Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz maíz.....	129
Tabla 5.4. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo diclorvós en granos de soja.....	130
Tabla 5.5. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo pirimifós metil en granos de soja.....	130
Tabla 5.6. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo deltametrina en granos de soja.....	130
Tabla 5.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-metil en granos de soja.....	131
Tabla 5.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo diclorvós en granos de maíz.....	131
Tabla 5.9. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo pirimifós metil en granos de maíz.....	131
Tabla 5.10. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo deltametrina en granos de maíz.....	131
Tabla 5.11. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-metil en granos de maíz.....	132
Tabla 5.12. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para diclorvós en granos de soja.....	132

Tabla 5.13. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para pirimifós-metil en granos de soja.....	133
Tabla 5.14. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para deltametrina en granos de soja.....	133
Tabla 5.15. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-metil en granos de soja.....	133
Tabla 5.16. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para pirimifós-metil en granos de maíz.....	134
Tabla 5.17. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para diclorvós en granos de maíz.....	134
Tabla 5.18. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para deltametrina en granos de maíz.....	134
Tabla 5.19. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), coeficiente de variación de Horwitz (CV% Horwitz) e incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-metil en granos de maíz.....	135
Tabla 5.20. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de soja y su relación con los LMR establecidos por SENASA.....	135
Tabla 5.21. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de maíz y su relación con los LMR establecidos por SENASA.....	136
Tabla 5.22. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$), porcentaje de desaparición de los residuos y tasa de disipación diaria de pirimifós-metil en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	137
Tabla 5.23. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$), porcentaje de desaparición de residuos y tasa de disipación diaria de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	144

Tabla 5.24. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos y tasa de disipación diaria de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	151
Tabla 5.25. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos y tasa de disipación diaria de clorpirifós-metil y deltametrina encontrados en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	157
Tabla 5.26. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos y tasa de disipación diaria de deltametrina y diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	166
Tabla 5.27. Media y desvío estándar y tasa de disipación diaria de los residuos de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación en diferentes dosis teóricas de principio activo de acuerdo a la formulación comercial.....	174
Tabla 5.28. Media y desvío estándar y tasa de disipación diaria de los residuos de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación en diferentes dosis teóricas de principio activo de acuerdo a la formulación comercial.....	176
Tabla 6.1. Resumen de los datos de ensayos experimentales de aplicación de manera repetida de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz.....	183
Tabla 6.2. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de pirimifós metil en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones.....	185
Tabla 6.3. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones.....	187
Tabla 6.4. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones.....	189
Tabla 6.5. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones.....	191
Tabla 6.6. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones.....	193

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Fig. 1.1. Producción histórica de granos de soja y maíz en la República Argentina.....	2
Fig. 1.2. Estados fenológicos en el cultivo de soja de acuerdo a escala de Fehr y Caviness (1977).....	3
Fig. 1.3. Estados fenológicos en el cultivo de maíz de acuerdo a escala de Ritchie y Hanway (1982).....	5
Fig. 1.4. Molécula de Endosulfán.....	13
Fig. 1.5. Molécula de Clorpirifós-etil.....	15
Fig. 1.6. Molécula de Clorpirifós-metil.....	16
Fig. 1.7. Molécula de Pirimifós-metil.....	16
Fig. 1.8. Molécula de Diclorvós.....	17
Fig. 1.9. Molécula de Cipermetrina.....	19
Fig. 1.10. Molécula de Deltametrina.....	20
Fig. 1.11. Molécula de β -ciflutrina.....	20
Fig. 1.12. Molécula de Imidacloprid.....	21
Fig. 1.13. Molécula de Novalurón.....	23
Fig. 1.14. Eliminación aparente de residuos de plaguicidas.....	26
Fig. 1.15. Curva de disipación de residuos de plaguicidas.....	29
Fig. 1.16. Curva de teórica de eliminación de plaguicidas en tratamientos en partes aéreas.....	29
Fig. 1.17. Esquema simplificado de un cromatógrafo gaseoso.....	41
Fig. 1.18. Cromatograma de la corriente de iones totales (barrido completo) de una muestra de espinaca con plaguicidas.....	42
Fig. 1.21. Representación de un espectro de masas.....	43
Fig. 2.1. Esquema del Método QuEChERS para la extracción de plaguicidas.....	66
Fig. 3.1. Curvas de calibración en solvente y matriz para endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja.....	77
Fig. 3.2. Curvas de calibración en solvente y matriz para clorpirifós-etil en granos de soja.....	78
Fig. 3.3. Curvas de calibración en solvente y matriz para cipermetrina en granos de soja.....	78
Fig. 3.4. Curvas de calibración en solvente y matriz para imidacloprid en granos de soja.....	78
Fig. 3.5. Curvas de calibración en solvente y matriz para β -ciflutrina en granos de soja.....	78
Fig. 3.6. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la Campaña 2010/2011, en dos fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo.....	88

Fig. 3.7. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la Campaña 2011/2012, en dos fechas de siembra, dosis y momentos aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo	90
Fig. 3.8. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de clorpirifós etil en granos de soja para la Campaña 2011/2012, en dos fechas de siembra, dosis y momentos aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo	101
Fig. 4.1. Curvas de calibración en solvente y matriz para clorpirifós-etil en granos de maíz	115
Fig. 4.2. Curvas de calibración en solvente y matriz para cipermetrina en granos de maíz.....	115
Fig. 4.3. Curvas de calibración en solvente y matriz para novalurón en granos de maíz.....	116
Fig. 5.1. Curvas de calibración en solvente y matriz para pirimifós-metil en granos de soja	127
Fig. 5.2. Curvas de calibración en solvente y matriz para diclorvós en granos de soja.....	127
Fig. 5.3. Curvas de calibración en solvente y matriz para deltametrina en granos de soja	128
Fig. 5.4. Curvas de calibración en solvente y matriz para clorpirifós-metil en granos de soja	128
Fig. 5.5. Curvas de calibración en solvente y matriz para pirimifós-metil en granos de maíz	128
Fig. 5.6. Curvas de calibración en solvente y matriz para diclorvós en granos de maíz.....	128
Fig. 5.7. Curvas de calibración en solvente y matriz para deltametrina en granos de maíz	128
Fig. 5.8. Curvas de calibración en solvente y matriz para clorpirifós-metil en granos de maíz	128
Fig. 5.9. Curva de disipación (Medias y DE) de residuos de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación	138
Fig 5.10. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	138
Fig 5.11. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	140
Fig. 5.12. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	140
Fig 5.13. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	141
Fig. 5.14. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	141

Fig. 5.15. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de pirimifós-metil en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación.....	142
Fig. 5.16. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.....	145
Fig. 5.17. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	146
Fig. 5.18. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	146
Fig. 5.19. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.....	147
Fig. 5.20. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	148
Fig. 5.21. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	149
Fig. 5.22. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de maíz y soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR.....	150
Fig. 5.23. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.....	152
Fig. 5.24. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	153
Fig. 5.25. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación	153
Fig. 5.26. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.....	154
Fig. 5.27. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	154
Fig. 5.28. Tasa de disipación diaria (TDD) y nivel de residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	155
Fig. 5.29. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR	155
Fig. 5.30. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de clorpirifós metil y deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR	158
Fig. 5.31. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de Clorpirifós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	159

Fig. 5.32. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de clorpirifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	160
Fig. 5.33. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR	160
Fig. 5.34. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de clorpirifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	161
Fig. 5.35. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de clorpirifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	162
Fig. 5.36. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	163
Fig. 5.37. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	164
Fig. 5.38. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	165
Fig. 5.39. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación	165
Fig. 5.40. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.....	167
Fig. 5.41. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	168
Fig. 5.42. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	168
Fig. 5.43. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR	169
Fig. 5.44. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	170
Fig. 5.45. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	170
Fig. 5.46. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	171
Fig. 5.47. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	172
Fig. 5.48. Porcentaje de desaparición de residuos y nivel de residuos ($\mu\text{g/g}$) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	172

Fig. 5.49. Tasa de disipación diaria y nivel de residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.....	173
Fig. 5.50. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de maíz en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR.....	175
Fig. 5.51. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR	175
Fig. 5.52. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de maíz en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días. Dosis 1 (18 cc/tn de granos) y dosis 2 (20cc/tn de granos) y su relación con el LMR.....	177
Fig. 5.53. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de soja en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. Dosis 1 (18 cc/tn de granos) y dosis 2 (20 cc/tn de granos).....	178
Fig. 6.1. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de pirimifós metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con LMR.....	186
Fig. 6.2. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de pirimifós metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con LMR.....	186
Fig. 6.3. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con el LMR.....	188
Fig. 6.4. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con el LMR.....	188
Fig. 6.5. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con el LMR.....	190
Fig. 6.6. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con el LMR.....	190

Fig. 6.7. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con los LMR..... 192

Fig. 6.8. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con los LMR..... 192

Fig. 6.9. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con los LMR..... 194

Fig. 6.10. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones y su relación con los LMR..... 194

LISTA DE ABREVIATURAS

V	Estados vegetativos	TIC	Total Ion Chromatogram
R	Estados reproductivos	EIO	Extracted Ion Chromatogram
DL50	Dosis letal media	SIM	Selected Ion Monitoring
PC	Período de carencia	ml	Mililitros
°C	Grados centígrados	μl	Microlitros
Km/h	Kilometros por hora	gr	Gramos
ppm	Partes por millón	g	Fuerza gravitacional
mg/kg	Miligramos por kilogramo	mm	Milímetros
μg/g	Microgramos por gramo	μm	Micrometros
LMR	Límite Máximo de Residuos	EI	Impacto Electrónico
IDA	Ingesta Diaria Admisible	HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
NEL	Nivel sin efecto	mg/ml	Miligramos por mililitro
BPA	Buenas Prácticas Agrícolas	mg	Miligramos
ISTD	Estándar interno	μg/ml	Microgramos por mililitro
R%	Recuperación porcentual	TPP	Trifenilfosfato
CV%	Coefficiente de Variación porcentual	psi	Pounds per square inch (presión)
RSD	Desviación Estándar Relativa	ml/min	Mililitros por minuto
RSD%	Desviación Estándar Relativa porcentual	°C/min	Grados centígrados por minuto
ng/g	Nanogramos por gramo	cc/ha	Centímetros cúbicos por hectárea
LC	Límite de Cuantificación	m	Metros
LD	Límite de Detección	R ²	Coefficiente de determinación lineal
RTT	Tiempo de Retención Relativo	a	Pendiente
U%	Incertidumbre expandida del método	b	Ordenada al origen
CG	Cromatografía Gaseosa	DE	Desvío Estándar
MS	Detector de masa	POC	Plaguicidas Organoclorados

INTRODUCCION

Los plaguicidas en la producción agropecuaria

Producción de soja y maíz en la República Argentina

En la República Argentina se sembraron durante la campaña 2011/2012 más de 30 millones de hectáreas de cereales y oleaginosas, significando una producción que superó las 88 millones de toneladas de granos considerando a los cultivos de maíz, soja, trigo, centeno, cebada y avena, como los predominantes (MinAgri, 2013). Esta producción primaria constituye un importante insumo para la industria local y representa un significativo porcentaje del valor total de las exportaciones del país. Soja (*Glycine max* L. Merrill) y maíz (*Zea mays* L.) son los cultivos de mayor importancia a nivel Nacional y de la Provincia de Córdoba. Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina (MinAgri, 2013), la superficie sembrada con soja en la campaña 2011/2012 fue de cerca de 18 millones de hectáreas, lo que significó una producción de más de 40 millones de toneladas. La Provincia de Córdoba contribuyó con 9 millones de toneladas, casi un 25 % de la producción nacional. Con respecto al cultivo de maíz, para la campaña 2011/2012, la producción fue de 21 millones de toneladas, ocupando una superficie de 3,5 millones de hectáreas. Córdoba participó con casi 5 millones de toneladas, un 25% de la producción total (Fig. 1.1) siendo el mercado externo el principal destino de este cultivo (MinAgri, 2013; INDEC, 2013). Las divisas por la exportación de productos primarios agropecuarios alcanza los U\$S 2.000 millones mensuales y las manufacturas de origen agropecuario un valor similar. En Córdoba los principales complejos de exportación son soja y maíz y sus derivados junto a la industria automotriz (INDEC, 2013).

Los granos de soja y maíz son utilizados en la elaboración de productos alimenticios y el aumento de las demandas debido al crecimiento de la población mundial, hace necesario incrementar las producciones primarias haciendo eficiente el uso de la tierra, lo

cuál conlleva a una mayor presión del ambiente productivo que debe ser compensado para mantener altos niveles de rendimiento.

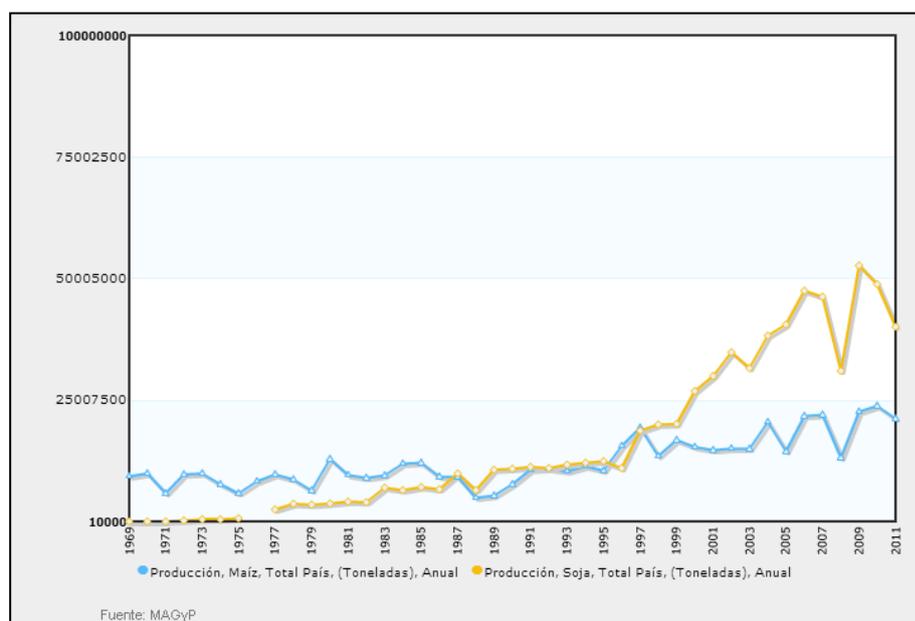


Fig. 1.1. Producción histórica de granos de soja y maíz en la República Argentina (MinAgri, 2013; SIIA, 2013).

Principales plagas que atacan a los cultivos de soja y maíz y su control

La sostenibilidad productiva de los cultivos está afectada por factores bióticos tales como enfermedades, malezas y plagas. Por esto es de fundamental importancia la utilización de productos químicos que permitan mantener y aumentar las producciones. Sin embargo, las aplicaciones de plaguicidas constituyen un serio riesgo para la salud, el medio ambiente y el comercio exterior, si no se aplican adecuadamente a fin de no dejar residuos en los granos comprometiendo la inocuidad de los alimentos (Yagüe, 1989; Giorda y Baigorri, 1997; Pengue, 2001; Novo *et al.*, 2011). La presencia de residuos de plaguicidas en productos de consumo es uno de los aspectos de la peligrosidad de los agroquímicos que más preocupa actualmente, tanto por la sensibilidad de la opinión pública respecto a la

calidad de los alimentos, como por su incidencia en el comercio a nivel nacional e internacional y su importancia en las estrategias de lucha contra las plagas (Coscollá, 1993).

Las plagas insectiles constituyen una limitante de la producción cuya importancia depende de la intensidad y los momentos de ataque respecto al estado fenológico del cultivo. El desarrollo de la planta de soja se caracteriza a partir de la escala de Fehr y Caviness (1977), que diferencia los estados vegetativos “V”, de los estados reproductivos “R” (Fig. 1.2). Los estados vegetativos contabilizan el número de nudos sobre el eje principal y se denominan como V1, V2.... Vn. Los estados reproductivos determinan el inicio y plenitud de las etapas de floración (R1 y R2), formación de vainas (R3 y R4), llenado de granos (R5 y R6) y madurez (R7 y R8).

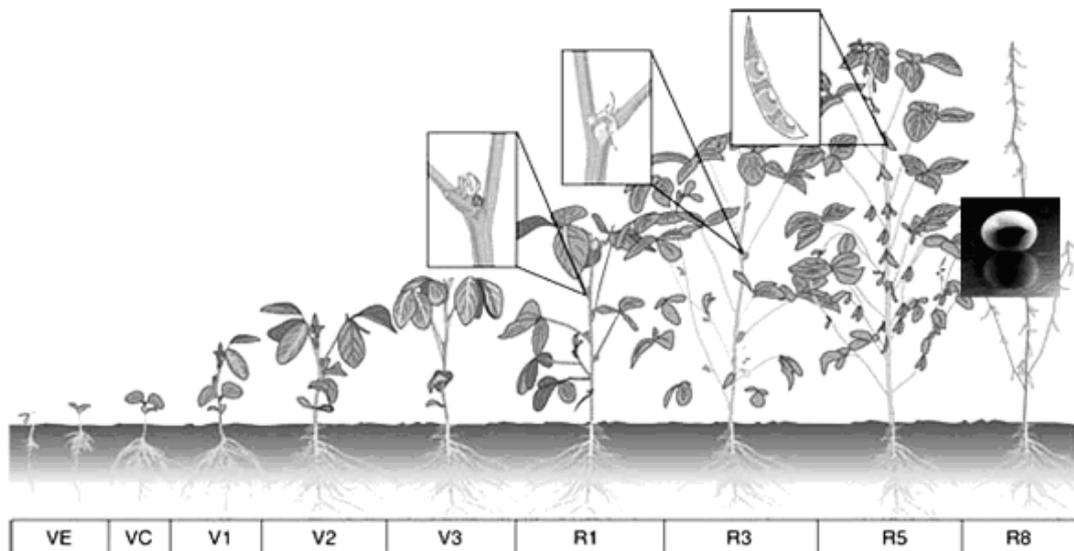


Fig. 1.2. Estados fenológicos en el cultivo de soja de acuerdo a escala de Fehr y Caviness (1977).

Dentro de las plagas primarias que atacan al cultivo de la soja en la Argentina y que requieren aplicaciones frecuentes de insecticidas para su control, se destacan *Nezara viridula* (L.) (chinche verde), *Piezodorus guildinii* (West) (chinche de la alfalfa), *Dichelops furcatus* (F.) (chinche de los cuernitos) y *Edessa meditabunda* (F.) (alquiche chico), conocidas como complejo de chinches. La importancia de estas plagas reside en que pueden provocar pérdidas a muy bajas densidades poblacionales y los daños afectan

directamente al producto de consumo ya que succionan el contenido de los granos en formación, al mismo tiempo que introducen toxinas y organismos patógenos. El impacto de la plaga depende de la especie de chinche y del momento de ataque dentro del período reproductivo del cultivo. Cuando el ataque ocurre entre los estados fenológicos de R3 y R4 se produce un retorcimiento de las vainas las cuales se secan rápidamente y se caen, mientras que en R5 se impide el desarrollo de los granos, que quedan pequeños y deformados y cuando el ataque se produce mas tardíamente el daño es menor (Arregui *et al.*, 2007; Novo *et al.*, 2011). Por esto es común que los productores ante una infestación moderada, por temor a pérdidas de rendimiento significativas, decidan aplicar insecticidas por debajo de los umbrales de daño y en dosis superiores a las recomendadas. Este mal uso puede traducirse en residuos de los plaguicidas que excedan los niveles permitidos, particularmente cuando las aplicaciones se efectúan cerca de la madurez fisiológica del cultivo (Iannone y Leiva, 1994; Giorda y Baigorri, 1997). El control de chinches puede realizarse a través de medidas culturales como las “frangas trampa” que consisten en sembrar variedades de soja precoces en frangas perimetrales o intercaladas en el cultivo. Las chinches se concentran en estas frangas y allí se tiene la oportunidad de controlarlas mediante el uso de insecticidas (Novo *et al.*, 2011). Otra de las formas de control es la aplicación de insecticidas sobre el lote atacado para lo cuál existen numerosas opciones de principios activos derivados de distintos grupos químicos (Sosa y Gamundi, 2007; CASAFE, 2009). Uno de los insecticidas difundidos en la región central Argentina por su efectividad y bajo costo fue el endosulfán, perteneciente al grupo de los derivados químicos organoclorados, pero este principio activo ha sido cuestionado y se encuentra actualmente fuera de uso y dentro de la docena sucia de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) en el Programa Global de Monitoreo de la Contaminación Química (Bejarano González *et al.*, 2008; Convenio de Estocolmo, 2013). Otra opción para el control químico es el uso de plaguicidas del grupo de los organofosforados combinados con piretroides como es el caso de clorpirifós-etil+cipermetrina (Kegley *et al.*, 2008; CASAFE, 2009; Gonzalez *et al.*, 2010; Novo *et al.*, 2011). También se encuentran en el mercado alternativas a los clorados y fosforados, principalmente en vías de reemplazar al endosulfán y evitar la aparición de resistencia de las plagas, como es el caso de las mezclas de imidacloprid+ β -ciflutrina o imidacloprid+lambdacialotrina, pertenecientes al grupo de los derivados de las nitroguanidinas en combinación con piretroides (Sosa y Gamundi, 2007; CASAFE, 2009).

El cultivo de maíz es atacado, en sus distintos estados de desarrollo, por numerosas plagas insectiles, causando pérdidas importantes del rendimiento (Arregui *et al.*, 2001).

La escala fenológica más utilizada en el cultivo de maíz es la escala de Ritchie y Hanway (1982) la cual utiliza caracteres macroscópicos externos. La fenología del cultivo se puede dividir en dos etapas, una vegetativa y otra reproductiva. La etapa vegetativa se identifica con la letra “V” seguida con un subíndice que señala el número de orden de la última hoja completamente expandida con lígula visible al momento de la observación. El fin del estado vegetativo se produce con la aparición de la panoja (inflorescencia masculina) y se define como “VT”. Los estados reproductivos comienzan en R1 con la aparición de los estigmas, y siguen con los estados R2 correspondiente a grano acuoso, R3 a grano lechoso, R4 a grano pastoso, R5 a grano dentado y concluye en R6 con la madurez fisiológica (Fig 1.3).

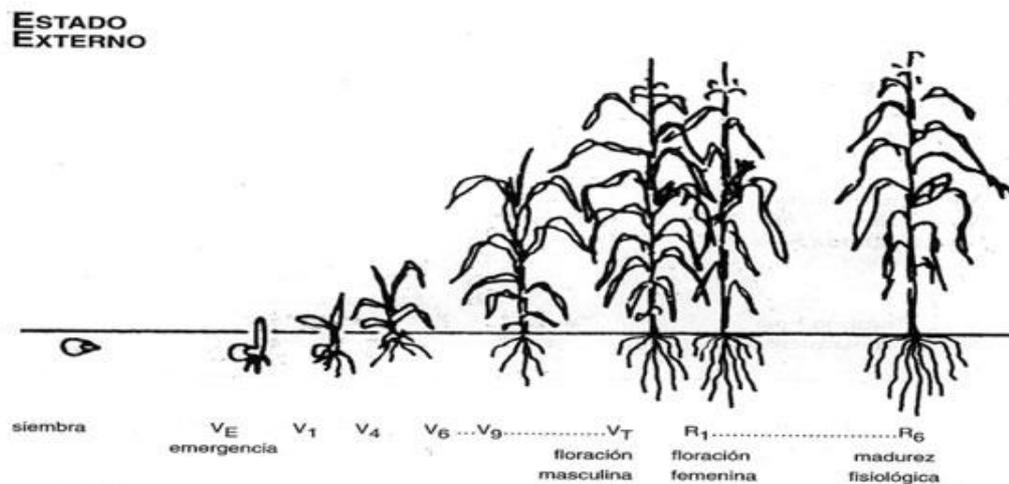


Fig. 1.3. Estados fenológicos en el cultivo de maíz de acuerdo a escala de Ritchie y Hanway (1982)

En este cultivo las principales plagas son las orugas, entre ellas, *Diatraea saccharalis* (F.) (Barrenador del tallo), *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Oruga cogollera u Oruga militar tardía), *Agrotis malefida* (Guenée) y *Porosagrotis gypaetina* (Guenée) (Orugas cortadoras). El barrenador del tallo es la plaga principal y más generalizada del cultivo en la zona pampeana (Peralta, 2008). Los adultos oviponen en el envés de las hojas y las larvas recién emergidas se alimentan de las mismas y cuando la planta se encuentra en

estados vegetativos avanzados atacan la zona meristemática de los entrenudos produciendo el secado y desprendimiento de las hojas. Posteriormente se introducen dentro de los tallos barrenando entre dos y tres nudos cada larva, provocando una disminución del tamaño, del peso y el desprendimiento de las espigas y quebrado de la planta (Arregui *et al.*, 2001; Arregui *et al.*, 2007; Novo *et al.*, 2011). La oruga cogollera puede comportarse como defoliadora, cortadora o cogollera. El principal daño lo realiza con esta última acción ya que se alimenta del cogollo (parte central superior de la planta en la cual se encuentran las hojas aun no desplegadas). Por encontrarse protegidas dentro de la planta se hace muy difícil su control (Novo *et al.*, 2011) y está presente en todas las campañas variando su intensidad de ataque entre las mismas (Peralta, 2008). Las orugas cortadoras son de hábitos nocturnos y el daño que provocan es cortar la planta de hasta 10 cm de altura a nivel del suelo. A medida que las plantas crecen el daño potencial es menor (Novo *et al.*, 2011).

El control de estas plagas se realiza principalmente a partir de prácticas culturales mediante la roturación del suelo, rotación de cultivos, siembras tempranas, eliminación de especies vegetales que actúan como reservorios, y en menor medida, mediante el control químico debido a que estas plagas se encuentran en general protegidas dentro de las estructuras de las mismas plantas. Durante la campaña 2007/2008 en la zona centro-sur de Córdoba y norte de Buenos Aires se registraron ataques de estas plagas que requirieron aplicaciones de insecticidas para su control (Peralta, 2008). Algunos de los productos utilizados son mezclas de principios activos del grupo de los organofosforados y piretroides tales como clorpirifós-etil+cipermetrina y existen otros de reciente aparición como el novalurón y lufenurón pertenecientes al grupo químico de las benzoilureas (CASAFE, 2009; Novo *et al.*, 2011).

Luego de la cosecha, en general, los granos de cultivos extensivos y sus subproductos, son almacenados hasta el momento de su comercialización. La calidad y el rendimiento de los granos durante el almacenamiento puede verse afectado por el ataque de insectos, ácaros y roedores. Los insectos y ácaros utilizan a los granos y harinas como alimento y los ensucian con sus excrementos, huevos, despojos larvales, capullos vacíos e hilos de seda. Si la población de insectos crece en forma desmesurada, además de reducir la calidad del grano, se produce un incremento de la temperatura y humedad de los granos, un aumento del contenido de dióxido de carbono y una reducción del contenido de oxígeno del

medio ambiente. La temperatura y la humedad son los principales factores que influyen en el desarrollo de los insectos. La mayoría de los insectos que atacan los granos almacenados son de origen subtropical y tropical. En las regiones muy frías, los insectos alcanzan niveles de reproducción tan bajos que no llegan a caracterizarse como plagas por lo tanto en los granos que se mantienen por debajo de los 17°C el desarrollo de los insectos resulta insignificante. Los límites de temperatura para el desarrollo de la mayoría de los insectos que atacan los granos almacenados varían entre 20 y 35°C. El contenido de humedad de los granos es un factor crítico para la sobrevivencia del insecto. Los insectos toman de los alimentos la humedad que requieren para sus procesos vitales por lo tanto el aumento del contenido de humedad favorece la proliferación de los insectos. Los granos de cereales con humedad inferior al 10% inhiben la actividad de los insectos. Aparte de la temperatura y del contenido de humedad de los granos, la composición del aire intergranular (relación oxígeno/gas carbónico) constituye un importante factor para el desarrollo de las poblaciones de insectos que infestan los granos almacenados (FAO, 2013b).

Los insectos que parasitan granos almacenados, se clasifican en dos grupos, aquellos que causan infestación primaria, es decir que atacan a los granos sanos, ocasionando el daño conocido como “picado”; y los de infestación secundaria que aparecen sobre granos que ya han sufrido un daño primario, granos partidos o productos de la molienda (Novo *et al.*, 2011). Se destacan dentro de las plagas que causan infestación primaria, *Sitophilus granarius* (L.) (Gorgojo del trigo) y *S. oryzae* (L.) (Gorgojo del arroz), *Rizopertha dominica* (F.) (Taladrillo de los granos) y *Sitotroga cerealella* (O.) (Palomita de los cereales) y de las que provocan infestación secundaria, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Carcoma dentada de los granos), *Cryptolestes ferrugineus* (Carcoma achatada o gorgojo de los granos partidos), *Tribolium castaneum* (Herbst) y *T. confusum* (J. du Val) (Tribolios castaño y confuso). Controlar estas plagas es imprescindible no sólo por los daños directos que causan en los granos, sino también porque los estándares de comercialización argentinos prohíben la venta de mercaderías con insectos vivos. Para el control de estas plagas se recomienda realizar un Control Integrado de Plagas de Granos Almacenados combinando la prevención a través de la limpieza y tratamiento de las instalaciones vacías, la pre-limpieza del grano y descorazonado del silo, el tratamiento de los granos con insecticidas preventivos y la práctica de aireación (Carpaneto *et al.*, 2013). Los insecticidas utilizados para el control de estas plagas son principios activos pertenecientes a los grupos químicos de los

organofosforados tales como diclorvos, clorpirifós-metil, pirimifós-metil y a los derivados de los piretroides como las permetrinas y deltametrina entre otros (Aldana Madrid *et al.* 2008; Casini y Santajuliana, 2008; Novo *et al.*, 2011). Una vez almacenados los productos es necesario realizar planes de monitoreo e identificación de especies presentes y de ser necesario utilizar prácticas curativas. Entre estas encontramos la de atmósfera modificada, por aumentos en la concentración de dióxido de carbono o disminución del oxígeno (Carpaneto *et al.*, 2013) ya que en bodegas y silos, la masa de granos forma un microclima que afecta la respiración de los granos y organismos asociados a ella, por lo que la composición del aire intergranular puede resultar modificada (FAO, 2013b). Otra de las prácticas curativas es la fumigación, la cuál controla la infestación pero no brinda ningún tipo de protección contra futuras infestaciones. Generalmente para este tipo de control se utilizan gases que actúan por inhalación y requieren el mayor grado de hermeticidad posible y un tiempo de exposición determinado (Casini y Santajuliana, 2008). La fosfina es un gas letal para los insectos capaz de eliminar todos sus estadios de desarrollo, incluso los de las plagas primarias, ya que difunde hacia el interior del grano. Esta necesidad de controlar los insectos hasta su eliminación total lleva en muchos casos a realizar un uso incorrecto y excesivo de los insecticidas químicos lo cuál resulta peligroso desde varios puntos de vista: pone en riesgo la inocuidad del alimento y la salud del consumidor, genera rechazos por excesos de residuos, posee un elevado impacto ambiental y puede comprometer la salud y la seguridad de quienes los manipulan (Carpaneto *et al.*, 2013).

Los plaguicidas

Concepto

Un "**plaguicida**" es cualquier sustancia destinada a impedir, 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 piensos, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye 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 aquellas aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. El término excluye normalmente los fertilizantes, nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios y medicamentos veterinarios (*Codex alimentarius*, 2013).

Clasificación de plaguicidas: Insecticidas

Los plaguicidas pueden clasificarse de acuerdo a su finalidad, es decir según la plaga que controlan, y se denominan acaricidas cuando se utilizan para el control de ácaros o arañuelas, bactericidas en el control de bacterias, fungicidas cuando se destinan al control de hongos, insecticidas cuando controlan insectos, herbicidas para malezas, etc (Cavallo, 2006; Novo *et al.*, 2011).

Los insecticidas, por lo tanto, son aquellas sustancias destinadas a combatir plagas insectiles y se clasifican de la siguiente manera:

-Según la vía de absorción por el insecto:

De contacto: el simple contacto del insecto con el plaguicida produce la acción.

Digestivos o de ingestión: necesitan introducirse por la boca de los organismos vivos para ejercer su acción.

Fumigantes: sustancias sólidas, líquidas o gaseosas que se pasan a vapor o gas tóxico de elevado poder de difusión, controlando a los organismos al entrar por el sistema respiratorio.

-Según su modo de acción en los insectos: físicos, nerviosos, inhibidores de la síntesis de quitina, microbianos, etc.

-Según su comportamiento en la planta:

De contacto: el producto es aplicado directamente sobre las plagas o permanece en la superficie tratada, actuando directamente sobre el organismo a controlar. Estudios encontrados reflejan que si bien la actividad del plaguicida ocurre sobre la planta pueden existir fenómenos de translocación, los cuáles no son suficientes para que el principio activo actúe por vía sistémica (JMPR, 2007; JMPR, 2008).

Sistémicos: los compuestos tienen la capacidad de penetrar en el interior del tejido vegetal, ubicarse y extender su acción desde el lugar de aplicación a otros puntos de la planta para cumplir su función.

Residuales: productos que se colocan antes que aparezca la plaga y permanecen a la espera de las mismas para efectuar su acción.

-Según su composición química:

Inorgánicos (derivados del azufre, cobre, etc.)

Orgánicos de origen vegetal (piretrinas, nicotina, etc.), **de origen mineral** (aceites derivados de petróleo), **de síntesis** (clorados, fosforados, carbamatos, piretroides, cloronicotilínicos, benzoilureas); etc.

-Por su formulación comercial: en la presentación comercial o formulación de los plaguicidas, la sustancia activa (principio activo o droga) acondicionada junto a sustancias auxiliares denominados coadyuvantes, se lleva a una condición en la que pueda aplicarse pura o diluida para que llegue a la plaga (Arregui *et al.*, 2001).

De acuerdo a la forma en que se presentan comercialmente los plaguicidas se clasifican en:

Tabla 1.1. Denominación de plaguicidas de acuerdo a su formulación comercial (Elaboración personal en base a bibliografía consultada).

Naturaleza de la formulación	Denominación	Abreviatura
Polvos	Polvo Seco	DP
	Polvo Soluble	SP
	Polvo Mojable	WP
Sólidos Dispersables	Gránulos Dispersables	WG
	Polvos Dispersables	WS
	Terápicos de semillas	
Granulados	Granulados	GR
Fumigantes sólidos	Comprimidos Fumigantes	FW
	Pastillas fumigantes	FF
	Bolsitas Fumigantes	FU
Productos evaporables	Feromonas	VP
Soluciones	Concentrados Solubles	SL
	Líquidos Miscibles	OL
	Líquidos de aplicación directa	AL
Emulsiones	Concentrados Emulsionables	EC
	Concentrados Emulsionados	EW
Suspensiones	Suspensiones Concentradas	SC
	Suspensiones Terápicos de Semillas	FS
	Suspensión de Encapsulados	CS
	Microencapsulados	MC
Líquidos Fumigantes	Líquidos Fumigantes	LF
Formulaciones Gaseosas	Gas	GA

Clases toxicológicas

La toxicidad es la capacidad de una sustancia o sus productos metabólicos de causar, por acción física o físico-química, en determinadas dosis, un daño a la salud. La **Dosis Letal Media** (DL50), es la cantidad de tóxico capaz de matar al 50% de la población en estudio. Se expresa en miligramos por kilogramo de peso vivo (mg/kg. p.v.) debiendo constar la especie, el sexo y la vía de absorción. En caso de fungicidas se suele reemplazar el término por **Dosis Efectiva Media** (DE 50) (Cavallo, 2006). Cuando se trata de plaguicidas en aire o agua se hace referencia a la Concentración Letal Media (CL 50), la cual debe ir acompañada por el tiempo de exposición.

Las clases toxicológicas se definen en base a la DL50 de cada sustancia y su formulación (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Clases toxicológicas de productos plaguicidas según la DL50 (mg/kg p.v.) y formulación (Elaboración personal en base a bibliografía consultada)

Clasificación de la OMS según riesgo	Formulación líquida		Formulación sólida	
	DL 50 aguda		DL 50 aguda	
	Oral	Dermal	Oral	Dermal
Clase Ia Producto sumamente peligroso	<20	<40	<5	<10
Clase Ib Producto muy peligroso	20-200	40-400	5-50	10-100
Clase II Producto moderadamente peligroso	200-2000	400-4000	50-500	100-1000
Clase III Producto poco peligroso	2000	>4000	500-2000	>1000
Clase IV Producto que normalmente no ofrece peligro	>3000		>2000	

Desde el punto de vista de los plaguicidas es importante considerar su toxicidad a corto y mediano plazo (toxicidad subcrónica) pero sobre todo a largo plazo (toxicidad crónica). Los ensayos se realizan con animales en experimentación e interesa conocer las posibilidades cancerígenas, los efectos mutágenos, los efectos teratogénicos o alteraciones

en la reproducción, el metabolismo y mecanismos de eliminación, la neurotoxicidad, posibles efectos retardados y la potenciación (Puiggrós Jove, 1989; Coscollá, 1993).

Cuando hablamos de una formulación la toxicidad no es la misma que la del principio activo. Debemos tener en cuenta que si el producto comercial es una mezcla de principios activos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) aconseja requerir al formulador la DL50 real, oral y dermal, obtenida por experimentación con ese producto comercial; ó clasificarlo de acuerdo al constituyente más riesgoso de la mezcla como si éste constituyera el total de la concentración. Aunque se debe tener en cuenta que la toxicidad puede verse incrementada por los fenómenos de sinergismo o potenciación. Los coadyuvantes, sobre todo los solventes, aumentan la toxicidad de una manera difícil de cuantificar (Cavallo, 2006).

Breve reseña de los insecticidas utilizados en el presente estudio

Los productos químicos utilizados en el presente estudio son insecticidas destinados a combatir plagas tanto en el campo como en el almacenamiento de granos de soja y maíz, pertenecientes a grupos químicos de derivados orgánicos de síntesis con diferentes vías de absorción, modo de acción y comportamiento en la planta. A continuación se hace una breve mención de las características de los principios activos utilizados para la aplicación en los ensayos experimentales en el presente trabajo.

Insecticidas derivados organoclorados

Generalidades

Los insecticidas organoclorados, también denominados clorinados contienen carbono, hidrógeno, cloro y a veces oxígeno. El más conocido del grupo es el DDT que fue prohibido en Estados Unidos en 1973 y en nuestro país en 1990. El excesivo uso, especialmente en el control de la mosca de los establos, ocasionó que se encontraran residuos en la leche en los EEUU. Esto trajo aparejado una serie de estudios que condujeron a declararlo como insecticida riesgoso debido a su larga vida residual, a su bioacumulación en la cadena alimentaria y a sus efectos sobre la vida silvestre.

Dentro de este grupo encontramos a los derivados de ciclodienos que se originan a partir de la reacción de Diels-Adler por la cual se forma el hexaclorociclopentadieno. La adición de cloro a estos compuestos da lugar a la formación de configuraciones isoméricas endo-exo, cis-trans y a la formación de epóxidos. En todos los casos, al agregar cloro, se pasa de un producto activo a uno más activo. Dentro de este grupo encontramos al endosulfán (Novo *et al.*, 2011).

Endosulfán

Tabla 1.3. Nomenclatura y clase toxicológica de endosulfán (Sigma Aldrich, 2013)

Principio activo	Nombre IUPAC	Fórmula semidesarrollada	CAS N°	Clase toxicológica
Endosulfán	6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepina-3-óxido	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	115-29-7	Ib-II

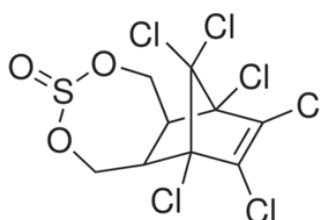


Fig. 1.4. Molécula de Endosulfán (Sigma Aldrich, 2013).

El endosulfán es un insecticida neurotóxico que interfiere en la transmisión axónica de los impulsos nerviosos y altera la irritabilidad de las neuronas. Actúa por contacto e ingestión y a altas temperaturas también por inhalación (Novo *et al.*, 2011). El principio activo es una mezcla de isómeros cis-trans denominados alfa endosulfán y beta endosulfán ($\alpha:\beta$ 70:30) y sus principales metabolitos son el sulfato de endosulfán y el endosulfán-diol. El sulfato de endosulfán es el más abundante producto de degradación y cuenta con la misma toxicidad del compuesto original pero es aún más persistente. Se estima que en suelo y en sedimentos la suma total de residuos de endosulfán (isómeros α y β y sulfato de endosulfán) puede tener una tasa de desintegración media (TD50) de entre 9 meses a 6 años (Bejarano González *et al.*, 2008). Los períodos de semidesintegración de los isómeros

en diversas condiciones ambientales son variables. En muestras acuosas, el α -isómero es más persistente mientras que en muestras de suelo y en la superficie de las plantas y productos vegetales lo es el β -isómero (Sutherland *et al.*, 2004). Posee una amplia selectividad lo cuál permitió que en muchos países del mundo fuera recomendado e incorporado en técnicas de control integrado de plagas (Novo *et al.*, 2011). Actualmente es un producto muy cuestionado y se ha incluido dentro de la docena sucia de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) en el Programa Global de Monitoreo de Contaminación Química por lo cual su eliminación de los planteos productivos es necesaria y obligatoria (Convenio de Estocolmo, 2013).

Formulaciones: EC 35%, WP 50%.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 100-160 mg/kg p.v. y DL50 dermal (conejo): 359 mg/kg p.v. Es poco tóxico para aves y peces.

Período de Carencia (PC): hasta 14 días en el cultivo de soja.

Insecticidas orgánicos derivados del ácido fosfórico

Generalidades

Los insecticidas órganofosforados, denominados también fosforados orgánicos o ésteres del ácido fosfóricos, entraron al mercado en reemplazo de los organoclorados por su relativamente baja estabilidad química, sin embargo son altamente tóxicos para los animales superiores y el hombre. Los órganofosforados son derivados del ácido fosfórico, el cual sufre diferentes sustituciones de los grupo OH^- por grupos RO^- (radical orgánico). Su modo de acción se basa en la capacidad para inhibir varias enzimas pero su efecto más importante es la inhibición de la enzima acetil colinesterasa a nivel sináptico. Se mimetiza con la acetilcolina uniéndose al sitio esteárico de la colinesterasa. Dentro del grupo de insecticidas órganofosforados encontramos una gran variedad de principios activos como clorpirifós-etil, clorpirifós-metil, pirimifós-metil y diclorvós, ampliamente distribuidos para el control de plagas en la producción agropecuaria (Novo *et al.*, 2011).

Tabla 1.4. Nomenclatura y clases toxicológicas de insecticidas órganofosforados utilizados en el estudio (Sigma Aldrich, 2013).

Principio activo	Nombre IUPAC	Fórmula semidesarrollada	CAS N°	Clase toxicológica
Clorpirifós etil	0,0-dietil 0- (3,5,5-tricloro-2-piridil fosforotioato	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	2921-88-2	II
Clorpirifós metil	O,O-dimetil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato	$C_7H_7Cl_3NO_3PS$	5598-13-0	III
Pirimifós metil	O-2-dietilamino-6-metilpirimidin-4-il O,O-dimetil fosforotioato.	$C_{11}H_{20}N_3O_3PS$	29232-93-7	III
Diclorvós	2,2-diclorovinil-dimetil fosfato	$C_4H_7Cl_2O_4P$	62-73-7	II

Clorpirifós-etil

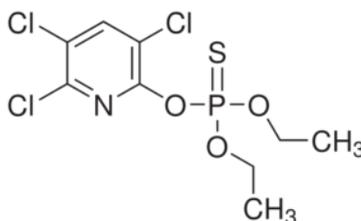


Fig. 1.5. Molécula de Clorpirifós-etil (Sigma Aldrich, 2013).

El principio activo clorpirifós-etil es sólido, insoluble en agua, de baja tensión de vapor y poco sensible a la hidrólisis. Actúa por contacto, ingestión e inhalación y está recomendado para el control de insectos chupadores y masticadores. No es fitotóxico para los cultivos en las dosis recomendadas.

Formulaciones: EC 48%, WP 50%. Se lo utiliza también en mezclas con cipermetrina.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 135-160 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): 2000 mg/kg p.v. Es tóxico para las aves, peces y abejas.

Período de carencia (PC): 21 a 45 días según el cultivo. Para el cultivo de soja de 7 a 45 días según formulado y para el cultivo de maíz de 30 días.

Clorpirifós-metil

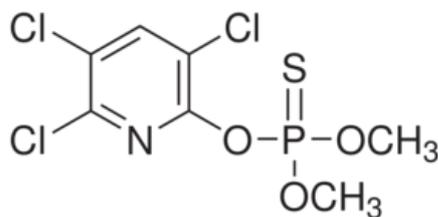


Fig. 1.6. Molécula de Clorpirifós-metil (Sigma Aldrich, 2013).

El principio activo es un sólido cristalino, de mediana tensión de vapor y bastante estable a la hidrólisis. Es un insecticida-acaricida que actúa por contacto, ingestión e inhalación actuando sobre plagas que atacan a los granos almacenados, moscas, mosquitos, y algunos insectos que atacan a los cultivos. En nuestro país se lo utiliza para tratamientos preventivos en granos, en donde su poder residual es de 6 a 8 meses dependiendo de la dosis y para tratamientos exteriores o complementarios (Novo *et al.*, 2011).

Formulaciones: EC 48% y en mezclas con deltametrina EC 14,5%+0,65%.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 1630-2140 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): 2000 mg/kg p.v. Es tóxico para peces y abejas.

Períodos de carencia (PC): no posee aunque se recomienda dejar transcurrir de 20 a 30 horas entre la aplicación y el consumo.

Pirimifós-metil

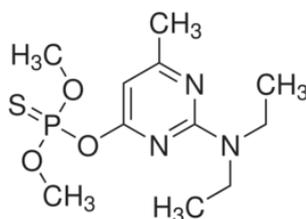


Fig. 1.7. Molécula de Pirimifós-metil (Sigma Aldrich, 2013).

El principio activo es un líquido insoluble en agua y corrosivo a la hojalata. Es un insecticida-acaricida de amplio espectro, con acción por contacto e inhalatoria. En las plantas penetra al tejido foliar y presenta acción translaminar. En nuestro país se lo utiliza

para tratamientos en granos y productos almacenados, aunque en el mundo su principal uso es en salud pública, basurales y también sobre cultivos. Por su penetración el producto se acumula en tegumentos, por lo que la contaminación por residuos en harinas es muy leve (Novo *et al.*, 2011).

Formulaciones: EC 50%

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 2050 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): >2000 mg/kg p.v. Es un producto muy seguro para animales superiores y el hombre, pero es tóxico a peces.

Períodos de carencia (PC): No se han establecido aunque se recomienda dejar transcurrir de 20 a 30 horas entre la aplicación y el consumo.

Diclorvós (DDVP)

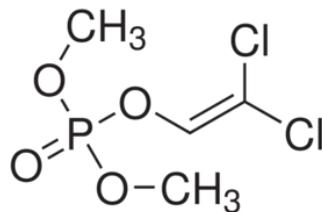


Fig. 1.8. Molécula de Diclorvós (Sigma Aldrich, 2013).

Es un líquido incoloro con alta tensión de vapor, algo soluble en agua, completamente miscible en hidrocarburos aromáticos y poco en aceites minerales. Es un insecticida que actúa por contacto, ingestión e inhalación, y es utilizado en tratamientos para el control de plagas que atacan granos almacenados, sus instalaciones y medios de acopio. Debido a su alta tensión de vapor tiene un rápido efecto de volteo y baja persistencia (Novo *et al.*, 2011).

Formulaciones: EC 100% y en mezclas con deltametrina, permetrina, etc.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 56-80 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): 107 mg/kg p.v. Es altamente tóxico para peces y abejas.

Período de Carencia (PC): no consumir el material tratado hasta que hayan transcurrido de 20 a 30 días desde la aplicación.

Insecticidas derivados de piretroides

Generalidades

Se pueden considerar piretroides a los ésteres derivados de ácidos del ciclopropano. Todos los piretroides son mezclas de varios isómeros y la potencia insecticida es muy distinta para los diferentes isómeros de la mezcla. Poseen actividad insecticida cuando la unión éster está intacta y el sitio primario de acción es la membrana del axón nervioso; en la cuál interactúa con los canales de Na⁺ prolongando su apertura, lo que tiene una serie de consecuencias como la prolongación de la despolarización terminal del nervio con una consecuente liberación inadecuada de neurotransmisores. Este fenómeno prolongado en el tiempo desencadena una serie de eventos que llevan a la muerte del insecto. Estos compuestos presentan tres tipos de acción:

Acción de volteo (Knock-down): es un envenenamiento rápido del insecto que produce incoordinación e inestabilidad locomotora, causando su caída.

Acción letal (Killing): es la propiedad de resistir a la metabolización o detoxificación por un período lo suficientemente largo como para acumularse hasta llegar a la dosis letal, con total independencia de la capacidad de volteo.

Acción de incremento de la actividad espontánea: es de importancia práctica pues hace que los insectos abandonen sus lugares de refugio. Este incremento de actividad es seguido por una tendencia a alejarse del lugar fenómeno llamado "flushing-out", "exclusión" o "repelencia". Al obligar a los insectos a salir de sus refugios aumenta el contacto con el insecticida.

Los piretroides son considerados, en general, productos de baja toxicidad para el hombre y animales superiores ya que la rápida metabolización lo hace desaparecer pronto por degradación oxidativa. En los tejidos adiposos, la depuración es algo más lenta, con una vida media de 10 a 30 días en ratas. Ello sugiere un cierto potencial de bioacumulación. Poseen un coeficiente de seguridad alto para el hombre y animales de sangre caliente debido a que la piel posee una capa queratinizada, la cual no es penetrada por estos insecticidas y existen enzimas, como las esterasas y las hidroxilasas, capaces de romper el enlace éster de los piretroides (Novo *et al.*, 2011). Dentro de este grupo químico encontramos principios activos utilizados para el control de plagas como son cipermetrina, deltametrina y algunos de más reciente aparición como la ciflutrina y β -ciflutrina.

Tabla 1.5. Nomenclatura y clases toxicológicas de insecticidas piretroides utilizados en el estudio (Sigma Aldrich, 2013).

Principio activo	Nombre IUPAC	Fórmula semidesarrollada	CAS N°	Clase toxicológica
Cipermetrina	40-50 cis: mezcla de isómeros cis y trans de alfa-ciano-3-fenoxibencil-2,2-dimetil-3-(2,2diclorovinil) ciclopropano carboxilato	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	52315-07-8	II
Deltametrina	(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzilo	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	52918-63-5	II-IV
β-ciflutrina	Ácido ciclopropenocarboxílico3-(2.2 dicloro etenil)-2.2 dimetil ciano (4 fluoruro-3-fenoxifenil) metil ester	$C_{22}H_{18}Cl_2FNO_3$	68359-37-5	II

Cipermetrina

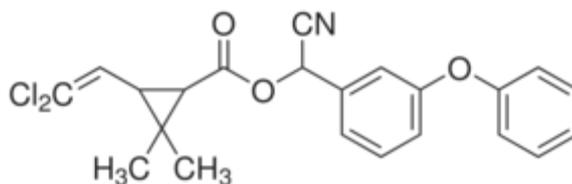


Fig. 1.9. Molécula de Cipermetrina (Sigma Aldrich, 2013).

La cipermetrina es un insecticida que actúa por contacto e ingestión sobre lepidópteros, hemípteros y otros órdenes de importancia agrícola y es utilizado como terapéutico para semillas y para aplicaciones foliares en cultivos extensivos hortícolas, florales ornamentales, forestales, cereales y oleaginosas.

Formulaciones: EC 25%. Se formula también en mezcla con clorpirifós-etil.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 4123 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): >2000 mg/kg p.v. Tiene una baja toxicidad dermal en mamíferos pero es muy tóxico para abejas y peces.

Períodos de carencia (PC): 14 días para el cultivo de soja y 30 días para el cultivo de maíz.

Deltametrina

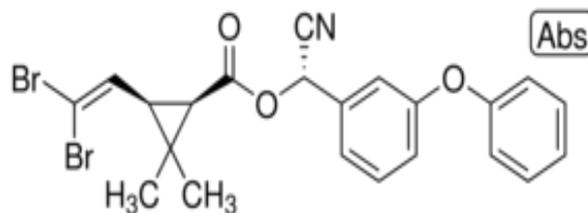


Fig. 1.10. Molécula de Deltametrina (Sigma Aldrich, 2013).

Es el insecticida más potente de este grupo por lo que se usa en muy bajas dosis. Dado su amplio espectro de acción, se utiliza para el control de numerosas plagas en diferentes cultivos, siendo su efecto sobresaliente sobre lepidópteros. La deltametrina se utiliza también para el control de plagas en granos almacenados formulado en mezcla con butóxido de piperonilo con períodos de protección de hasta 12 meses con alta estabilidad en condiciones de almacenamiento. Posee buen poder de volteo y efecto repelente (Novo *et al.*, 2011).

Formulaciones: EC 5%, EC 10% y EC 20%.

Toxicología: es seguro para animales superiores, pero es tóxico a abejas y peces. Clase II a IV según formulado. DL50 oral aguda (ratas): 1000 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): >2000 mg/kg p.v. Seguro para animales superiores y tóxico para abejas y peces.

Período de Carencia (PC): se establecen de 3 a 14 días según los cultivos. Su uso en poscosecha no posee período de carencia aunque se recomienda dejar transcurrir de 20 a 30 horas entre la aplicación y el consumo.

β-Ciflutrina

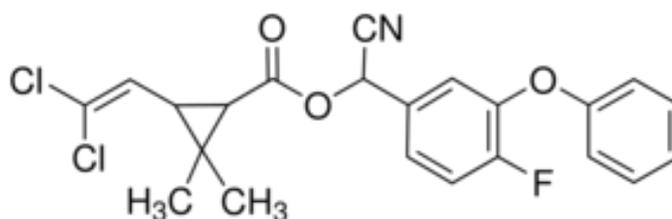


Fig. 1.11. Molécula de β-ciflutrina (Sigma Aldrich, 2013).

Es un insecticida que actúa por contacto e ingestión, de amplio espectro de acción, buen poder de volteo y larga residualidad. El producto activo es una mezcla de 4 diastereoisómeros pares enantiómeros.

Formulaciones: EC 10% y SC 12.5%.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 776 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): >5000 mg/kg p.v. Tóxico para peces, aves y abejas.

Períodos de carencia (PC): 14 días para el cultivo de soja.

Insecticidas cloronicotínicos o nitroguanidinas

Generalidades

Este grupo de insecticidas, más recientes en el mercado, abarca una serie de productos que actúan en las transmisiones nerviosas, uniéndose a ciertas proteínas receptoras post-sinápticas que no son desdobladas por la colinesterasa. De esta manera impiden la transmisión normal de los impulsos nerviosos. Fueron desarrollados para controlar insectos resistentes a los organofosforados y organoclorados. Dentro de este grupo encontramos al principio activo imidacloprid.

Imidacloprid

Tabla 1.6. Nomenclatura y clase toxicológica de nitroguanidinas utilizadas en el estudio (Sigma Aldrich, 2013).

Principio activo	Nombre IUPAC	Fórmula semidesarrollada	CAS N°	Clase toxicológica
Imidacloprid	N-[1-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl]nitramida	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	138261-41-3	II

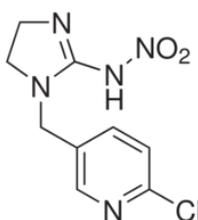


Fig. 1.12. Molécula de Imidacloprid (Sigma Aldrich, 2013).

Es un insecticida con acción sistémica, amplio espectro de acción y prolongado efecto residual. Se puede usar en aplicaciones foliares o como desinfectante de semillas.

Formulaciones: SC 35%, FS 60%, WS 70% y SC 35%. También se presenta en mezclas con ciflutrina.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): 424-475 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): > 5000 mg/kg p.v. Tóxico a abejas y aves.

Período de Carencia (PC): para el cultivo de soja se establece en 64 días.

Insecticidas derivados de benzoilureas

Generalidades

Este grupo de insecticidas actúa inhibiendo la síntesis de quitina, provocando transformaciones endocuticulares. El sitio de acción específico es la inhibición de la polimerización de la N-acetilglucosamina. La cutícula de insectos tratados presenta alteradas sus propiedades mecánicas y mueren por la ruptura de dicha cutícula. Las larvas de primer estadio forman una fina película compuesta sólo de epicutícula, la cual se liga inapropiadamente a la epidermis. Algunos productos han demostrado poseer efectos ovicidas y también efectos quimioesterilizantes sobre adultos de algunas especies. Dentro de este grupo químico encontramos al principio activo novalurón.

Novalurón

Tabla 1.7. Nomenclatura y clase toxicológica de benzoilureas utilizadas en el estudio (Sigma Aldrich, 2013).

Principio activo	Nombre IUPAC	Formula semidesarrollada	CAS N°	Clase toxicológica
Novalurón	(R S) -1 - [3-cloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy) fenil] -3 - (2,6-difluorobenzoil) urea	$C_{17}H_9ClF_8N_2O_4$	116714-46-6	IV

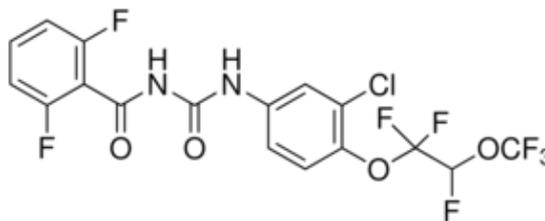


Fig. 1.13. Molécula de Novalurón (Sigma Aldrich, 2013).

Novalurón se define como un nuevo insecticida, inhibidor de la síntesis de quitina, muy eficaz para el control de lepidópteros, moscas blancas y minadores de las hojas y con ningún efecto sobre los parasitoides y fitoseidos los cuales se comportan como enemigos naturales de estas plagas, por lo que es altamente recomendable para programas de Manejo Integrado de Plagas (Ishaaga, 2002; Das *et al.*, 2008; Beuzelin *et al.*, 2010). Es un insecticida que actúa por ingestión con algún efecto por contacto. Presenta efecto ovicida y también afecta la fecundidad de los adultos. Carece de acción sistémica pero presenta un buen poder residual. Está registrado en maíz para el control de *S. frugiperda* (Novo *et al.*, 2011).

Formulaciones: EC 19% y SC 10%.

Toxicología: DL50 oral aguda (ratas): >5.000 mg/kg p.v. DL50 dermal (conejo): > 4.000 mg/kg p.v. Poco tóxico.

Período de carencia (PC): establecido en 30 días para el cultivo de maíz.

Principios en la aplicación de plaguicidas

El uso racional de fitosanitarios en la agricultura desde el punto de vista económico y ambiental esta íntimamente relacionado con los métodos de aplicación empleados (Bogliani *et al.*, 2005). Aplicar un plaguicida tiene como objeto llevarlo al lugar en que debe realizar su acción, en la cantidad adecuada y en el momento apropiado. Si nos referimos a aplicaciones sobre el cultivo la eficiencia de una aplicación depende de la oportunidad en cuanto a la plaga y el ciclo del cultivo, de las condiciones ambientales, tales como temperatura, humedad relativa y velocidad del viento, de la elección del principio activo dependiendo del cultivo y la plaga, como así también la presencia de enemigos

naturales, de la maquinaria a utilizar y de la técnica empleada. La mayoría de las aplicaciones se realizan por vía líquida por lo tanto el equipo utilizado debe pulverizar en pequeñas gotas, imprimirle velocidad y direccionarlas al blanco seleccionado (Novo *et al.*, 2011). Los principales factores técnicos a considerar en una aplicación son: el tamaño, espectro y densidad de gotas y el volumen de aplicación. Entre los factores ambientales se recomienda aplicar en condiciones de temperatura menor a 25°C, humedad relativa del 60% y velocidad del viento menor a 10 km/h (Cavallo, 2006; Novo *et al.*, 2011). Las aplicaciones de plaguicidas en superficies reducidas o para realizar tratamientos localizados se realizan en general con equipos manuales tales como las mochilas pulverizadoras. Las mismas constan de un tanque, una bomba accionada manualmente, una cámara de presión, una lanza con llave de paso y uno o más picos pulverizadores. El tanque de unos 12 a 20 litros de capacidad tiene una amplia boca de llenado con un filtro de malla gruesa. La bomba, que puede ser de pistón o diafragma, es la encargada de suministrar presión al líquido, el cuál entra a la bomba y sale hacia las mangueras a través de válvulas que normalmente son de tipo diafragma y de material resistente a la acción de los plaguicidas. La cámara de presión cumple la función de uniformizar la salida del líquido por el pico. El mecanismo de agitación consiste en una paleta cribada unida al eje del embolo de la bomba. Al comenzar a trabajar el operario acciona la palanca varias veces antes de abrir la llave de paso hacia el pico, luego continúa bombeando uniformemente mientras realiza la tarea. Los picos pulverizadores son los componentes finales y más importantes del circuito hidráulico del pulverizador, pues de ellos dependen las características de la pulverización producida, su función es formar las gotas y distribuir las. El principio de su funcionamiento se basa en que cuando un líquido se fuerza por medio de presión a pasar por una pequeña abertura u orificio, aumenta la velocidad y se desintegra en gotitas de diferentes tamaños. Las boquillas están compuestas por un cuerpo, un filtro, una pastilla y una rosca. Según la proyección de la pulverización los picos se clasifican en dos grandes categorías: picos de proyección cónica y de abanico plano. Los picos de abanico plano son los más utilizados para las aplicaciones de insecticidas. La proyección de la pulverización tiene forma de pantalla o abanico y su funcionamiento se basa en el hecho de que si dos chorros chocan entre sí con un ángulo mayor a 90° se produce una lámina delgada en un plano perpendicular al plano de los chorros. En el interior de estos picos el líquido se curva hacia adentro de modo tal que ambos chorros se juntan en un orificio de forma lenticular o

rectangular. La forma del orificio es de particular importancia en la determinación de la cantidad de líquido emitido y de la forma en que sale, en especial del ángulo de aspersión. En general las boquillas de abanico pueden producir ángulos de entre 80° y 110 ° y arrojar desde 0,1 hasta 15 l/min. Estas características permiten la individualización de los picos por un número compuesto, por ejemplo, 8001, 8005, 11010, etc, esto indica que los picos tienen un ángulo de aspersión de 80° o 110° y arrojan 0,1, 0,5 o 1 galones /min (1 galón: 3,8 lts) (Novo *et al.*, 2011).

Cuando se trata de pulverizaciones para proteger a los granos almacenados, los mismos pueden ser de tipo preventivo sobre las instalaciones o sobre el material a almacenar o curativos cuando se detecta un brote de las plagas. Cuando se trata de aplicaciones preventivas el tratamiento con plaguicidas debe realizarse lo más cercano al lugar del almacenamiento del grano. Estos tratamientos preventivos están destinados a proteger a los granos con insecticidas de contacto que tienen su alta eficacia y baja toxicidad al hombre con un largo poder residual, que varía entre 3 y 6 meses, según se utilice la dosis menor o mayor respectivamente. La técnica de aplicación se basa en pulverizar los granos con el insecticida diluido en su dosis recomendada utilizando de 200 a 700 cc de agua/tn de grano con un máximo de 2,5 litros por tonelada para evitar cualquier aumento apreciable en el contenido de humedad de los granos. En el caso de silos se debe pulverizar a medida que van entrando los granos, con una bomba de accionamiento eléctrico con dosificador automático o con mochila manual equipada con una válvula de regulación de presión y boquilla de precisión, con picos de abanico plano 8001, a fin de lograr una distribución más uniforme (FAO, 1992; Casini y Santajuliana, 2008; Novo *et al.*, 2011). El elevador sube una tonelada de grano cada 1 a 5 minutos, por lo tanto si el rendimiento del elevador es mayor de 1 tn/min, utilizar más de dos picos pulverizadores. En el caso de estibas se deben pulverizar las bolsas sin empapar, a medida que se van armando, con 5 a 10 litros de la emulsión preparada cada 100 m² (Novo *et al.*, 2011).

Deposito de plaguicida

Una vez realizada la aplicación, debemos considerar el concepto de “Depósito del plaguicida”. Se denomina depósito a la cantidad del plaguicida que queda sobre el vegetal inmediatamente después de un tratamiento y se expresa en miligramos de plaguicida por

kilogramo de producto (mg/kg o ppm). El depósito depende de la naturaleza de la molécula, la dosis, la formulación (debido a que los adherentes u otros coadyuvantes que suelen llevar los productos pueden aumentar su retención por la planta), el tipo y condiciones de los aparatos de aplicación y la morfología y naturaleza de la superficie vegetal (Coscollá, 1993).

El depósito de un plaguicida en la planta es eliminado de forma progresiva, con mayor o menor rapidez, según la acción de diversos factores:

Crecimiento del vegetal: Cuando se produce el crecimiento del vegetal, el aumento de peso hace que disminuya proporcionalmente la cantidad del plaguicida en el mismo, ya que los residuos se expresan como una relación de pesos, es decir, miligramos de plaguicida por kilogramo de producto vegetal (partes por millón o ppm). Este fenómeno se denomina “eliminación aparente” de los residuos (Fig. 1.14).

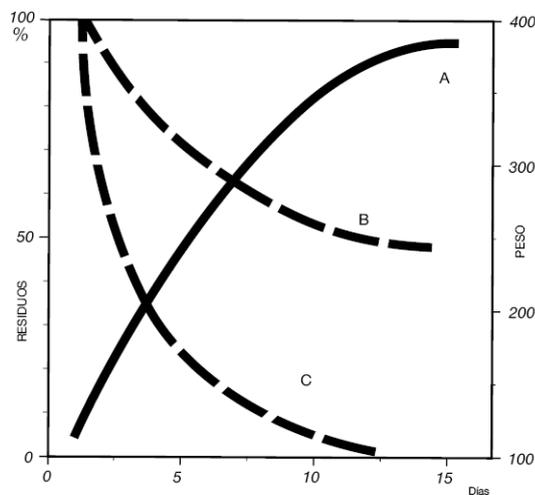


Fig. 1.14. Eliminación aparente de residuos de plaguicidas. Variación del contenido de diazinon en lechugas (Viel, 1972; citado por Coscollá, 1993).
Ref: A-Peso medio de las lechugas; B- Curva de eliminación aparente por crecimiento; C- Curva de eliminación real por análisis.

Causas mecánicas y físicas: Como causas mecánicas cabe citar la acción del viento y la lluvia, especialmente si ocurren poco después de la aplicación, cuando el depósito no está aún seco o bien adherido al vegetal. La acción de la lluvia depende de la intensidad de

la precipitación, del tipo y formulación del plaguicida, de la naturaleza del sustrato vegetal y del momento en que ocurren las precipitaciones. La importancia de la acción del viento es función de la velocidad y su duración. La eficacia de esta eliminación mecánica es dependiente de las características de la superficie vegetal y de las cualidades conferidas a la formulación por sus coadyuvantes. Como causas físicas consideramos la volatilización y la solubilización. La volatilización es diferente para cada materia activa y depende de condiciones tales como la temperatura, el viento, esparcimiento, etc. La solubilización del plaguicida en agua de lluvia puede ser importante considerando que muchas veces ocurren cantidades notables de precipitación y que los volúmenes aplicados son bajos.

Degradación química: Supone la transformación de unas sustancias en otras y su importancia está en la rapidez con que se produce. Depende fundamentalmente de la estructura química del producto, que determina su estabilidad o sus posibilidades de ruptura o de modificación. Puede consistir en reacciones simples o complejas y éstas pueden tener lugar en la superficie del vegetal o en el interior de sus tejidos aunque normalmente se mide la degradación global, cualquiera que sea el lugar o el proceso. Respecto a la degradación externa, es importante el efecto de la radiación solar, debido a los fenómenos de fotodescomposición que se aceleran en presencia de agua. Dentro de la planta los fenómenos son complejos y puede originar en algunos casos metabolitos más tóxicos que el producto inicial. Aunque la velocidad de transformación es muy variable entre productos, en general la remanencia de los plaguicidas penetrantes suele ser mayor que la de los no penetrantes (Coscollá, 1993).

La utilización de Curvas de Disipación de plaguicidas

La utilización y adecuación de curvas de eliminación, disipación o degradación de residuos de plaguicidas permite efectuar predicciones sobre el contenido de residuos como consecuencia de un tratamiento dado, conocer la importancia de las distintas variables en el proceso y la posibilidad de modificarlas para influir sobre el mismo. Con respecto a los factores que influyen sobre la disipación de los plaguicidas, Spinu (1992, citado por Coscollá, 1993) ha señalado 22 variables dependientes del plaguicida (insecticida, fungicida

o herbicida), del sustrato vegetal, de las técnicas de aplicación y de las condiciones climáticas.

La disipación sigue, en general, una cinética de primer orden, aunque en algunos casos se consideran tres o más dinámicas consecutivas (Fig. 1.15 y Fig. 1.16). En la primera fase, llamada “fase de desprendimiento”, la eliminación es muy rápida y se debe a las acciones mecánicas del viento y la lluvia; esta etapa es seguida de una más lenta en la cuál los fenómenos físicos y/o químicos están involucrados y se la llama “fase de degradación”. La tercera y última etapa, la “fase de persistencia”, es sumamente lenta y esta determinada por el bloqueo del plaguicida en el vegetal. Debido a que la “fase de desprendimiento” es muy dependiente de la acción climática, puede ser muy variable en diferentes épocas y lugares, mientras que la última fase depende especialmente de la molécula del producto y del tejido vegetal (Coscollá, 1993; Frehse, 1994).

Fantke (2013) presenta, en su trabajo de revisión, un estudio exhaustivo de datos sobre disipación y vida media de plaguicidas, estableciendo los principales aspectos involucrados en la disipación a los cuales agrupa en aspectos relacionados con las sustancias químicas, con la planta (efectos de eliminación aparente), con el ambiente (fotodescomposición, temperatura, lluvia y variabilidad espacial), entre otros.

Existen numerosos estudios sobre la dinámica de disipación de plaguicidas en productos de consumo, ya que se considera un importante paso para conocer el impacto ambiental y la persistencia de los plaguicidas (Deivendran *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2007; Ntow *et al.*, 2007; Uygun *et al.*, 2008; Romeh *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012; Kulczycki *et al.*, 2012; Strada *et al.*, 2013). Sin embargo, faltan aún en la práctica, modelos que interpreten o estudien la disipación de residuos teniendo en cuenta los factores de variabilidad que inciden en este proceso, principalmente aquellos relacionados con la tecnología de cultivo y con las tecnologías aplicadas al control de plagas, las condiciones ambientales y sus interacciones e influencia (Yagüe, 1989; Coscollá, 1993).

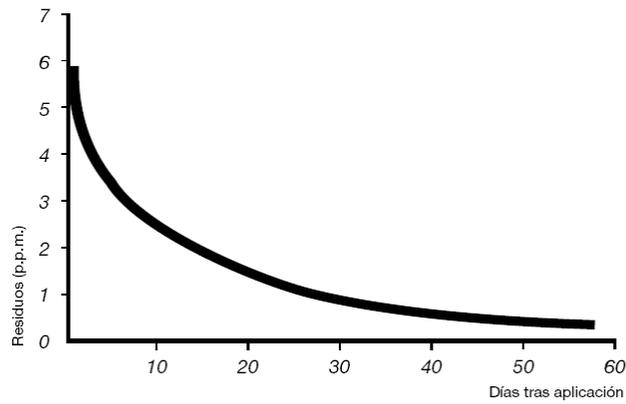


Fig 1.15. Curva de disipación de residuos de plaguicidas. (Coscollá, 1993)

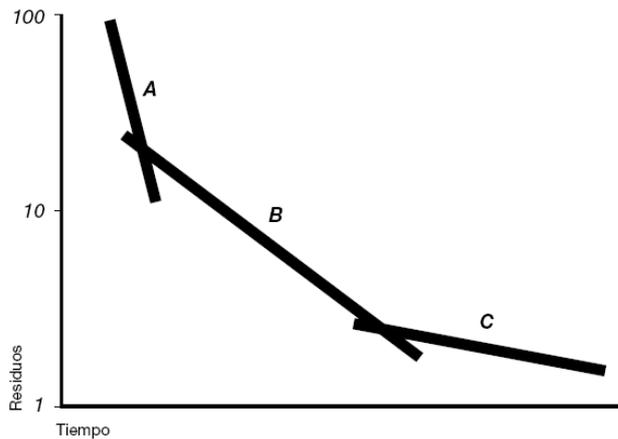


Fig 1.16. Curva de teórica de eliminación de plaguicidas en tratamientos de partes aéreas (Ascoet y Missonnier, 1974; Citados por Coscollá, 1993). Ref: A- Eliminación rápida debida a acciones mecánicas; B- Eliminación más lenta por causas físicas; C- Bloqueo del plaguicida en el vegetal

En el caso de las aplicaciones en poscosecha o almacenamiento de productos vegetales la problemática de los residuos se agrava, tanto por el momento de su aplicación que en general es más cercano a su consumo, como porque en su disipación no intervienen los agentes meteorológicos. En este caso los factores que afectan la cantidad de los residuos son principalmente el tipo de plaguicida y grupo químico, la dosis de aplicación, las características de la aplicación y del sustrato vegetal, como así también las características del almacenamiento y el tiempo transcurrido (Coscollá, 1993).

Conceptos sobre residuos de plaguicidas

Luego de la aplicación de un plaguicida, este sufre los procesos de degradación anteriormente descritos pero pueden quedar residuos remanentes en los órganos de consumo.

Definiciones

Por **Residuo de plaguicida** se entiende cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. El término incluye también a los productos de conversión, metabolitos, productos de reacción o a las impurezas que se considera tienen una importancia toxicológica (*Codex alimentarius*, 2013).

El **Límite Máximo de Residuos (LMR)** es la concentración máxima de residuos de un plaguicida (expresada en mg/kg o ppm), permitida legalmente en la superficie o la parte interna de productos de alimentación para consumo humano y de piensos. Los LMR tienen por objetivo lograr que los alimentos sean toxicológicamente aceptables. Los LMR del *Codex Alimentarius*, que se aplican principalmente a los productos que circulan en el comercio internacional, se obtienen basándose en estimaciones hechas por la JMPR (Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas), después de la evaluación toxicológica del plaguicida y de su residuo; y del examen de datos obtenidos en ensayos supervisados aplicando la dosis más elevada recomendada, autorizada o registrada en el país. Por lo tanto la determinación de los LMR se basa en un concepto toxicológico y otro agronómico. En el primer caso, lo que se pretende es que la ingestión diaria del residuo considerada, no provoque efectos nocivos durante toda una vida, según los conocimientos actuales. Para ello se determina el **Nivel sin efecto (NEL, non effect level)** en animales de experimentación y luego se extrapola al hombre, aplicando grandes coeficientes de seguridad y expresándose como Ingesta Diaria Admisible (**IDA**) (Coscollá, 1993). La IDA de un producto químico es entonces, la cantidad que consumida durante toda la vida parece no conllevar riesgos aparentes para la salud de los consumidores. Se expresa en miligramos de producto químico por kilogramo de peso corporal (*Codex alimentarius*, 2013). Posteriormente, teniendo en cuenta la dieta alimentaria media del país y los alimentos que

pueden ser tratados con ese plaguicida, se le aplica un coeficiente o factor alimentario y se obtiene una cifra, que representa el nivel permisible de residuos en un producto vegetal, desde el punto de vista toxicológico.

Una vez establecido el máximo nivel toxicológico, que nunca debe superarse, hay que considerar los niveles de residuos del plaguicida que se encuentran al momento de la cosecha, cuando se utilizan **Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)** (Coscollá, 1993), entendiéndose por esto en el ámbito de la aplicación de plaguicidas, la utilización del principio activo indicado, en el momento oportuno, las dosis y formas de aplicación adecuadas (Novo *et al.*, 2011). Las BPA comprenden los usos inocuos de plaguicidas autorizados en un país en las condiciones necesarias actualmente para realizar el control eficaz y fiable de las plagas. Comprende una gama de niveles de aplicación de plaguicidas hasta la concentración de uso autorizado más elevada, aplicada de forma que quede la concentración mínima posible del residuo. Los usos inocuos autorizados se determinan a nivel nacional y prevén usos registrados o recomendados en el país que tienen en cuenta las consideraciones de salud pública y profesional y la seguridad del medio ambiente (*Codex alimentarius*, 2013). Debido a que las BPA varían entre los países, en el presente trabajo de tesis se seguirán las recomendaciones especiales para cada principio activo definidas por la Cámara Argentina de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE). El **Período de carencia** de un determinado plaguicida es el tiempo que debe transcurrir entre la última aplicación y el consumo a fin de asegurar que los niveles de residuos se encuentren por debajo de los LMR establecidos (Novo *et al.*, 2011). La **vida residual media** se define como el tiempo en días u horas, que tarda la cantidad de residuos en llegar a una cantidad correspondiente a la mitad del valor inicial o depósito (Coscollá, 1993).

Marcos regulatorios y legislación vigente

La problemática de residuos de plaguicidas es un tema en constante estudio y discusión por organismos internacionales, realizándose continuas modificaciones a los LMR permitidos y a las autorizaciones o prohibiciones de las sustancias utilizadas (FAO, 1990; FAO, 2009; Cheremisinof y Rosenfeld, 2011; JMPR, 2010; JMPR, 2012; *Codex Alimentarius*, 2013; Convenio de Estocolmo, 2013; AESAN, 2013; FAO, 2013a). El Convenio de Estocolmo es un convenio internacional que tiene como fin la protección de la

salud humana y del medio ambiente frente a los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP). Los COP se definen en el Convenio como aquellas sustancias químicas que poseen cuatro propiedades intrínsecas: ser tóxicas, lo que provoca efectos adversos a la salud; ser persistentes, lo que les permite permanecer por largo tiempo en el ambiente antes de degradarse; ser bioacumulables por lo que se concentran en los tejidos grasos y cadenas alimenticias; y poder desplazarse o transportarse a grandes distancias arrastrados por corrientes atmosféricas o por las corrientes de agua, lo que los convierte en contaminantes transfronterizos. Son estas cuatro características las que se deben evaluar según un perfil de riesgo y que han llevado a la prohibición de los plaguicidas organoclorados, entre ellos al endosulfán (Bejarano Gonzalez *et al.*, 2008).

Respecto al establecimiento de los LMR, como el criterio de BPA o las autorizaciones de plaguicidas pueden variar de un país a otro, esto puede conducir a la fijación de LMR discrepantes según países o grupos de países, es decir una incoherencia a nivel internacional (Coscollá, 1993). Las diferencias son muy notables, no están en absoluto justificadas y constituyen un serio riesgo al comercio internacional actuando como barreras para-arancelarias ya que la presencia de niveles de residuos que exceden a los LMR es motivo de rechazo de la mercadería (Toledano *et al.* 1992; *Codex Alimentarius* 2013; AESAN, 2013). China, la Unión Europea y Japón son los principales destinos de exportación de granos producidos en la República Argentina en los cuales existe una importante intervención estatal, estableciendo reglas estrictas referidas a los alimentos. Uruguay es uno de los países del MERCOSUR que ha establecido mayores exigencias en cuanto a la inocuidad de sus productos (MGAP, 2013).

La legislación Argentina fija los LMR en la Ley N° 18284 (Código Alimentario Argentino) cuya última modificación data del año 2007. En Córdoba la Ley de productos químicos y biológicos de uso agropecuario (Ley N° 9164) del año 2004, contempla la contaminación de alimentos con agroquímicos (Cavallo, 2006). La presencia de estos contaminantes debe reducirse mediante la utilización de BPA en la aplicación de plaguicidas, respetando el uso de productos permitidos, las dosis recomendadas y los períodos de carencia, con el fin de alcanzar el máximo nivel de protección de la salud haciendo un uso racional de los plaguicidas (Coscollá, 1993; Arregui *et al.*, 2001; Cavallo, 2006; Arregui *et al.*, 2007; Casini y Santajuliana, 2008; Novo *et al.*, 2011; AESAN, 2013).

Límites Máximos de Residuos (LMR) para los plaguicidas en estudio

Como se dijo anteriormente, los LMR establecidos varían entre países. En la Tabla N° 1.8 pueden observarse los límites establecidos para los principios activos en estudio y las matrices de grano de soja y maíz en la legislación Argentina, de los Estados Unidos, de la Unión Europea y por la Comisión del *Codex Alimentarius*. Los mismos se expresan en microgramos de principio activo por gramo de material vegetal ($\mu\text{g/g}$) o miligramo de principio activo por kilogramo de material vegetal (mg/kg) equivalente a partes por millón (ppm).

Tabla 1.8. Límites Máximos de Residuos de plaguicidas ($\mu\text{g/g}$) para la legislación Argentina, los Estados Unidos de América (EUA), la Unión Europea (UE) y *Codex Alimentarius*. Elaboración personal en base a bibliografía consultada (SENASA, 2013; USDA, 2013; EU, 2013; *Codex Alimentarius*, 2013). Ref: * uso en poscosecha, *¹ no se refiere a su uso en aplicaciones en poscosecha, – no existe LMR en la legislación.

Principio activo	Argentina (SENASA)	EUA	UE	<i>Codex alimentarius</i>
Endosulfán (soja)	0,5	-	0,05	1
Clorpirifós etil (soja)	0,01	0,3	0,05	0,1
Clorpirifós etil (maíz)	0,05	0,05	0,05	0,05
Clorpirifós metil (maíz)*	5	6	3	10
Pirimifós metil (maíz)*	10	8	5	7
Diclorvós (granos almacenados en general)*	5	-	0,01	5
Cipermetrina (soja)	0,1	0,05	0,05	0,1
Cipermetrina (maíz)	0,1	0,05	0,3	0,05
Deltametrina (granos almacenados en general)*	1	1	2	2
Deltametrina (soja)* ¹	0,02	0,1	0,05	1
β -ciflutrina (soja)	0,05	0,03	0,02	0,03
Imidacloprid (soja)	0,01	3,5	0,05	2
Novalurón (maíz)	0,5	0,01	0,01	-

Si bien se establece en la tabla el LMR para endosulfán, es importante considerar que en la última actualización realizada por SENASA que data del mes Julio de 2013 ya no figura este principio activo debido a su prohibición, sin embargo *Codex Alimentarius* aún reporta el LMR para granos de soja.

Determinación de residuos de plaguicidas

La determinación de los niveles de residuos de plaguicidas en alimentos primarios o elaborados permite comparar dichos valores con los LMR establecidos y asegurar la inocuidad de los mismos desde el punto de vista de la contaminación con plaguicidas.

Métodos analíticos para la valoración de residuos de plaguicidas:

Metodología QuEChERS

Por método se entiende a una serie de procedimientos aplicados desde la recepción de una muestra para su análisis hasta la producción del resultado final (*Codex Alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993). En el presente estudio se propone como técnica de extracción de plaguicidas de los tejidos vegetales el Método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) (Rápido, fácil, barato, eficaz, robusto y seguro) desarrollado por Anastassiades *et al.* (2003) y aceptado por la AOAC (2007).

El método se basa en la extracción de plaguicidas de la muestra analizada utilizando acetonitrilo, con la posterior salificación y partición líquido-líquido con $MgSO_4$. Luego, se realiza una extracción dispersiva en fase sólida (SPE dispersiva) y se lleva a cabo una limpieza para eliminar los ácidos orgánicos, el exceso de agua y otros componentes con una combinación de Amina Primaria Secundaria (PSA) y $MgSO_4$ como sorbente. Los extractos son analizados mediante técnicas de espectrometría de masas después de una separación analítica cromatográfica.

El método ha demostrado grandes ventajas respecto a métodos tradicionales de extracción de plaguicidas en varios aspectos ya que se obtienen altos valores de recuperación (>85%) para un amplio rango de plaguicidas, incluyendo algunos de dificultad analítica; los resultados obtenidos son exactos ya que se utiliza un estándar interno (ISTD) para corregir variaciones entre los contenidos de agua y fluctuaciones de volumen entre matrices; pueden analizarse una gran cantidad de muestras en poco tiempo, con mínimo equipamiento, espacio y entrenamiento; se utiliza una baja cantidad de solventes y los residuos producidos son pocos por lo que existe una mínima exposición del analista. Además no se utilizan solventes clorinados, el método es robusto y los costos en

reactivos son bajos (Anastassiades *et al.*, 2003; Anastassiades y Lehotay, 2003; Lehotay *et al.*, 2010; Mastovska *et al.*, 2010).

La técnica QuEChERS ha sido modificada respecto a las matrices de granos de cereales y oleaginosas en diversos estudios, y estas modificaciones reportadas en gran cantidad de trabajos científicos encontrando valores adecuados de recuperación (Guan *et al.*, 2009; Herrmann y Poulsen, 2009; Cunha *et al.*, 2010; Hjorth *et al.*, 2010; Mastovka *et al.*, 2010; Marino *et al.*, 2011; Lucini y Molinari, 2011; Wilkowska y Biziuk, 2011; Brondi *et al.*, 2011; Ricca *et al.*, 2011; Ahumada y Zamudio, 2011).

Conceptos sobre validación de métodos

Según la resolución SENASA N° 138 del año 2002 (SENASA, 2002 138/2002) validar un método es el proceso para establecer las características de performance, las limitaciones y la identificación de influencias que pueden cambiar estas características. Es decir, es el proceso para verificar que un método es apto para un propósito y resolver un problema analítico particular. Para establecer la idoneidad de un método es necesario llevar a cabo ensayos en el laboratorio con el fin de establecer parámetros de aceptación de las técnicas (Hill y Reynolds, 1999; Herrmann y Poulsen, 2009; Hjorth *et al.*, 2010). La realización de curvas de calibración mediante la adición de concentraciones conocidas de estándares de los analitos a determinar nos permite obtener valores que luego serán utilizados como parámetros de aceptación.

La **calibración en solvente** se define como el procedimiento de calibración que utiliza soluciones estándar preparadas que adicionadas a una alícuota de solvente, permiten definir la relación entre una concentración conocida y una respuesta en el instrumento analítico elegido para la determinación de los residuos (*Codex Alimentarius*, CAC/GL 40-1993).

En determinaciones analíticas sobre muestras complejas, existe un fenómeno denominado “**efecto matriz**”, el cual se define como la influencia de uno o más componentes indetectables de la muestra sobre la medida de la concentración del analito. Estos efectos de matriz derivan de varios procesos físicos y químicos que son difíciles o imposibles de eliminar y puede ser observado a partir del incremento o disminución de las respuestas en el detector cuando se compara una misma concentración del analito disuelto

en solvente y en presencia de muestra o extracto de muestras. Los efectos de la matriz son variables e impredecibles entre las técnicas por lo que es necesario conocerlos para saber su influencia (Anastassiades et al., 2003b; Hajslova y Zrostlikova, 2003) y ser considerada en la validación del método. Si esto no se tiene en cuenta, los errores sistemáticos pueden afectar los resultados y causar sesgo afectando tanto la pendiente como el intercepto de la recta de calibrado, por esto es necesario realizar la **calibración en matriz** utilizando estándares externos preparados en la matriz de la muestra mediante el procedimiento de adición de estándar. Diferentes materias primas y concentraciones de matriz pueden dar efectos de diferentes magnitudes y puede existir también la dificultad de obtención de una matriz en blanco para cada tipo de muestra (Garrido Frenich *et al.*, 2006). La calibración en matriz puede compensar los efectos de matriz pero no elimina sus causas.

Otros ensayos a realizar para la validación de una técnica son los **ensayos de recuperación** mediante fortificados. Se define como muestra fortificada a una matriz de la misma naturaleza que las muestras a analizar, enriquecida con una mezcla de uno o varios analitos cuya concentración sea mayor o igual que el mínimo nivel cuantificable (SENASA, 2002 138/2002). El uso de la recuperación está destinado principalmente a los métodos que se basan en la transferencia del analito de una matriz compleja a una solución más simple, durante la cual puede preverse una pérdida del analito (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009).

Parámetros de validación en métodos analíticos

La validación de un método se basa en parámetros objetivos, que se definen de acuerdo al grado de validación necesario para demostrar que el método resulta adecuado para cumplir la finalidad prevista (*Codex Alimentarius*, CAC/GL 40-1993). A continuación se definen algunos de los parámetros más utilizados para la validación de técnicas analíticas en la determinación de residuos de plaguicidas.

-Exactitud: Es el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009), es decir, es la cantidad que se refiere a las diferencias entre la media de una serie de resultados o un resultado individual y el valor que se acepta como verdadero o valor correcto para la cantidad medida (SENASA,

2002 138/2002). La exactitud se mide en función de la Recuperación Porcentual (R%) definida como el cociente entre el valor obtenido de la concentración y la Concentración Nominal por cien, determinada a partir del análisis de una muestra de igual matriz que las muestras a analizar, fortificada con una mezcla de los analitos.

$$\%R = [(CF-CU)/CA] \times 100$$

donde, CF es la concentración de analito medido en la muestra fortificada; CU es la concentración de analito medido en la muestra sin fortificar; CA es la concentración de analito agregado (valor nominal o teórico) en la muestra fortificada (SENASA, 2002 138/2002). En la determinación de residuos de plaguicidas cuando el método demuestre una recuperación entre el ochenta (80%) y ciento diez (110%) por ciento, los resultados no deben ser corregidos por sus valores de recuperación (SENASA, 2002 138/2002). Para la guía SANCO (Documento SANCO N°10684/2009) y los reportes de validación de QuEChERS (Herrmann y Poulsen, 2009; Hjorth *et al.*, 2010;) la recuperación aceptada es entre el 70 y 120%.

-Precisión: es el grado de concordancia o proximidad entre los resultados independientes de ensayos o mediciones independientes obtenidos en condiciones establecidas (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009; SENASA, 2002 138/2002). La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no guarda relación con el valor verdadero ni con el valor especificado. Mayor desviación estándar indica menos precisión. La reproducibilidad se define como la precisión bajo las condiciones de ensayo establecidas. La precisión se mide a través de la reproducibilidad como Coeficiente de Variación porcentual (CV%), Desviación Estándar Relativa (Relative Estándar Deviation RSD) o Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%).

$$RSD(\%) = DS / \bar{X} \times 100$$

donde, DS es el desvío estándar de las determinaciones y \bar{X} es el promedio de la concentración calculada de cada nivel. El umbral de aceptación para estos parámetros en la guía SANCO (Documento SANCO N°10684/2009) es menor al 20%. Respecto al

coeficiente de variación en la medición de trazas, Horwitz (1982) establece, luego de un estudio exhaustivo, que el Coeficiente de Variación en las determinaciones analíticas sigue una distribución exponencial, siendo este valor mayor cuanto más baja es la concentración a medir.

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

donde, C es la concentración expresada como fracción de masa, por ejemplo 10 ng/g=10*10⁻⁹.

El criterio de aceptación en los reportes de validación de la UE para la técnica de QuEChERS es que la RSD% sea menor o igual al Coeficiente de Variación porcentual calculado mediante la ecuación de Horwitz para la concentración analizada.

-Sensibilidad: es la cantidad mínima de un analito capaz de ser detectada por una técnica o a partir de la cual es posible generar una señal. Se mide a través de los Límites de Detección y Límites de Cuantificación.

El Límite de Detección (LD) es la concentración más pequeña en la que puede identificarse el analito. Se define habitualmente como la concentración mínima del analito en la muestra objeto del ensayo que puede medirse con una probabilidad establecida de que el analito esté presente en una concentración superior a la de la muestra testigo (*Codex Alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993).

El Límite de Cuantificación (LC) es el contenido igual o mayor que el menor punto de concentración de la curva de calibración, que puede determinarse con precisión aceptable (repetibilidad) y exactitud bajo las condiciones establecidas en el análisis (SENASA, 2012 138/2002) y se define en función del desvío estándar para el menor nivel validado con aceptabilidad de los criterios de Recuperación entre 70-120% y RSD% menor al 20%.

-Selectividad y especificidad: La selectividad se define como la capacidad de un método para determinar analitos específicos en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento análogo (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009).

En el caso de la técnica de QuEChERS y análisis por Cromatografía Gaseosa con Detector de Masa (GC-MS), la selectividad se mide en función del Tiempo de Retención

Relativo (RTT) respecto al estándar interno (Documento SANCO N°10684/2009). En lo que respecta a la cuantificación, los iones que se controlen deberán ser los más específicos del analito, los que sufran menos interferencias y en los cuales la relación señal/ruido sea adecuada (*Codex Alimentarius*, 2005 CAC/GL 56/2005). El ión cuantificador esta en función del ión que prevalece en el pico cromatográfico y los calificadores en la relación entre determinados iones.

-Robustez (solidez): Una medida de la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método y proporciona una indicación de la fiabilidad del procedimiento en un uso normal (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009). La robustez del método de QuEChERS se ha reportado durante el desarrollo del mismo siendo una de las características que caracterizan al procedimiento (Herrmann y Poulsen, 2009; Hjorth *et al.*, 2010; Lehotay *et al.*, 2010).

-Linealidad: es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, para dar una respuesta o resultados instrumentales que sean proporcionales a la cantidad del analito que se determinará en la muestra de laboratorio. Los límites de la linealidad son los límites experimentales de concentraciones entre los que puede aplicarse un modelo de calibración lineal con un nivel de incertidumbre aceptable (*Codex Alimentarius*, 2009 CAC/GL 72/2009). El rango lineal de trabajo es el rango de concentraciones en el cual es válida la curva de calibración. Si algún valor de las muestras problema cae fuera del rango de respuestas, debe ser reanalizada, si el valor es menor al menor punto de concentración calibrado deberá buscarse otra forma de determinación, mientras que si el valor es superior al mayor valor de concentraciones calibrado, la muestra debe diluirse de manera que los valores obtenidos se encuentren dentro del rango lineal para poder cuantificar su concentración (Documento SANCO N°10684/2009).

-Incertidumbre: la incertidumbre de un método analítico es un indicador cuantitativo de la confianza de los datos y describe el rango alrededor del cual un resultado experimental reportado como un valor verdadero, puede ser falso con una determinada probabilidad o nivel de confianza (Documento SANCO N°10684/2009). Es un parámetro que expresa la posible gama de valores, en torno al resultado de la medición, dentro de la cual se preveé

que se encuentre el valor efectivo con un grado establecido de probabilidad (*Codex Alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993).

Los criterios de aceptación de Incertidumbre expandida del método (U%) según la guía SANCO (Documento SANCO N°10684/2009) en la determinación de residuos de plaguicidas se establecen en un nivel de incertidumbre menor o igual al 50%, siempre y cuando los valores experimentales se encuentren por debajo de este valor.

Controles de calidad y blanco de reactivos

Los controles de calidad y blanco de reactivos son estrategias para asegurar la calidad durante los procesos de extracción y en algunos casos son referencia de la robustez del método. Los **controles de calidad** se definen como muestras de la matriz en estudio analizadas conjuntamente con cada tanda de análisis de muestras problema y se utilizan para comprobar la eficiencia de extracción en cada lote de muestras (debido a la falta de materiales de referencia para los análisis de plaguicidas). Los controles de calidad se realizan fortificando estas muestras y analizando los porcentajes de recuperación. Si el sistema de detección lo permite, todas las recuperaciones se pueden combinar en un solo análisis, añadiendo todos los analitos a una matriz en blanco a un nivel de concentración que se encuentre 30% por encima del límite de cuantificación (Garrido Frenich *et al.*, 2006). Los **blancos de reactivos** de laboratorio son muestras que se analizan en cada tanda pero que no contienen la matriz en estudio y sirven para eliminar falsos positivos por contaminación en los procesos de extracción, instrumentos o productos químicos utilizados (Garrido Frenich *et al.*, 2006).

Identificación y cuantificación de analitos

La espectrometría de masas en conjunto con una separación cromatográfica es una combinación poderosa para la identificación de analitos en el extracto ya que provee simultáneamente datos del Tiempo de Retención, relación masa/carga y de abundancia (Documento SANCO N°10684/2009). Los datos sobre residuos de plaguicidas obtenidos mediante espectrometría de masas suponen pruebas definitivas y cuando se dispone del

equipo necesario, constituyen la técnica de confirmación preferible (*Codex Alimentarius*, 2005 CAC/GL 56/2005).

La cromatografía de gases

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija y otra móvil. En cromatografía gaseosa (CG), la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija. El instrumento para cromatografía gaseosa puede representarse por el siguiente esquema (Fig 1.17):

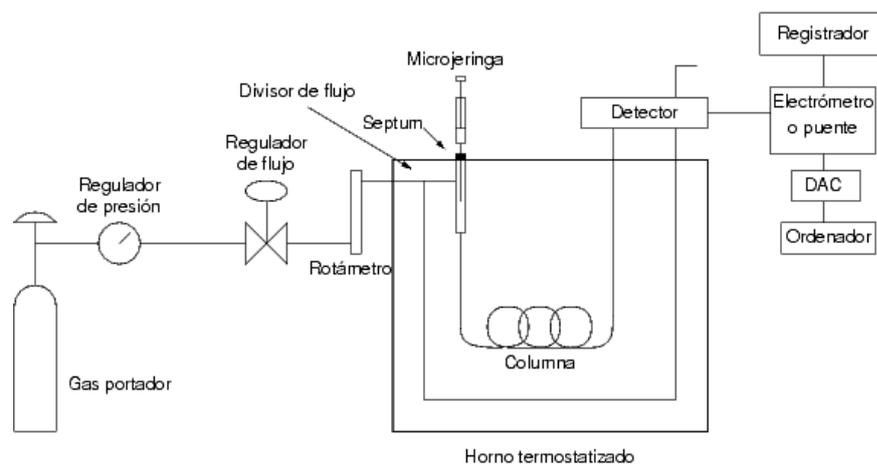


Fig. 1.17. Esquema simplificado de un cromatógrafo gaseoso. Fuente: Wikipedia, 2013.

El gas portador (o fase móvil) proviene de cilindros provistos con válvulas reductoras de presión. La muestra se introduce en el inyector con una microjeringa a través de un septum de goma. Allí se produce la vaporización de la misma y su introducción en la corriente de gas. La columna se halla dentro de un horno de temperatura variable, lugar donde se realiza la separación de los componentes de la muestra. El detector produce una señal eléctrica proporcional a la cantidad de materia a medida que cada componente separado fluye a través de él. Esa señal es enviada al registrador que realiza un gráfico de intensidad en función del tiempo denominado cromatograma (Fig 1.18).

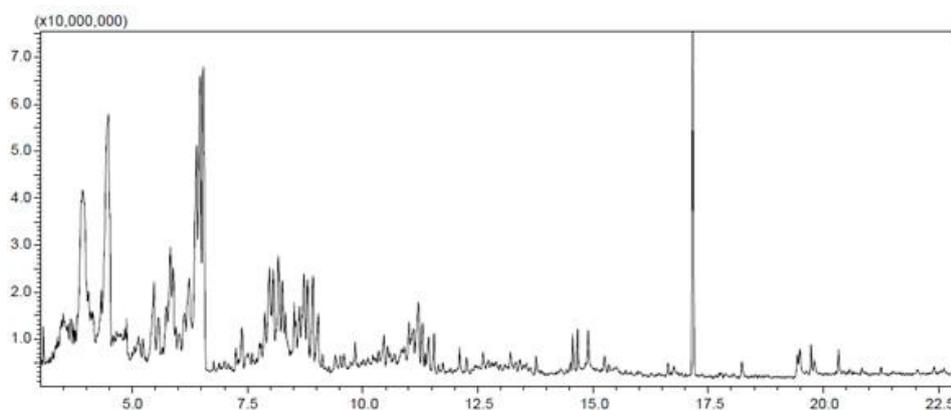


Fig. 1.18. Cromatograma de la corriente de iones totales (barrido completo) de una muestra de espinaca con plaguicidas. Fuente: Notijenck, 2013.

La señal producida por cada analito es idealmente graficada como picos gaussianos y cada pico corresponde a un componente de la muestra original. El integrador (o el software de control) calcula además el área correspondiente a cada pico, la cual es proporcional a la cantidad de analito. Como parte del sistema, el puerto de inyección ha sido constantemente optimizado para lograr una alta precisión en términos de Tiempo de Retención y el área de respuesta. El desarrollo de nuevas técnicas de introducción de muestras ha sido especialmente relevante para el análisis de alimentos ya que el problema asociado con interferencias de la matriz (efecto matriz) se produce tanto en el puerto de inyección como en el detector. Estos efectos suelen producir una sobreestimación de la concentración del analito si la calibración se ha realizado en disolvente puro. Este efecto puede ser minimizado mediante la mejora de la técnica de inyección. Las inyecciones split y split-less consisten en inyectar y vaporizar la muestra en la cámara o puerto de inyección. El método splits-less dirige toda la muestra a la columna por un período de tiempo, por lo que resulta más adecuado para el análisis de trazas o de componentes muy volátiles por lo tanto es la más utilizada en análisis de plaguicidas (Rubinson y Rubinson, 2001).

Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) da nombre a un conjunto de técnicas utilizadas para medir la masa de los iones y su abundancia en la fase gaseosa. Las técnicas de masas

son capaces de suministrar información sobre la composición cualitativa y cuantitativa de analitos orgánicos e inorgánicos en muestras complejas, la estructura molecular, las relaciones isotópicas de los átomos en las muestras y la estructura y composición de superficies. Las etapas de una medida son: la generación de moléculas en fase gaseosa, ionización, separación en función de su relación masa /carga (m/z) y la detección de los picos de los iones

Las tres partes básicas de un detector de espectrometría de masas son la fuente de ionización, el analizador o filtro de masas y el transductor o detector. La muestra puede introducirse tanto en fase gaseosa como en fase líquida o sólida. La zona donde se introducen las moléculas, se evaporan, se ionizan y se aceleran se llama fuente de ionización. La muestra gaseosa se ioniza entre dos placas cargadas, las moléculas se rompen en fragmentos, algunos de los cuales están cargados (iones) y otros no. Se aceleran los iones por aplicación de un potencial eléctrico y se enfocan utilizando campos eléctricos y rendijas. Los iones acelerados pasan desde la fuente de ionización a un analizador de masas. En la mayoría de los analizadores de masas se separan los iones en base a su relación m/z , de forma que llegan al detector en diferentes momentos. Esta pequeña corriente de iones se amplifica mediante el transductor, normalmente un multiplicador de electrones, que amplifica las corrientes de modo similar a un tubo fotomultiplicador (Rubinson y Rubinson, 2001). El espectro de masas muestra las cantidades de masa recogidas a valores crecientes de la relación m/z . Cada pico del espectro da información sobre la masa molecular de un determinado fragmento de la molécula que lo originó (Fig 1.19).

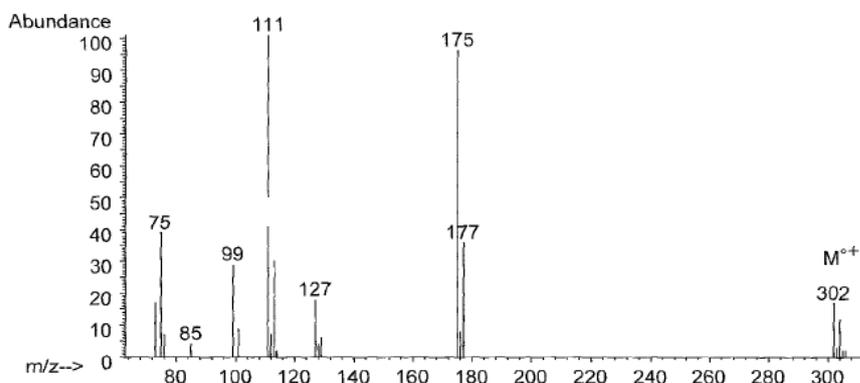


Fig. 1.19. Representación de un espectro de masas. Fuente: Wikipedia, 2013.

Acoplamiento de una técnica de separación con un espectrómetro de masas

Los espectrómetros de masas se pueden acoplar con cromatógrafos de gases (CG/MS). Para mostrar todos los componentes que han sido eluidos durante la separación se representa un cromatograma de iones totales (*total ion chromatogram* o *total ion current trace*, TIC). La intensidad en el TIC es la suma de las respuestas del detector a todos los iones presentes en cada momento. También se pueden representar cromatogramas a determinados valores de m/z . Estos se denominan cromatogramas de iones extraídos (*extracted ion chromatogram*, EIC). Cuando el cromatograma se registra a un valor m/z único (o a unos pocos valores de m/z), en lugar de hacer un barrido en un intervalo de m/z , la técnica se denomina monitoreo de iones seleccionados (*selected ion monitoring*, SIM). Este monitoreo proporciona un bajo límite de detección y permite simplificar la señal en cromatogramas complejos que presenten numerosas interferencias.

A través del análisis de una muestra problema que se presume contaminada con plaguicidas es posible determinar a nivel cualitativo y cuantitativo los niveles de estos residuos mediante la técnica de cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas.

Estudios sobre residuos de plaguicidas

Los plaguicidas son importantes para la agricultura moderna, siempre y cuando se mantengan en el lugar en donde deben ejercer su acción. Estos pueden entrar al ecosistema a través del aire, el agua, el suelo o los alimentos (Arregui *et al.*, 2007). El uso de plaguicidas es considerada una de las alteraciones globales de mayor impacto en las prácticas agrícolas (March, 2011).

En la mayor o menor gravedad del problema de los residuos de plaguicidas influyen numerosos factores, entre los que podemos considerar la toxicidad del plaguicida, es decir, su mayor o menor nocividad para las personas y animales; el grado o probabilidad de exposición del hombre a los residuos, en función de la participación del producto tratado en la dieta alimentaria; la posible acumulación través de la cadena alimentaria; la posibilidad de que los residuos sean o se transformen en otras sustancias todavía más tóxicas que el plaguicida original y su persistencia, que depende de unas cualidades intrínsecas del

plaguicida (estabilidad, polaridad, etc.) y otras condiciones (sustrato vegetal, acciones mecánicas, físicas, etc.) (Coscollá, 1993). Por otro lado debemos considerar también la exposición de los trabajadores durante la aplicación de plaguicidas o manipulación de productos tratados, por esta razón, se deben seguir estrictamente las indicaciones del marbete de cada principio activo en cuanto a las dosis, las formas de aplicación, los períodos de carencia, los elementos de protección personal y la gestión de envases vacíos (Carpaneto *et al.*, 2013).

Los plaguicidas como contaminantes ambientales

Luego de la aplicación de un plaguicida, este puede moverse en el aire, suelo y agua. Los plaguicidas, llegan al aire ya sea por la deriva durante su aplicación, por intercambio desde la superficie de las plantas o desde otros medios y de esta forma pueden ser transportados (Lorenzatti *et al.*, 2006; Lorenzatti *et al.*, 2008). Pueden moverse también en el suelo lixiviando hacia el subsuelo y contaminando las aguas subterráneas, o trasladarse por escurrimiento y llegar a las aguas superficiales. La formulación, persistencia, solubilidad, adsorción y volatilidad de los plaguicidas influyen sobre la potencial contaminación del agua. Respecto a la contaminación del suelo, se debe determinar cuan estrechamente se une el plaguicida a los componentes del suelo y cuan móviles son, además de considerar su persistencia. Las interacciones entre el plaguicida y el suelo dependen de las propiedades de ambos (Arregui *et al.*, 2007). Existen gran cantidad de trabajos que han establecido el movimiento de los plaguicidas en el suelo (Wachope *et al.*, 1991; Gupta y Gajbhiye, 2002; Ntow *et al.*, 2007; Das *et al.*, 2008; Arora *et al.*, 2009; Battu *et al.*, 2009; Gonzalez *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2011; Donnarumma *et al.*, 2011; Mohapatra *et al.*, 2012; Sahoo *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012; Giri *et al.*, 2012) y en agua (Shires y Bennet, 1985; Padovani y Capri, 2005; Jergentz *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 2005; Daraghmeh *et al.*, 2007; Bhattacharjee *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012).

Respecto a la contaminación ambiental por plaguicidas numerosos investigadores han encontrado residuos en muestras ambientales, peces, leche materna y meconio en Argentina (Lorenzatti *et al.*, 2006; Trossero *et al.*, 2009; Marino *et al.*, 2011). Además se han realizado estudios del daño oxidativo al ADN y efecto de la susceptibilidad genética en poblaciones expuestas a plaguicidas (Porcel de Peralta *et al.*, 2011).

Otro de los aspectos a considerar respecto a la contaminación ambiental por plaguicidas es la problemática de la deposición final de los envases que los contienen. El volumen anual de envases despachados al mercado argentino de productos fitosanitarios es importante. En el año 2006 ya ascendía a más 7000 toneladas de materiales plásticos metal, vidrio, papel y cartón. Estos envases contuvieron productos químicos que son potencialmente peligrosos y la acumulación permanente en el campo genera situaciones riesgosas tanto para las personas como para el ambiente. Los envases que contuvieron productos fitosanitarios son legalmente considerados como Residuos Peligrosos, esta circunstancia motiva que deban ser tratados de acuerdo a los requisitos que la norma legal impone. Es necesario tener presente que un envase de agroquímicos luego de agotar su contenido retiene en su interior volúmenes de hasta un 5% del producto, dependiendo este porcentaje de la viscosidad del mismo. En nuestro país existe una iniciativa de CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de Argentina asociada a *CropLife* Latinamerica), el Programa AGROLIMPIO para la recolección y Disposición Final de los Envases Vacíos de Agroquímicos. Este programa tiene por finalidad la recolección y acopio de los envases vacíos descontaminados en lugares adecuados a tal fin y el adecuar (moler o picar) esos materiales y trasladarlos a centros de reciclado. Para esto es importante que los agricultores adopten la práctica del Triple Lavado o el lavado a presión que permiten remover el 99,999% de los residuos presentes en el envase. La técnica del Triple Lavado consiste en enjuagar con agua limpia tres veces el envase vacío. Una vez finalizada la tarea de aplicación en el campo, los envases vacíos deben ser inutilizados, haciéndoles varias perforaciones en el fondo con un elemento punzante y llevados a un depósito que ubicado en un sector aislado del campo, muy bien delimitado e identificado, cubierto, bien ventilado y al resguardo de factores climáticos (Cavallo, 2006).

Los plaguicidas se consideran a menudo una solución rápida, fácil y de bajo costo para el control de malezas y plagas de insectos en los paisajes urbanos, sin embargo, el uso de estos productos químicos tiene un costo significativo, los plaguicidas han contaminado el medio ambiente y sus residuos se encuentran en el suelo, en el aire y en aguas superficiales y subterráneas en muchos países (Aktar *et al.*, 2009).

Residuos de plaguicidas en alimentos

Desde hace más de 30 años, la problemática de residuos de plaguicidas esta presente en la bibliografía. En el hombre, el mayor riesgo de exposición a los plaguicidas es a través de los alimentos, el 80% del riesgo proviene de alimentos crudos y solo el 20% de alimentos procesados. Los alimentos más riesgosos son las frutas, las verduras y la carne. Es necesario considerar que el riesgo aparece cuando la cantidad consumida (dosis) y el tiempo durante el cual se consumió (exposición) son suficientes para causar daño. Por esa razón se recomienda respetar el tiempo de carencia de cada principio activo y cultivo en particular (Arregui *et al.*, 2007).

Hay un gran número de variables humanas, tales como edad, sexo, raza, situación socioeconómica, dieta, estado de salud, etc. que afectan la exposición humana a los plaguicidas, pero en la práctica se sabe poco sobre los efectos en la salud. Los efectos a largo plazo de la exposición de bajos niveles de un plaguicida están muy influenciados por la exposición simultánea a otros plaguicidas, así como a los contaminantes presentes en el aire, agua, alimentos y medicamentos.

En estudios de monitoreo en mercados de diferentes países alrededor del mundo se han reportado niveles de residuos de plaguicidas en los alimentos que en algunos casos superan los LMR establecido por las legislaciones vigentes (Albert y Rendon Vos-Osten, 1988; Toledano *et al.*, 1992; Lenardón *et al.*, 1994; Kankan *et al.*, 1997; Bolles *et al.*, 1999; Lenardón *et al.*, 2000; Zabik *et al.*, 2000; Kumari *et al.*, 2002; Villamil Lepori *et al.*, 2003; Lorenzatti *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2004; Balinova *et al.*, 2005; Amoah *et al.*, 2006; Fleurat-Lessard *et al.*, 2007; Balinova *et al.*, 2007; Piñero Gonzalez *et al.*, 2007; Aldana Madrid *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2008; Hernandez Borges *et al.*, 2009; Brondi *et al.*, 2011; Castilla Pinedo *et al.*, 2012; Farhath y Sobha, 2012; Kapoor *et al.*, 2013; Perez *et al.*, 2013). Estos hallazgos pueden significar que en muchos casos las aplicaciones de plaguicidas no se realizan respetándose las BPA, se utilizan productos no autorizados o en dosis, momentos o número de aplicaciones fuera de las recomendaciones de uso, ya que observando los conceptos de BPA no deberíamos encontrar residuos de plaguicidas y menos aun en alimentos industrializados en los cuales las prácticas de manufactura eliminan gran parte de los residuos (Coscollá, 1993; Arregui *et al.*, 2007; Novo *et al.*, 2011). Respecto a esto existen una gran cantidad de estudios sobre la influencia de las

prácticas normales de procesamiento de los alimentos en los cuales se reporta que a partir de prácticas sencillas y cotidianas como el lavado, la cocción o el descortezado, hasta prácticas industriales como la deodorización en la producción de aceite tienen un efecto importante en la disminución de los residuos de la mayoría de los plaguicidas (Chaudry *et al.*, 1978; Miyahara y Saito, 1993; Holland *et al.*, 1994; Miyahara y Saito, 1994; Pimentel Trevizan y Casadei de Baptista, 2000; Pimentel Trevizan y Casadei de Baptista, 2001; Lalah y Wandiga, 2002; Rhandhawa *et al.*, 2007; Milanez *et al.*, 2007; Uygun *et al.*, 2008; Kaushik *et al.*, 2009; Samriti *et al.*, 2011; Gonzalez Curbelo *et al.*, 2012), pero es necesario asegurar la inocuidad para el consumo directo.

Otros estudios de plaguicidas aplicados en diferentes cultivos, revelan que en algunos casos están contaminados con plaguicidas por encima de los LMR, mientras que en general respetando las condiciones de uso se encuentran residuos no detectables o por debajo de los LMR establecidos una vez transcurrido el período de carencia (Dikshit *et al.*, 1985; Antonious *et al.*, 1998; Martinez Vidal *et al.*, 1998; Cabras y Angioni, 2000; Sadlo, 2000; Arrebola *et al.*, 2001; Correa *et al.*, 2001; Ripley *et al.*, 2001; Borah *et al.*, 2003; Lorenzatti, 2004a; Lorenzatti, 2004b; Blasco *et al.*, 2005; Deivendran *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2007; Daraghmeah *et al.*, 2007; Iqbal *et al.*, 2007; Harcz *et al.*, 2007; Ntow *et al.*, 2007; Pierre y Betancourt, 2007; Das *et al.*, 2008; Arora *et al.*, 2009; Arora, 2009; Battu *et al.*, 2009; Martinez *et al.*, 2009; Ricca *et al.*, 2009; Ricca y Martinez, 2009; Beuzelin *et al.*, 2010; Franchi *et al.*, 2010; Martinez *et al.*, 2010; Ahumada y Zamudio, 2011; Chauhan y Kumari, 2011; Donnarumma *et al.*, 2011; Duhan *et al.*, 2011; Fenik *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2011; Angioni *et al.*, 2011; Martinez *et al.*, 2011; Banerjee *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2012; Fujita *et al.*, 2012; Kulczycki *et al.*, 2012; Strada *et al.*, 2012a; Strada *et al.*, 2012b; Chowdhury *et al.*, 2013; Chauhan *et al.*, 2013; Strada *et al.*, 2013a; Strada *et al.*, 2013b). La disipación de residuos de los plaguicidas aplicados en cultivo depende fundamentalmente de las condiciones ambientales, la especie, la formulación, el principio activo, el número de aplicaciones y las dosis. Abundan los estudios en frutas y vegetales debido a que las aplicaciones se realizan cerca de la cosecha y son alimentos que pueden consumirse crudos, siendo más riesgosos.

Coscollá (1993) afirma que en el caso de cereales y oleaginosas los principales problemas son debidos a tratamientos postcosecha, pues los tratamientos en el campo se dan muy distanciados de la cosecha y estos granos sufren procesos de manipulación

anteriores al consumo. Por esto los estudios de residuos de plaguicidas en productos almacenados abundan también en la bibliografía (Elms *et al.*, 1972; Cogburn y Simonaitis, 1975; Singh y Chawla, 1980; Arthur *et al.*, 1991; Yeboah *et al.*, 1992; Arthur *et al.*, 1992; El-Behissy *et al.*, 2001; Zayed *et al.*, 2003; Sgarbiero *et al.*, 2003; Zayed *et al.*, 2007; Caboni *et al.*, 2007; Skrbic, 2007; Lucini y Molinari, 2011; Ogah y Coker, 2012, Strada *et al.*, 2012a). Existen trabajos que aseguran que luego de largos períodos de almacenamiento los niveles de residuos de plaguicidas en granos almacenados disminuyen notoriamente encontrándose reducciones de hasta el 85% (Holland *et al.* 1994; Kaushik *et al.* 2009) en función de las condiciones de almacenamiento (en especial la temperatura y humedad relativa), el principio activo, la presencia de luz y el tipo de granos almacenados (El-Behissy *et al.*, 2001; Morton *et al.*, 2001; Lalah y Wandiga, 2002). Debemos considerar en este caso el efecto de las aplicaciones repetidas de un mismo plaguicida a ciertos intervalos de tiempo sobre el mismo producto debido a que puede darse un efecto acumulativo de los residuos, ya que al momento de la aplicación existen residuos iniciales que se sumarán al depósito correspondiente (Coscollá, 1993).

El sistema agrícola-industrial argentino no cuenta aún con suficiente información para implementar eficientemente medidas orientadas a prevenir la contaminación de granos con plaguicidas por aplicaciones en el campo y almacenamiento. Por lo tanto la finalidad del presente estudio es analizar los niveles de residuos de insecticidas en granos de soja y maíz, tras su aplicación en ensayos experimentales considerando las prácticas habituales tanto en cultivo como en almacenamiento en la región central de Argentina y comparar los niveles finales de residuos obtenidos con los LMR establecidas a fin de asegurar la inocuidad de los alimentos producidos desde el punto de vista de la contaminación por plaguicidas.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Los factores relacionados al manejo de cultivos y aplicación de plaguicidas; tales como la especie, fecha de siembra, tipos de plaguicidas, sus dosis, momentos y número de aplicaciones; influyen en la dinámica de disipación y el nivel final de residuos de insecticidas en granos de soja y maíz producidos y almacenados en la región central de la República Argentina, pudiendo afectar la inocuidad de los alimentos producidos.

Objetivos

Objetivo general

Analizar el efecto de ciertos factores relacionados al manejo de los cultivos y a la aplicación de plaguicidas, sobre la disipación y el nivel final de residuos de insecticidas aplicados en campo y almacenamiento en soja y maíz en la región central de la República Argentina y su posible efecto sobre la inocuidad de los alimentos producidos.

Objetivos específicos

1. Identificar y cuantificar, en granos de soja, los residuos de insecticidas aplicados en el campo en diferentes momentos, dosis y épocas de siembra para el control de chinches.
2. Identificar y cuantificar, en granos de maíz, los residuos de insecticidas aplicados en el campo en diferentes dosis y épocas de siembra para control de lepidópteros.
3. Caracterizar las curvas de disipación de residuos de insecticidas aplicados durante el almacenamiento de granos de soja y maíz según las prácticas recomendadas registradas para Argentina.
4. Identificar y cuantificar los residuos de insecticidas aplicados de manera repetida durante el almacenamiento de granos de soja y maíz.

MATERIALES Y METODOLOGÍA GENERAL

Obtención de muestras

Las muestras para el análisis de residuos de plaguicidas, se obtuvieron de ensayos experimentales realizados en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ubicado en la localidad de Manfredi (Latitud 31° 49' y Longitud 63° 46'), Provincia de Córdoba, República Argentina.

Considerando que la variabilidad en los ensayos que involucran plaguicidas es muy grande, es necesario conocer su comportamiento en las condiciones concretas de cada región geográfica, poniendo especial cuidado en la metodología a utilizar desde la realización de las aplicaciones hasta la calidad del muestreo (Coscollá, 1993; Franchi *et al.*, 2010). FAO (2009) define el término “ensayo supervisado” como aquel que comprende la aplicación de un plaguicida de uso autorizado tanto en cultivo como después de la cosecha con una cuidadosa gestión del procedimiento de ensayo y un diseño experimental y de muestreo fiables. Las recomendaciones según FAO (1990 y 2009) para la realización de ensayos involucrados en la estimación de los límites máximos de residuos de plaguicidas, establecen que los mismos deben representar las prácticas agrícolas habituales aplicadas en los cultivos y las condiciones climáticas que prevalecen en la región, reflejando los principales tipos de manejo y deben realizarse al menos durante dos temporadas agrícolas. En los tratamientos en postcosecha debe estar disponible la información relativa a las prácticas agrícolas utilizadas y las condiciones en las que se guardan los productos tratados. La aplicación de la sustancia de ensayo puede realizarse con equipos de mano o comercial y las dosis máximas del ingrediente activo, el número de aplicaciones y el intervalo mínimo de re-tratamiento, deben realizarse siguiendo las Buenas Prácticas Agrícolas establecidas para cada principio activo y reglamentación vigente. El momento de aplicación se rige por los requisitos para el control de plagas y la etapa de crecimiento de las plantas, respetando los tiempos de carencia de los productos y con formulaciones disponibles a nivel comercial.

Ensayos experimentales

Ensayos de aplicación de insecticidas en el campo en los cultivos de soja y maíz

Los ensayos de aplicaciones de insecticidas en el cultivo en el campo se llevaron a cabo durante tres temporadas agrícolas (2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012) y se realizaron teniendo en cuenta el manejo habitual del cultivo de acuerdo a la zona, bajo la dirección del Ing. Agr. Federico Piatti responsable del área de Soja, Trigo y Maíz de la EEA INTA Manfredi. En todos los casos se utilizó la técnica de siembra directa.

Se aplicó un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados con estructura factorial de los tratamientos con tres repeticiones. Los factores involucrados fueron: principio activo y grupo químico al que pertenecen los plaguicidas, dosis (normal y alta), momento de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo, número de aplicaciones y épocas de siembra (temprana y tardía). Todos los ensayos contaron con un tratamiento testigo sin aplicación de plaguicidas realizado por triplicado.

Las épocas de siembra quedaron definidas por el período recomendado para la zona considerándose “temprana” desde el 1° de octubre al 30 de noviembre y “tardía” del 1° de diciembre al 15 de enero. Dentro de cada época, la fecha de siembra se definió de acuerdo a las condiciones de temperatura y humedad del suelo. La siembra se realizó con una sembradora de grano grueso disponible en la sección Soja, Trigo y Maíz de la EEA INTA Manfredi. Durante los ensayos se definieron los estados fenológicos de acuerdo a la escala de Fehr y Caviness (1977) para el cultivo de soja y la escala de Ritchie y Hanway (1982) en el caso del cultivo de maíz.

Los productos químicos se aplicaron en los cultivos teniendo en cuenta las indicaciones a fin de obtener un adecuado caudal, cobertura, tamaño de gotas y dosis en cada uno de los ensayos (Matthews, 1987; Bogliani *et al.*, 2005; CASAFE, 2009; Novo *et al.*, 2011). Los principios activos aplicados, dosis, momentos de aplicación y condiciones de cada campaña de ensayo como así también el procedimiento de preparación del caldo de aplicación se explican en los capítulos correspondientes a cada objetivo específico (Capítulo III y Capítulo IV).

Los muestreos en el campo se realizaron considerando las normas de la FAO (1990) citadas por Coscollá (1993), tomándose las muestras en forma sistemática, de manera

manual y en zigzag, recolectando plantas enteras en el caso de soja y solo las mazorcas en el caso de maíz. En todos los casos se descartaron los surcos considerados como “bordura”, en el caso de soja, los dos surcos colindantes entre parcelas y en el caso de maíz un surco a cada lado de la parcela. Los volúmenes de muestreo fueron de aproximadamente 20-30 plantas por parcela en el caso de soja y 10-15 mazorcas en el caso de maíz, de manera de lograr un volumen aproximado de 500 gramos por muestra. El muestreo se realizó en el momento de cosecha del cultivo considerando la madurez del mismo y definido por un contenido de humedad de los granos del 13% al 14% en el caso de soja y del 14% al 15% en el caso de maíz. El contenido de humedad de los granos se verificó con un humidímetro portátil MULTIGRAIN-DICKEY-john®, modelo 462331246. La trilla tanto de soja como de maíz se realizó en forma mecánica con una trilladora estática en galpón.

Ensayos de aplicación de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz

Los ensayos de aplicación de insecticidas en el almacenamiento de granos de soja y maíz se llevaron a cabo durante el año 2010 por un período de 120 días. Se aplicó un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados con estructura factorial de los tratamientos con tres repeticiones. Todos los ensayos contaron con un tratamiento testigo por triplicado sin aplicación de plaguicidas.

Se realizaron dos ensayos, uno de los cuáles tuvo como objetivo caracterizar las curvas de disipación de insecticidas (Capítulo V) y el otro analizar el efecto de las aplicaciones repetidas de los principios activos sobre los niveles de residuos (Capítulo VI), ambos se describen en los Capítulos correspondientes a cada objetivo. Los factores involucrados en estos ensayos fueron: principio activo y grupo químico al que pertenecen los plaguicidas, dosis de principio activo, número de aplicaciones, tiempo desde la aplicación y tipo de granos. Las condiciones de almacenamiento de los granos se mantuvieron estables en un rango de temperaturas entre 20-25 °C y humedad relativa entre el 40% y 60%, tales registros se controlaron semanalmente con un termohigrómetro. La humedad de los granos fue la óptima para el almacenamiento, en el caso de granos de soja del 13% y en el caso de maíz del 14% y se verificó mediante el uso de un humidímetro portátil MULTIGRAIN-DICKEY-john®, modelo 462331246.

La toma de muestras en almacenamiento se realizó en todos los casos con calador siguiendo las directivas establecidas por las Normas IRAM (IRAM 23003-5, 1992) para muestreo de residuos de plaguicidas en cereales, semillas oleaginosas y sus subproductos.

Materiales y Equipamiento:

- Semillas** de soja y maíz para la siembra de ensayos experimentales.
- Sembradora** de grano grueso.
- **Productos comerciales** de los plaguicidas elegidos para los ensayos.
- Jeringas, pipetas plásticas y matraces** para la medición de las dosis de aplicación.
- Mochila manual** marca Guarany modelo Plus-16, Industria Brasileira. Capacidad 16 litros, con lanza de aplicación y palanca de presión de accionamiento manual, acoplada a boquilla de abanico plano 8001.
- Aplicador manual Giber** de previa presión de 1,5 litros de capacidad con embolo de accionamiento manual, boquilla de resina, válvula de cierre boca de llenado con filtro y envase de polipropileno.
- Planchas de prolipopileno de 100 micrones** para la aplicación de los plaguicidas en almacenamiento.
- calador**
- Baldes plásticos** color negro con tapa para la realización de ensayos en almacenamiento.
- Bolsas trilaminadas** para la toma y conservación de las muestras.

Determinación de residuos de plaguicidas

El procesamiento de las muestras y la extracción de plaguicidas fueron realizadas en el Laboratorio de Calidad de Granos de INTA Manfredi a cargo de la Dra. María José Martínez. Las determinaciones analíticas a través de Cromatografía Gaseosa de alta resolución con Detector de Masa (GC-MS) fueron realizadas en el Laboratorio de Contaminantes Químicos del Instituto de Tecnología de Alimentos de INTA Castelar a cargo de la Dra. Alejandra Ricca.

Materiales y Equipamiento:

-**Licadoras** Marca OSTER con vaso de vidrio y cuchillas de acero inoxidable desmontables.

-**Freezer** a temperaturas de -20°C y -30°C.

-**Balanzas** Marca OHAUS modelo Pioneer (d=0,0001 g), Balanza DENVER modelo APX 200 (d=0,0001 g), Balanza METTLER TOLEDO modelo PB 303 (d=0,001 g).

-**Centrífugadora** de alto rendimiento refrigerada Marca BECKMAN COULTER modelo AVANTI JE. Rotor JA 14 con rango de velocidad de 50 a 30100 g y rango de temperatura de 10°C a 40°C.

-**Baño termostático** marca VICKING modelo Mason D.

-**Sample concentrator** marca TECHNE acoplado a corriente de Nitrógeno.

-**Lavador ultrasónico** marca TESTLAB con temporizador.

-**Pipetas** automáticas marca Gilson rangos 20-200 µl, 100-1000 µl, 1000-5000 µl y 1-10 ml.

-**Tubos falcon** de polipropileno graduados de 50 ml.

-**Gradillas** para tubos falcon de 50 ml.

-**Matraces** graduados transparentes de 50 ml y 10 ml.

-**Viales** transparentes de 2 ml con insertos de 400 µl.

-**Tips** de 200 µl, 1 ml y 5 ml.

-**Vortex** marca DECALAB.

-**Dispensetes** de solventes de 10 ml.

-**Cromatógrafo:** Cromatógrafo Gaseoso Perkin Elmer, modelo Clarus 600 con puerto de inyección con vaporizador de temperatura programable (PTV) y control programable del sistema neumático, usados para inyección de grandes volúmenes (LVI, large volumen injection). Este sistema cuenta con muestreador automático. Guarda columna de sílice fundida de 5 m x 0,25 mm marca Supelco. Conector de columnas marca Supelco. Columna capilar marca Varian, modelo Factor Four VF-5ms (cat. CP8944); de 30 m x 0,25

mm (id, 0.25 μm) de fase estacionaria (95%) Dimetil-(5%) difenil polisiloxano de bajo sangrado. Helio a 99,999% de pureza.

-Espectrómetro de masas con fuente de ionización por impacto electrónico (EI), el cual se mantiene a una temperatura elevada para prevenir contaminaciones producto de condensaciones, analizador cuadrupolar, con un prefiltro también cuadrupolar y un detector el cuál consta de un dínodo de conversión, una placa de fósforo y un tubo fotomultiplicador.

-Muestras problema a ser analizadas: matriz calificada según directiva del *Codex alimentarius* (1993, CAC/GL 41/1993) de acuerdo al producto para el cuál se define el LMR. Tanto para el grupo de legumbres (GRUPO 6) en el cual se encuentra la soja, como para los cereales (GRUPO 15) la matriz de trabajo son los granos enteros.

-Muestras blancos (muestras orgánicas de harina de soja y maíz): Verificado con anterioridad que no contenían analitos detectables (Documento SANCO N°10684/2009; Garrido Frenich *et al.*, 2006)

Drogas y solventes para preparación de muestras

-Acetonitrilo (methyl cyanide MeCN): grado HPLC- pureza: 99.98%. Marca J.T.BAKER. CAS N°: 75-05-8

-Tolueno: grado HPLC- pureza: 99.5%. Marca SINTOGRAN. CAS N° 108-88-3

-Estándares de referencia de plaguicidas (Tabla 2.1.)

-Cloruro de sodio: grado analítico- Pureza: 99.7%. Marca TAURUS. CAS N° 7647-14-5

-Sulfato de Magnesio anhidro (magnesium sulfate anhydrous): grado analítico. Pureza >99.5%. Marca SIGMA ALDRICH. CAS N° 7487-88-9

-Sulfato de Magnesio anhidro: pro-análisis. Pureza 98.5%. Marca CICARELLI. CAS N° 7487-88-9.

-Agua deionizada

-PSA bonded sílica Bulk (Amina primaria-secundaria): Marca SUPELCO. Tamaño de partícula 40 μm .

-Discovery DSC 18 (Octadecano unido químicamente a sílica porosa C18): Marca SUPELCO. Tamaño de partícula 40 µm.

Insumos para el lavado de materiales

-Hexano normal para análisis de residuos de plaguicidas: Marca U.V.E. Pureza 96%. CAS N° 110-54.

-Acetona: CAS N° 67-64-1

-Alcohol etílico: Pureza 96%

-Hidróxido de Sodio (perlitas): grado analítico. Pureza 99.2%. Marca TAURUS. CAS N° 1310-73-2.

-Detergentes neutro y alcalino.

Recepción, acondicionamiento y conservación de muestras

Todas las muestras de granos (500 gramos) receptadas en el laboratorio, fueron acompañadas de la información completa sobre el origen de la misma, el análisis requerido y los posibles peligros que podía entrañar su manipulación (*Codex alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993).

Al recibirse la muestra, se le adjudicó inmediatamente un código de identificación único que llevó durante todas las fases del análisis y hasta la comunicación de los resultados. Para todos los procedimientos empleados en la manipulación se probó previamente que no influían en la concentración de los residuos presentes en las muestras (Documento SANCO N°10684/2009, *Codex alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993).

El total de muestras analizadas en el presente trabajo de tesis fueron: 270 muestras provenientes de los ensayos de validación de las técnicas analíticas que incluyeron ensayos de calibración en matriz y solvente y ensayos de recuperación; 537 muestras provenientes de ensayos experimentales de aplicación de plaguicidas en el campo y almacenamiento de granos de soja y maíz y 110 muestras pertenecientes a controles de calidad y blanco de recativos en los procesos de extracción. Considerando que en algunos casos los

tratamientos aplicados en el campo incluyen más de un principio activo, el total de determinaciones analíticas fue de aproximadamente 1332, obteniendo de esta forma los datos necesarios de niveles de residuos de cada uno de los principios activos en el estudio para ambas matrices (granos de soja y maíz).

Debido a la variedad de ensayos y el gran número de muestras obtenidas, al no ser posible analizarlas inmediatamente, estas se almacenaron en freezer en bolsas trilaminadas correctamente etiquetadas a temperaturas de almacenamiento de -20°C a -30°C , dado que a dicha temperatura la degradación de los residuos de plaguicidas por la acción de enzimas es lenta (*Codex alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993). Respecto a la estabilidad de los residuos en las muestras, la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre residuos de plaguicidas (JMPR) recibe datos correspondientes a estudios de la estabilidad de diferentes principios activos durante el almacenamiento de muestras fortificadas. Los residuos de pirimifós-metil en muestras de cebada, zanahoria, lechuga, aceite de oliva y tomate almacenados a temperaturas menores a -16°C durante 24 meses no muestran pérdidas significativas de residuos del principio activo durante el almacenamiento (JMPR, 2003). También las ciflutrinas son estables en muestras congeladas almacenadas durante al menos 1000 días para manzana, melón, maíz, aceite y almidón de maíz, pepino, jugo de naranja, cáscaras de maní, papas, tallos de caña de azúcar, melaza, trigo, harina y salvado de trigo y tomates (JMPR, 2007). Para los granos de soja y trigo la estabilidad en almacenamiento para el principio activo cipermetrina se reporta en 52 semanas (JMPR, 2008). En el caso de clorpirifós-metil se han reportado hasta 18 meses de estabilidad en almacenamiento (JMPR 2009), mientras que clorpirifós-etil en matrices de cultivos congelados es estable por más de un año (FAO, 2006). Para imidacloprid los residuos se mantienen estables durante un período de almacenamiento de 683 días mientras que el endosulfán es estable durante 18 meses en matrices tales como uva, papa, tomate, melón y lechuga y durante al menos 12 meses en pasas de uva (JMPR, 2006). Estudios de la estabilidad en maní almacenado a temperaturas de -20°C reportan que en 136 días no hubo pérdidas significativas de los niveles de residuos de diclorvós (JMPR, 2012).

En el presente trabajo de tesis se procuró en todos los casos que el período de tiempo transcurrido entre el ingreso de la muestra y su procesamiento fuera como máximo de 6 meses.

Procesamiento de muestras

Codex alimentarius en su manual de BPA define al procesamiento como los procedimientos empleados para dar a la muestra analítica una homogeneidad aceptable con respecto a la distribución del analito antes de extraer la porción a analizar (*Codex alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993). La molienda de las muestras de granos de soja y maíz para la determinación de residuos de plaguicidas se realizó con licuadoras marca Oster de alta potencia con vaso de vidrio y cuchillas de acero inoxidable sin el agregado de agua. Se pesaron 5 gr del molido y se colocaron en un tubo falcon de 50 ml para su posterior procesamiento y extracción de plaguicidas mediante la técnica de QuEChERS. La molienda de las muestras se presentó como una limitante en la rapidez del procesamiento ya que luego de moler cada muestra se debió seguir un estricto protocolo a fin de evitar contaminación cruzada entre las muestras con trazas de plaguicidas. El máximo de muestras molidas por día fue de 6 muestras ya que se disponía de 6 vasos de licuadora.

Protocolo de lavado de material

Todo el material utilizado en la molienda y preparación de soluciones estándar recibió un tratamiento de lavado mediante un estricto protocolo para evitar contaminación cruzada, en especial en los casos en que el material se reutilizó (Documento SANCO N°10684/2009).

Antes de lavar los materiales se descartaron todos los sólidos en recipientes etiquetados como sólidos de descarte y los líquidos dentro de bidones de polietileno correctamente etiquetados como líquidos de descarte. Se enjuagó el material con agua caliente corriente a fin de retirar restos de material vegetal. El material de vidrio se enjuagó con Hexano (10 veces) y con Acetona (10 veces) y luego con abundante agua corriente para retirar el solvente, descartando los dos primeros enjuagues en un bidón. Las piezas plásticas se enjuagaron con etanol (10 veces) y luego con agua. Los materiales utilizados para realizar fortificados o procesar muestras con alto contenido de plaguicidas, como así también cuando se procesaron muestras provenientes de tratamientos con diferentes principios activos en los ensayos, luego del enjuague con solventes se colocó todo el material en una solución de Hidróxido de Sodio (Soda Cáustica) al 4% durante 45 minutos,

descartando la soda cáustica en un bidón debidamente etiquetado. Luego de este lavado preliminar, se sumergió el material en recipientes con una solución al 1% de una mezcla de detergentes extra alcalino y neutro en proporción del 50% de cada uno, preparada con agua caliente. Se dejó el material no menos de 24 horas en esta solución, rotulando los recipientes con las iniciales del usuario, fecha en que se colocó en detergente y el tipo de muestras. Este paso en el lavado es el que insume más tiempo. Se retiró el material y lavó con cepillo de tamaño adecuado. Se enjuagó con bastante agua corriente para retirar los restos de detergente, se enjuagó 10 (diez) veces con agua deionizada y se dejó secar.

Preparación de soluciones patrón

Se utilizaron patrones o estándares de plaguicidas de alta pureza para la preparación de soluciones para realizar los controles de calidad requeridos y llevar a cabo los ensayos de calibración y recuperación para cada matriz. Los patrones utilizados en la preparación de soluciones de estándares se presentan en la Tabla 2.1.

Todos los patrones analíticos, las soluciones y los reactivos se etiquetaron indicando la fecha de preparación, la identificación del analista, el disolvente utilizado y las condiciones de almacenamiento aplicadas. Los estándares se mantuvieron en condiciones de bajas temperaturas (-30°C), exclusión de humedad y al abrigo de la luz para reducir al mínimo su tasa de degradación (*Codex alimentarius*, 1993 CAC/GL 40-1993; Documento SANCO N°10684/2009). El estándar interno (ISTD) elegido en este caso fue Etoprofos, asegurando que no estuvo presente en ninguna de las muestras (Garrido Frenich *et al.*, 2006; Lehotay, 2006). Este principio activo es un insecticida organofosforado soluble en agua de mediana a alta tensión de vapor. Es un producto de acción por contacto bastante seguro vía oral, pero muy peligroso por vía dermal. Como patrón de ionización se empleó el trifenilfosfato (TPP).

Tabla 2.1. Patrones de plaguicidas utilizados.

Patrón	CAS	Pureza (%)	Estado físico	Marca
Dichlorvos	62-73-7	99.9%	líquido	Sigma Aldrich
Pirimyphos-methyl	29232-93-7	99.5%	líquido	Sigma Aldrich
Chlorpyriphos-methyl	5598-13-0	99.9%	sólido	Sigma Aldrich
Deltamethrin	52948-63-5	99.7%	líquido	Sigma Aldrich
α endosulfan	959-98-8	99.6%	sólido	Sigma Aldrich
β endosulfan	33213-65-9	99.8%	sólido	Sigma Aldrich
Endosulfán Sulfate	1031-07-8	98.8%	sólido	Sigma Aldrich
Imidacloprid	138261-41-3	99.9%	sólido	Sigma Aldrich
β-cyfluthrin	68359-37-5	99.8%	sólido	Sigma Aldrich
Novaluron	116714-46-6	99.4%	sólido	Sigma Aldrich
Cypermethrin (mixture of isomers)	52315-07-8	94.3%	líquido	Sigma Aldrich
Chlorpyriphos-ethyl	2921-88-2	99.9%	sólido	Sigma Aldrich
Ethoprophos	13194-48-4	93.1%	líquido	Sigma Aldrich
Trifenilfosfato	115-86-6	99%	sólido	Sigma Aldrich

Las soluciones patrón se prepararon en matraces de 50 ml previamente lavados con el protocolo de lavado anteriormente descrito. Todas las disoluciones se realizaron con tolueno grado HPLC, debido a que este solvente permite el almacenamiento por mayor tiempo (superior a 10 años) del stock de estándares debido a su baja evaporación, miscibilidad con el acetonitrilo y la alta solubilidad y estabilidad de los plaguicidas en este solvente (Garrido Frenich et al., 2006; Documento SANCO N°10684/2009).

Todas las soluciones fueron conservadas en freezer a -30°C , al momento de su utilización se retiraron del freezer con 24 horas de anticipación, colocándose en heladera al abrigo de la luz, luego se llevaron a temperatura ambiente en campana desecadora al resguardo de la luz el día de su utilización. Se evitó en todos los casos un aumento excesivo de la temperatura.

Preparación de las soluciones madre de plaguicidas (patrón de reserva)

El estándar de alta pureza de cada principio activo se llevó a temperatura ambiente durante al menos 2 hs mediante el uso de un desecador. Para patrones sólidos con contenido mayor a 50 mg, se taró un matraz de 50 ml con su tapa en balanza analítica, se pesaron 50 mg del patrón y se llevo a volumen con tolueno. Luego de esto se vortereo

durante 1 minuto y colocó en sonicador durante 10 minutos. Se colocó la etiqueta correspondiente y registró en el Cuaderno de Registro de Preparación de Soluciones Estándar. Se llevó a freezer y conservó asegurando una posición vertical. Las soluciones nunca se almacenaron junto a las muestras de ensayo. En el caso de patrones líquidos o de contenido menor a 50 mg se tomó la totalidad del estándar, registrándose el peso del mismo para el posterior cálculo de concentración. Las soluciones madres de plaguicidas se prepararon en una concentración de 1 mg/ml, mientras que la de etoprofós (ISTD) y TPP de 2 mg/ml.

Preparación de las soluciones de trabajo de estándar de plaguicidas

Las soluciones de trabajo se prepararon en forma de mezcla o “mix” de plaguicidas, cada una de estas soluciones incluyó los principios activos aplicados en cada ensayo experimental. Para el ensayo de aplicación de plaguicidas en soja se preparó un mix conteniendo los estándares de endosulfán α , β y sulfato de endosulfán, cipermetrina, clorpirifós-etil, imidacloprid y β -ciflutrina y se denominó a esta solución “mix campo soja”. Para el ensayo de aplicación de insecticidas en el cultivo de maíz se preparó una solución a partir de las soluciones madre de cipermetrina, clorpirifós-etil y novalurón denominado “mix campo maíz”. Por último, para el ensayo de aplicaciones en almacenamiento se preparó el “mix almacenamiento” a partir de las soluciones madre de diclorvos, pirimifós-metil, clorpirifós-metil y deltametrina. Todos los principios activos tuvieron una concentración final de 40 $\mu\text{g/ml}$.

Para la preparación de las soluciones de trabajo, se tomó cada solución madre de plaguicidas y se sonicó durante 10 minutos para homogeneizar el contenido. En un matraz de 50 ml previamente tarado con su tapón, se descargó el volumen calculado de cada solución patrón para lograr en la solución de trabajo la concentración deseada de 40 $\mu\text{g/ml}$, registrando el peso. Se enrazó el matraz con tolueno, tapó y pesó. Se sonicó la solución de trabajo durante 10 minutos a fin de homogeneizar su contenido. Se colocó la etiqueta correspondiente y registró en el Cuaderno de Registro de Preparación de Soluciones Estándar. Se llevó a freezer y conservó asegurando su posición en forma vertical.

La solución de trabajo de Etoprofos se preparó de manera similar con una concentración final de 20 $\mu\text{g/ml}$ y en el caso de TPP la concentración fue de 2 $\mu\text{g/ml}$.

Preparación de las soluciones mezcla de patrones para calibración

Para la realización de los ensayos de validación de las técnicas de QuEChERS para soja y maíz, se requirió de la preparación de soluciones calibrantes o soluciones mezcla de patrones para calibración, las cuales fueron adicionadas como alícuotas a los extractos de la matriz y al solvente. Previo a la preparación de las soluciones se realizó el cálculo de masa equivalente de la muestra para estimar los volúmenes que se deben adicionar a fin de lograr el nivel de contaminación deseado. Los niveles de calibración para los ensayos se eligieron considerando los LMR de los principios activos en estudio respecto a las matrices de soja y maíz. La preparación de las soluciones de calibración se llevó a cabo en viales de 2 ml en los cuales se colocó la cantidad necesaria de solución de trabajo de etoprofós con una concentración de 20 µg/ml, el volumen necesario del “mix” de solución de trabajo de plaguicidas y se llevó a volumen final de 1 ml con tolueno, para lograr una solución de concentración tal que adicionando 25 µl en el extracto final de la técnica de extracción de QuEChERS, se obtenga el nivel de contaminación deseado para cada plaguicida.

Método analítico: Técnica de QuEChERS

Las muestras se retiraron del freezer y colocaron en heladera 24 horas y el día del procesamiento fueron llevadas a temperatura ambiente bajo campana. Para el acondicionamiento, extracción y limpieza se utilizó la técnica de QuEChERS con modificaciones de acuerdo a cada matriz. El ajuste y puesta a punto de la metodología fue realizada por el equipo de trabajo del Laboratorio de Contaminantes Químicos del Instituto de Tecnología de Alimentos del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CNIA) de INTA en la Localidad de Castelar, Provincia de Buenos Aires a cargo de la Dra. Alejandra Ricca y publicada en dos reuniones científicas (Ricca *et al.*, 2009; Ricca *et al.*, 2011). La técnica ha sido desarrollada para matrices con contenidos de humedad superiores al 75% por lo cual se recomienda en la bibliografía, la adición de agua hasta alcanzar un contenido de humedad del homogeneizado de al menos el 80% (Lehotay, 2006; Mastovska *et al.*, 2010). Una vez hidratada la muestra se realiza la “fase de extracción” mediante la adición de acetonitrilo seguido por el agregado de MgSO₄ y NaCl (“tubo de extracción”). Se realiza un

centrifugado y luego una “fase de limpieza” o *clean up* de la muestra mediante la incorporación de MgSO₄, PSA y C18 (“tubo de limpieza”), seguida por una etapa de centrifugado y extracción del sobrenadante. Debido a que los niveles de contaminación de las muestras pueden ser muy bajos, se recomienda como modificación de la técnica original realizar la concentración de las muestras. Este procedimiento se realizó en baño maría bajo corriente de nitrógeno para evitar la oxidación, introducción de agua u otros contaminantes. Luego se reconstituyó la muestra con tolueno debido a su mayor estabilidad en el almacenamiento (Documento SANCO N°10684/2009). En la Fig 2.1 puede observarse un esquema de la técnica.

Técnica de extracción de QuEChERS para granos de soja

1. Se colocaron 5 gr de granos de soja molidos en un tubo falcon de 50 ml. Se agregaron 150 µl de solución de trabajo de etopofós (ISTD) con una concentración de 20 µg/ml y 10 ml de agua deionizada fría (5-10°C).
2. Se agitó 10 segundos y sonicó 5 minutos.
3. Se añadieron 10 ml de acetonitrilo frío (5-10°C) y agitó 10 segundos.
4. A este tubo se añadió el contenido de un “tubo de extracción” conteniendo 4 g de MgSO₄ y 1 g de NaCl (previamente pesados) y agitó 40 segundos.
5. Se sonicó durante 5 minutos.
6. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5°C.
7. Se tomaron 2 ml de sobrenadante y colocaron en un “tubo de limpieza” con 0,3 g de MgSO₄, 0,1 g de PSA y 0,1 g de C18.
8. Se agitó por 40 segundos.
9. Se sonicó cada tubo por 2 minutos.
10. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
11. Se tomó 1 ml de sobrenadante y colocó en un tubo de vidrio tipo kham.
12. Se evaporó la muestra a sequedad a 35° C en baño maría bajo corriente de nitrógeno
13. Se reconstituyó la muestra con 500 µl de tolueno y agitó en vortex.

14. Se tomaron 300 μl y colocaron en un vial de 2 ml con inserto de 400 μl . Se agregaron 50 μl de solución de TPP (2 μg /ml) y 25 μl de tolueno.

Técnica de extracción de QuEChERS para granos de maíz

1. Se colocaron 5 gr de granos de maíz molidos en un tubo falcon de 50 ml. Se agregaron 150 μl de solución de etoprofós (ISTD) con una concentración de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y 10 ml de agua deionizada fría (5-10°C).
2. Se agitó por 60 segundos y sonicó 5 minutos.
3. Se añadieron 15 ml de acetonitrilo frío (5-10°C) y agitó durante 10 segundos.
4. A este tubo se añadió el contenido de un “tubo de extracción” conteniendo 6 g de MgSO_4 y 1,5 g de NaCl (previamente pesados) y agitó por 40 segundos.
5. Se sonicó durante 5 minutos.
6. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugó a 5000 g durante 5 minutos a 5°C.
7. Se tomaron 5 ml de sobrenadante y colocaron en un “tubo de limpieza” con 0,75 g de MgSO_4 , 0,2 g de PSA y 0,2 g de C18.
8. Se agitó por 30 segundos.
9. Se sonicó por 5 minutos.
10. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
11. Se tomaron 2 ml de sobrenadante y colocaron en un tubo de vidrio tipo kham.
12. Se evaporó la muestra a sequedad a 35° C en baño maría bajo corriente de nitrógeno
13. Se reconstituyó la muestra con 500 μl de tolueno y agitó en vortex.
14. Se tomaron 300 μl y colocaron en un vial de 2 ml con inserto de 400 μl . Se agregaron 50 μl de solución de TPP (2 μg /ml) y 25 μl de tolueno.

Los viales fueron conservados en freezer a temperatura de -30 °C al abrigo de la luz y la humedad. Para su transporte al Laboratorio de Contaminantes Químicos de INTA Castelar se colocaron en recipientes plásticos con tapa manteniendo en todos los casos la posición vertical. Estos recipientes se colocaron en cajas de tergopol selladas con bolsas de gel congeladas a fin de evitar variaciones en la temperatura de las muestras.

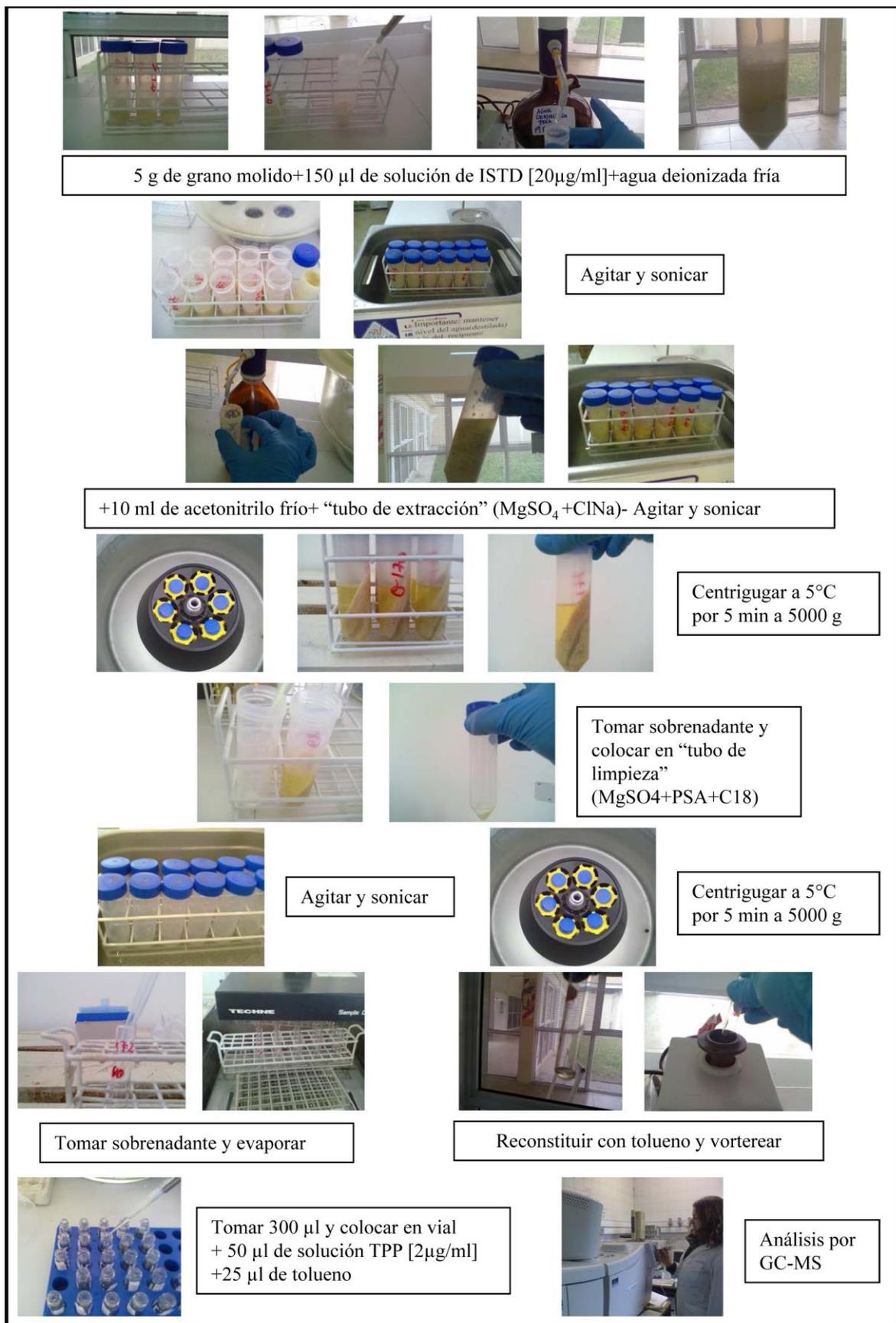


Fig 2.1. Esquema del método QuEChERS para la extracción de plaguicidas.

Validación de la técnica QuEChERS en matrices de grano de soja y maíz

Para la validación de las técnicas de QuEChERS para las matrices de granos de soja y maíz y los principios activos utilizados en los ensayos, se realizaron curvas de calibración en matriz y solvente y ensayos de recuperación a fin de establecer las características de performance y limitaciones del método y verificar si es apto para el propósito del presente estudio.

En los ensayos de validación del método para los plaguicidas aplicados en el campo en soja, se utilizó el “mix campo soja” conteniendo los principios activos endosulfán α y β y sulfato de endosulfán, clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid y β -ciflutrina en una concentración de 40 $\mu\text{g/ml}$. En el caso de los plaguicidas aplicados en el campo en el cultivo de maíz se utilizó el “mix campo maíz” conteniendo los principios activos clorpirifós-etil, novalurón y cipermetrina en una concentración de 40 $\mu\text{g/ml}$. Para el caso de insecticidas aplicados en almacenamiento en granos de soja y maíz se utilizó la mezcla de patrones “mix almacenamiento” conteniendo los siguientes principios activos: diclorvos, pirimifós-metil, clorpirifós-metil y deltametrina en una concentración de 40 $\mu\text{g/ml}$.

Ensayos de calibración en solvente

Para evaluar la relación entre la concentración nominal y la respuesta de cada analito, se estudiaron los patrones comerciales disueltos en tolueno. Para esto se prepararon viales de 2 ml con insertos de 400 μl y se colocaron 300 μl de tolueno, a lo cual se adicionaron 25 μl de soluciones calibrantes de distinta concentración a fin de lograr el nivel de contaminación requerido y 50 μl de solución de trabajo de TPP (2 $\mu\text{g/ml}$). Todos los niveles se realizaron por triplicado y se contó con una muestra sin contaminación como blanco. A partir del análisis de los resultados se elaboró la curva de calibración en solvente.

Ensayos de calibración en matriz

Para obtener el extracto orgánico de cada matriz, se realizó el proceso de extracción aplicando la técnica de QuEChERS sobre muestras de 5 g de harina orgánica (muestras

blanco de maíz y soja sin plaguicidas), verificando previamente que no contuvieran plaguicidas. El extracto final obtenido (300 µl) se colocó en un vial de 2 ml con inserto. Se adicionaron 25 µl de las soluciones calibrantes de distinta concentración a fin de lograr el nivel de contaminación requerido y 50 µl de solución de trabajo de TPP (2 µg/ml). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se contó con una muestra sin contaminación como blanco. A partir del análisis de los resultados se elaboró la curva de calibración en matriz.

A través de la comparación del comportamiento de los analitos en las curvas de calibración en matriz y en solvente se estudió el efecto matriz. Si se evidenció efecto matriz, las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de los niveles de residuos en las muestras tanto de ensayos de recuperación como aquellas provenientes de los ensayos experimentales.

Ensayos de recuperación

El ensayo de recuperación fue utilizado para evaluar la exactitud, precisión, sensibilidad e incertidumbre expandida del método para cada analito y matriz en estudio. Para el ensayo de recuperación se contaminaron artificialmente muestras orgánicas de harina de soja y maíz, con distintos niveles de concentración de solución de estándares “mix campo soja”, “mix campo maíz” y “mix almacenamiento”. Las muestras fueron procesadas por el método de QuEChERS con las respectivas modificaciones respecto a la matriz. Todos los niveles se realizaron por triplicado y se contó con un testigo sin contaminación.

Parámetros de aceptación de las validaciones

Los ensayos de validación de la técnica otorgaron resultados que fueron analizados objetivamente. Los parámetros elegidos y niveles de aceptación fueron los siguientes:

-Exactitud: Se midió en función de la recuperación porcentual (R%) obtenida de los ensayos de recuperación. El nivel de aceptación elegido para este parámetro fue una Recuperación porcentual entre el 70% y el 120% (Documento SANCO N°10684/2009;

Herrmann y Poulsen, 2009). Para este rango de recuperaciones los valores de residuos obtenidos a partir de las muestras problema no deben ser ajustados.

-Precisión: Se midió a través de la reproducibilidad como Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) en comparación con el CV% calculado mediante la fórmula de Horwitz. El criterio de aceptación elegido en este caso para la técnica de QuEChERS fue que los valores de RSD% fueran menores o iguales al CV calculado mediante la ecuación de Horwitz para la concentración analizada (Herrmann y Poulsen, 2009).

-Sensibilidad: se estableció la sensibilidad del método mediante la determinación de los Límites de Detección (LD) y Límites de Cuantificación (LC), siendo adecuados si fueron menores al LMR. El LD se estableció en función de tres veces el desvío estándar del menor nivel de concentración validado para los parámetros de exactitud y precisión y el LC en función de seis veces este valor de desvío estándar (Herrman y Poulsen, 2009).

-Selectividad y especificidad: Se utilizó el método de adquisición SIM. Para cada analito se determinó el tiempo de Retención relativo (TRR) al etoprofós y al TPP y la relación de abundancias relativas entre el ión cuantificador y al menos dos calificadores. Los criterios de aceptación fueron tomados de la guía SANCO (Documento SANCO N°10684/2009), TRR con una tolerancia $\pm 0.5\%$ y criterio de abundancias relativas de iones.

-Robustez (solidez): Para asegurar el buen procesamiento de las muestras y el desempeño analítico se trabajó con doble estándar interno (Etoprofós y TPP). El criterio de aceptación fue que la relación entre los picos de ambos se mantuviera en ± 2 Desvíos Estándar para todas las muestras analizadas (Lehotay, 2006). A su vez la robustez del método se verificó a través de cartas de control, por cada tanda de 10 muestras problema en análisis se incluyeron un control de calidad y un blanco de reactivos. Los criterios de aceptación fueron para el control de calidad una recuperación porcentual entre el 70 y 120% y RSD% menor al 20% y para el blanco de reactivos la ausencia de interferentes y contaminantes (Hill y Reynolds, 1999; Documento SANCO N°10684/2009).

-Linealidad: El rango lineal de trabajo se estableció para cada curva de calibración en matriz y el parámetro de aceptación de las mismas fueron valores del coeficiente de determinación lineal (R^2) superiores a 0,98 (Documento SANCO N°10684/2009).

-Incertidumbre: Como indicador cuantitativo de la confianza en los datos analíticos se calculo la Incertidumbre expandida del método (U%) para cada nivel de fortificación, siendo el parámetro de aceptación un nivel de incertidumbre menor o igual al 50% (Documento SANCO N°10684/2009).

Aseguramiento de la calidad

Controles de calidad

Para la realización de los controles de calidad se utilizaron muestras de harina orgánica de soja y maíz, fortificadas con 100 µl de “mix campo soja”, “mix campo maíz” y “mix almacenamiento” con una concentración de 40 µg/ml de acuerdo al origen de ensayo, por cada 10 muestras problema analizadas.

1. En un tubo falcon de 50 ml se colocaron 5 gr de harina orgánica de soja o maíz según la matriz en la tanda de análisis, se agregaron 150 µl de solución de etoprofós (ISTD) con una concentración de 20 µg/ml, 100 µl de solución mix (40 µg/ml) de estándares de plaguicidas dependiendo del ensayo de origen de las muestras analizadas y 10 ml de agua deionizada fría (5-10°C).
2. Se agitó 10 segundos y sonicó 5 minutos.
3. Se añadieron 10 ml de acetonitrilo frío (5-10°C) en el caso de soja y 15 ml en el caso de maíz y agitó durante 10 segundos.
4. A este tubo se añadió el contenido de un “tubo de extracción” conteniendo 4 g de $MgSO_4$ + 1 g de NaCl en el caso de soja y 6 g de $MgSO_4$ + 1,5 g de NaCl en el caso de maíz y agitó por 40 segundos.
5. Se sonicó durante 5 minutos.
6. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5°C.

7. Se tomaron 2 ml de sobrenadante en el caso de soja y se colocaron en un “tubo de limpieza” con 0,3 g de $MgSO_4$, 0,1 g de PSA y 0,1 g de C18. En el caso de maíz se tomaron 5 ml de sobrenadante y colocaron en un tubo conteniendo 0,75 g de $MgSO_4$, 0,2 g de PSA y 0,2 g de C18.
8. Se agitó 40 segundos.
9. Se sonicó cada tubo por 2 minutos.
10. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
11. Se tomó 1 ml de sobrenadante en soja y 2 ml en maíz y colocaron en un tubo de vidrio tipo kham.
12. Se evaporó la muestra a sequedad a 35° C en baño maría bajo corriente de nitrógeno
13. Se reconstituyó la muestra con 500 µl de tolueno y agitó en vortex
14. Se tomaron 300 µl y colocaron en un vial de 2 ml con inserto de 400 µl. Se agregaron 50 µl de solución de TPP (2 µg/ml) y 25 µl de tolueno.

Blanco de reactivos

En las muestras de Blanco de reactivos se realizó el procedimiento de QuEChERS descrito para cualquier muestra de análisis, pero sin muestra. El objetivo fue identificar posibles fuentes de contaminación cruzada en cada tanda de análisis. En el caso en que estas muestras dieron positivo para alguno de los analitos en estudio, la tanda correspondiente se eliminó y volvió a procesar.

1. En un tubo falcon de 50 ml se agregaron 150 µl de solución de etoprofós (ISTD) con una concentración de 20 ug/ml y 10 ml de agua deionizada fría (5-10°C).
2. Se agitó 10 segundos y sonicó 5 minutos.
3. Se añadieron 10 ml de acetonitrilo frío (5-10°C) en el caso de soja y 15 ml en el caso de maíz, y agitó 10 segundos.
4. A este tubo se añadió el contenido de un “tubo de extracción” conteniendo 4 g de $MgSO_4$ + 1 g de NaCl en el caso de soja y 6 g de $MgSO_4$ + 1,5 g de NaCl en el caso de maíz y agitó 40 segundos.
5. Se sonicó por 5 minutos.

6. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5°C.
7. Se tomaron 2 ml de sobrenadante en el caso de soja y se colocaron en un “tubo de limpieza” con 0,3 g de MgSO₄, 0,1 g de PSA y 0,1 g de C18. En el caso de maíz se tomaron 5 ml de sobrenadante y colocaron en un tubo conteniendo 0,75 g de MgSO₄, 0,2 g de PSA y 0,2 g de C18.
8. Se agitó 40 segundos.
9. Se sonicó durante 2 minutos.
10. Se pesaron los tubos para equilibrar pesos y centrifugaron a 5000 g durante 5 minutos a 5 °C.
11. Se tomó 1 ml de sobrenadante en soja y 2 ml en maíz y colocaron en un tubo de vidrio tipo kham
12. Se evaporó la muestra a sequedad a 35° C en baño maría bajo corriente de nitrógeno
13. Se reconstituyó la muestra con 500 µl de tolueno y agitó en vortex.
14. Se tomaron 300 µl y colocaron en un vial de 2 ml con inserto de 400 µl. Se agregaron 50 µl de solución de TPP (2 µg/ml) y 25 µl de tolueno.

Análisis de muestras por GC-MS

Método cromatográfico

La determinación de residuos de plaguicidas se realizó mediante cromatografía gaseosa de alta resolución con detector de masa. Se trabajó con el equipo anteriormente descrito. Las condiciones cromatográficas fueron las mismas para todos los plaguicidas analizados. La presión al inicio del análisis fue de 2 psi mantenida durante 3,9 minutos, llegando a los 25 psi (a una tasa de 25 psi/min) y permaneciendo en esas condiciones por 7 minutos, para disminuir a 15 psi (a 25 psi/min) y mantenerse hasta el final del análisis (35 minutos). La temperatura inicial del puerto de inyección fue de 35°C durante 4 minutos y luego se incrementó a 290°C (tasa 200°C/min) permaneciendo 2,5 minutos, para disminuir hasta 35°C (tasa 60°C/min). El volumen de inyección fue de 25 µl. Al inicio, el flujo del split fue de 100 ml/min, al minuto 3,9 se cerró el flujo (0 ml/min) hasta el minuto 10,

momento en el que se estableció un flujo de 20 ml/min. La temperatura inicial del horno fue de 70°C durante 8 minutos, luego aumentó hasta alcanzar los 170°C (tasa 25°C/min), 230°C (tasa 5°C/min) y llegar a la temperatura máxima de 290°C (tasa 20°C/min) permaneciendo a esta temperatura por 10 minutos. En el detector, la línea de transferencia se mantuvo a 290°C y la celda de colisión a 200°C.

Análisis de datos cromatográficos

La obtención de datos cromatográficos se realizó con ionización por impacto electrónico (EI+), analizador cuadrupolar y monitoreando iones específicos (SIM, selected ion monitoring) un ión de cuantificación y al menos 2 iones calificadores, para cada analito. Los resultados de los análisis se expresan en microgramo de plaguicidas por gramo de material vegetal ($\mu\text{g/g}$) equivalente a miligramos de plaguicida por kilogramo de material vegetal (mg/kg) o partes por millón (ppm).

Análisis estadístico de los resultados

Las curvas de calibración durante las validaciones de la técnica fueron estimadas con el software estadístico Infostat utilizando regresiones de tipo lineal estableciéndose un valor de aceptación de $p < 0,0001$ (Balzarini *et al.*, 2008). Se identificó como variable dependiente la respuesta y como variable independiente la concentración nominal elegida para cada punto de la curva de calibración.

Los resultados de niveles de residuos provenientes de los ensayos de aplicación de plaguicidas a campo, fueron variables entre las campañas, fechas de siembra, momento de aplicación y dosis, lo que generó una falta de potencia para realizar análisis estadísticos debido a que valores de residuos por debajo del Límite de Detección o Límite de Cuantificación no son cuantificables. Sin embargo se realizó un análisis de las medidas resumen en los casos en que se detectaron residuos cuantificables con el objetivo de inferir

efectos de las dosis y momentos de aplicación sobre los niveles de residuos encontrados. De igual forma se pretendió establecer la influencia de las condiciones meteorológicas de cada año y de la variable días entre las aplicaciones y la cosecha sobre los niveles de residuos.

El análisis estadístico de los datos obtenidos sobre niveles de residuos de plaguicidas aplicados en almacenamiento se realizó a través de un análisis de la varianza, comparando los niveles de residuos de los diferentes principios activos en función de los días transcurridos desde la aplicación del producto teniendo en cuenta que las mediciones estaban correlacionadas por lo que se ajustó un modelo lineal mixto sujeto específico, comparando en base pruebas de comparaciones múltiples LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5% . Además se estableció la influencia de los factores: diferentes matrices (soja y maíz), dosis y la interacción dosis*tiempo desde la aplicación en los casos en que fue posible a través de modelos lineales sujeto específico con test de comparaciones múltiples LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5% (Balzarini *et al.*, 2005; Balzarini *et al.*, 2008). En todos los tratamientos realizados se analizaron la media y desvío estándar de los niveles de residuos a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación, el porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos), tomando como 100% de los residuos el valor a los 2 días desde la aplicación (0% de desaparición de los residuos) y la tasa de disipación diaria (TDD), calculada como la diferencia de los residuos obtenidos entre las mediciones sucesivas dividido el total de días transcurridos entre las mismas. Se realizó la comparación de los residuos de deltametrina y diclorvós aplicados en diferentes dosis de principio activo dependiendo de su formulación comercial (deltametrina, clorpirifós-metil+deltametrina, diclorvós+deltametrina y diclorvós).

El análisis estadístico de los datos obtenidos en aplicaciones repetidas de plaguicidas en almacenamiento de granos se realizó a través de un análisis de la varianza comparando los niveles de residuos de los diferentes principios activos en función del tiempo transcurrido desde la aplicación del producto, el número de aplicaciones y la interacción tiempo desde la aplicación*número de aplicaciones para las matrices de grano de maíz y soja, a través de un modelo lineal mixto y comparaciones múltiples LSD de Fisher con nivel de significancia del 5% (Balzarini *et al.*, 2005; Balzarini *et al.*, 2008).

RESIDUOS EN GRANO DE INSECTICIDAS APLICADOS EN EL CULTIVO DE SOJA

Objetivo específico

Identificar y cuantificar, en granos de soja, los residuos de insecticidas aplicados en el campo en diferentes momentos, dosis y épocas de siembra para el control de chinches.

Materiales y Métodos

Los ensayos de aplicación de insecticidas en el cultivo de soja se realizaron durante tres campañas agrícolas en dos fechas de siembra para cada campaña (Tabla 3.1). Las características generales de los ensayos realizados se han descrito en el Capítulo II correspondiente a Metodología General. En la Tabla 3.1 pueden observarse, para cada campaña agrícola y fecha de siembra, el cultivar sembrado, la fecha de siembra, el tamaño de parcela (número de surcos, largo de surcos y espacio entre surcos), las fechas de aplicación en los estados fenológicos de R3 y R5, la fecha de cosecha en la cuál se realizó el muestreo y los días transcurridos entre aplicación y cosecha.

Los insecticidas aplicados en el cultivo de soja durante las tres campañas agrícolas fueron: endosulfán (EC, 35%), clorpirifós-etil+cipermetrina (EC, 50%+5%) e imidacloprid+ β -ciflutrina (SC, 10%+1,25%). Cada producto comercial fue aplicado en su dosis “normal” (recomendada por CASAFE, 2009) y en una dosis denominada “alta” que corresponde a un 50% por encima de la recomendada. Las dosis “normales” para endosulfán, clorpirifós-etil+cipermetrina e imidacloprid+ β -ciflutrina fueron de 1200 cc/ha, 650 cc/ha y 750 cc/ha respectivamente y las dosis “altas” de 1800 cc/ha, 975 cc/ha y 1125 cc/ha respectivamente. Los momentos de aplicación correspondieron a los estados fenológicos R3 y R5, en los cuales el ataque de chinches produce los mayores daños. Las aplicaciones se realizaron con mochila manual Guarany-Plus-16 con un volumen equivalente de agua de 150 a 170 litros

por hectárea. Para la preparación del caldo de aplicación se midió con jeringas plásticas descartables el volumen requerido de cada principio activo y se diluyó con la cantidad de agua necesaria en una probeta, se homogenizó la solución y luego se colocó en el tanque de la mochila. Se aplicó en primer lugar la dosis normal de imidacloprid+ β -ciflutrina y luego la dosis alta de este principio activo, a continuación se realizó triple lavado a la probeta y a la mochila descartando todos los enjuagues en bidones debidamente etiquetados. A continuación se aplicaron en el mismo orden ambas dosis de clorpirifós-etil+cipermetrina y por último el endosulfán. En todas las actividades, tanto de aplicación como de muestreo los operarios contaron con los elementos de protección personal necesarios trajes impermeables, botas, guantes, máscara con filtro y antiparras. De esta manera quedaron establecidos para cada fecha de siembra 12 tratamientos de aplicación de insecticidas más un testigo, lo que constituyeron las 39 parcelas de ensayo de las cuáles se obtuvieron las muestras a cosecha para el posterior análisis de residuos de plaguicidas. Los datos meteorológicos resumidos de las tres campañas agrícolas como así también de las condiciones en el día de aplicación y tres días posteriores se encuentran descriptas en el Anexo 1 y corresponden a los registros obtenidos de la base de datos de INTA EEA Manfredi (INTA, 2013). El tratamiento desde la recepción de la muestra y su posterior análisis se encuentran explicados en el Capítulo II correspondiente a Metodología General.

Tabla 3.1. Resumen de los datos de cultivares, fechas de siembra, tamaño de parcela, fechas de aplicación, muestreo y días desde aplicación a cosecha, de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de soja en tres campañas agrícolas (Camp) y dos épocas de siembra. Ref: tamaño de parcela expresada en número de surcos*largo de surcos*distancia entre surcos

Camp	Época de Siembra	Cultivar	Fecha de siembra	Tamaño de parcela (m ²)	Fecha de Aplicación (R3)	Fecha de Aplicación (R5)	Fecha de Muestreo (Cosecha)	Días desde aplicación a cosecha
2009/ 2010	Temprana	DM3700	19/11/2009	6 surcos*6m a 0,35m= 12,6 m ²	13/01/2010	04/02/2010	12/04/2010	R3 89 días R5 67 días
	Tardía	DM3700	08/01/2010	6 surcos*6m a 0,52m= 18,72 m ²	05/03/2010	15/03/2010	07/05/2010	R3 63 días R5 53 días
2010/ 2011	Temprana	A5009RG	30/11/2010	12 surcos*6 m a 0,52m= 37,44 m ²	09/02/2011	04/03/2011	11/05/2011	R3 93 días R5 68 días
	Tardía	4990	27/12/2010	13surcos*6m a 0,35m= 27,3 m ²	04/03/2011	21/03/2011	14/06/2011	R3 102 días R5 85 días
2011/ 2012	Temprana	DM 3700	22/11/2011	12 surcos*6 m a 0,52m= 37,44 m ²	18/01/2012	03/02/2012	22/05/2012	R3 124 días R5 108 días
	Tardía	DM 3700	10/01/2012	12 surcos*6 m a 0,52m= 37,44 m ²	23/03/2012	04/04/2012	13/06/2012	R3 82 días R5 70 días

Resultados de validación de la técnica

Para la validación de la Técnica de QuEChERS para los principios activos endosulfán, clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid y β -ciflutrina en la matriz de granos de soja, se realizaron ensayos de calibración en solvente, ensayos de calibración en matriz y ensayos de fortificación. Las concentraciones nominales elegidas para estos ensayos fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$, 0,025 $\mu\text{g/g}$, 0,075 $\mu\text{g/g}$, 0,1 $\mu\text{g/g}$, 0,25 $\mu\text{g/g}$, 0,75 $\mu\text{g/g}$ y 1 $\mu\text{g/g}$. También se incluyó un nivel cero sin adicionado de plaguicidas.

Para evaluar la influencia de la matriz en la respuesta de los analitos se realizaron curvas de calibración en solvente (tolueno) y extracto de matriz de soja orgánica. Para todos los analitos se observó efecto de la matriz, encontrando mayor respuesta de los analitos disueltos en la matriz (Fig. 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5). Este comportamiento es el esperado ya que las matrices de trabajo, granos de soja y maíz, son matrices complejas. Considerando esto, las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de resultados tanto de los ensayos de recuperación como de las muestras de ensayos de aplicación de plaguicidas en el cultivo de soja, acorde a lo recomendado por la bibliografía (AOAC, 2007; Hill y Reynolds, 1999; Documento SANCO N°10684/2009; *Codex Alimentarius*, 2005 CAC/GL 56/2005; Mastovska *et al.*, 2010; Anastassiades *et al.*, 2003). Las curvas de calibración fueron estimadas con el software estadístico Infostat utilizando regresiones de tipo lineal (Balzarini *et al.*, 2008).

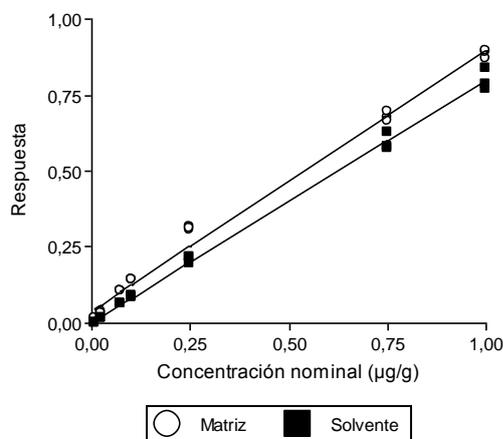


Fig. 3.1. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para endosulfán (α + β +sulfato) en granos de soja.

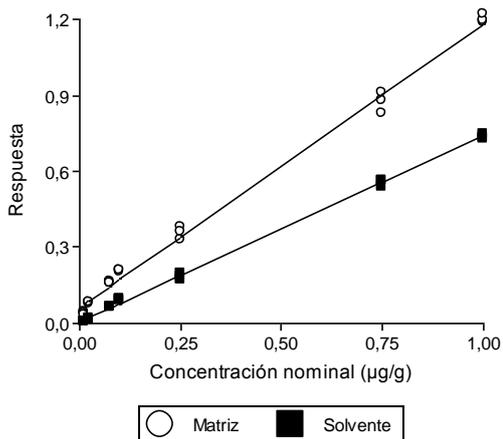


Fig. 3.2. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para clorpirifós-etil en granos de soja.

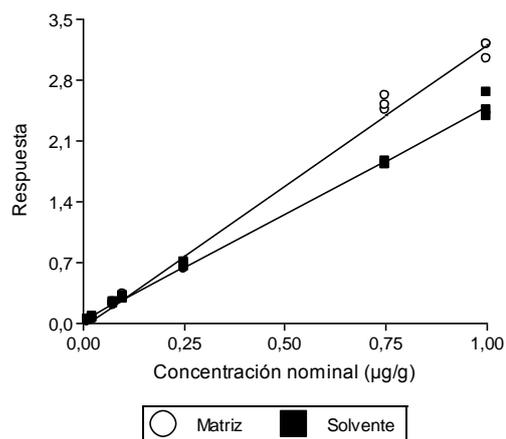


Fig. 3.3. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para cipermetrina en granos de soja.

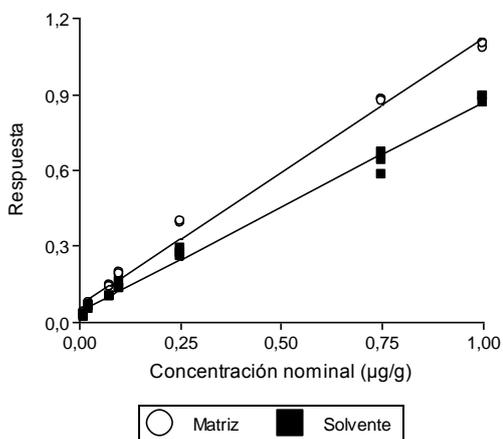


Fig. 3.4. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para imidacloprid en granos de soja

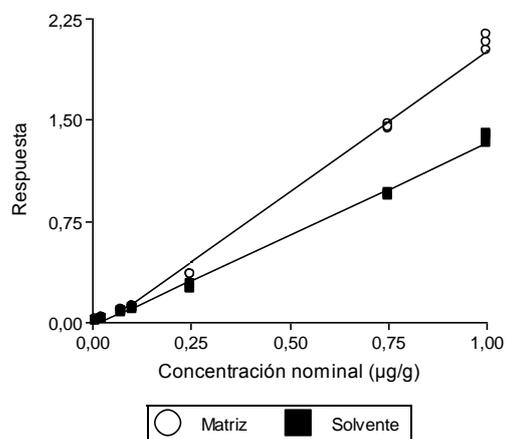


Fig. 3.5. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para β-ciflutrina en granos de soja

En la Tabla 3.2 pueden observarse los parámetros que describen el comportamiento lineal de los analitos en función de la respuesta para los rangos de concentraciones estudiados en la matriz de granos de soja.

Tabla 3.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz soja. Ref: a=pendiente b=ordenada al origen ($y = ax+b$) R^2 = coeficiente de determinación lineal

Principio activo	Rango lineal (µg/g)	a	b	R^2
Endosulfán	0,01-1	0,86	0,04	0,99
Clorpirifós-etil	0,01-1	1,12	0,06	0,99
Cipermetrina	0,01-1	3,26	-0,04	0,99
Imidacloprid	0,01-1	1,05	0,07	0,99
β-ciflutrina	0,01-1	2,08	-0,07	0,99

Los coeficientes de determinación lineal estudiados presentaron valores mayores a 0,99 (Tabla 3.2) por lo que se comprobó la linealidad de todos los analitos en el rango de concentraciones estudiado (Herrmann y Poulsen, 2009) ya que estos resultados permiten correlacionar linealmente la concentración y la respuesta obtenida ($p < 0.05$). Los rangos lineales establecidos fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$ a 1 $\mu\text{g/g}$ para los principios activos endosulfán, clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid y β -ciflutrina.

Los valores de Coeficiente de Variación (CV%) obtenidos en los ensayos de calibración en matriz (Tablas 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 y 3.7) en granos de soja para los principios activos en estudio se encontraron por debajo del 20% acorde a los establecido como criterio de aceptación (Documento SANCO N°10684/2009).

Tabla 3.3. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo endosulfán en granos de soja

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,014	0,003	18,9
0,025	0,033	0,003	7,5
0,075	0,105	0,002	2
0,1	0,143	0,001	0,8
0,25	0,312	0,006	1,9
0,75	0,676	0,017	2,5
1	0,886	0,014	1,6

Tabla 3.4. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo cipermetrina en granos de soja

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,0136	0,0005	3,5
0,025	0,0475	0,007	14,7
0,075	0,2185	0,0166	7,6
0,1	0,3155	0,0108	3,4
0,25	0,6348	0,0001	0,01
0,75	2,5197	0,0889	3,5
1	3,1535	0,0925	2,9

Tabla 3.5. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-etil en granos de soja

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,037	0,005	13,7
0,025	0,079	0,003	3,2
0,075	0,161	0,005	3
0,1	0,206	0,003	1,5
0,25	0,356	0,023	6,6
0,75	0,871	0,043	5
1	1,199	0,018	1,5

Tabla 3.6. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo imidacloprid en granos de soja

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,040	0,001	2,5
0,025	0,072	0,002	2,1
0,075	0,141	0,003	1,9
0,1	0,190	0,008	4
0,25	0,393	0,004	1
0,75	0,874	0,003	0,3
1	1,092	0,013	1,2

Tabla 3.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo β -ciflutrina en granos de soja

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,016	0,003	15,5
0,025	0,033	0,002	6,5
0,075	0,087	0,002	2,3
0,1	0,118	0,004	3,1
0,25	0,353	0,002	0,5
0,75	1,450	0,012	0,8
1	2,071	0,056	2,7

El ensayo de recuperación fue realizado para evaluar la exactitud, precisión, estimar la Incertidumbre y establecer los Límites de Detección (LD) y Límites de Cuantificación (LC) del método para la matriz soja respecto a los principios activos en estudio.

Para el principio activo endosulfán (Tabla 3.8) los valores de recuperación se encontraron entre el 78,8% y 104,9% y la recuperación promedio fue del 91,8%, para clorpirifós-etil (Tabla 3.9) se obtuvieron valores de recuperación entre el 78,8% y 104,9%

con una recuperación promedio del 94,5%, los valores para cipermetrina (Tabla 3.10) se encontraron entre el 78,8% y 104,9% y la recuperación promedio fue del 92,5%, para el principio activo imidacloprid (Tabla 3.11) los valores se hallaron entre el 83% y 98,8% y una recuperación promedio del 87,3% y para β -ciflutrina (Tabla 3.12) los valores de recuperación se encontraron entre el 78,8% y 104,9% y el valor promedio fue del 93,8%. Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido como criterio de aceptación del 70 al 120%, por lo que se acepta la exactitud de los resultados obtenidos. Para todos los principios activos en el estudio, en el rango de concentraciones estudiados, los valores de Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron menores que los CV calculados mediante la fórmula de Horwitz por lo que se acepta la precisión de los resultados obtenidos (Herrmann y Poulsen, 2009).

Tabla 3.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para endosulfán en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	78,8	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,025	95	0,022	0	0,0	28,2	0,0
0,075	93,7	0,08	0,005	6,3	23,3	12,5
0,1	100,1	0,090	0,011	12,2	22,6	24,4
0,25	86,3	0,213	0,030	14,1	20,1	28,2
0,75	102,6	0,714	0,039	5,5	16,79	10,9
1	104,9	0,896	0,028	3,1	16,22	6,3

Tabla 3.9. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-etil en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	78,8	0,008	0	0,0	33,1	0
0,025	95	0,024	0,002	8,3	27,8	16,7
0,075	93,7	0,070	0,006	8,6	24,2	17,1
0,1	100,1	0,1	0,012	12,0	22,6	24,0
0,25	86,3	0,216	0,033	15,3	20,1	30,6
0,75	102,6	0,770	0,066	8,6	16,7	17,1
1	104,9	1,048	0,034	3,2	15,9	6,5

Tabla 3.10. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para cipermetrina en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	78,8	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,025	95	0,024	0,002	8,3	27,8	16,7
0,075	93,7	0,070	0,003	4,3	24,2	8,6
0,1	100,1	0,095	0,009	9,5	22,8	18,9
0,25	86,3	0,237	0,015	6,3	19,7	12,7
0,75	102,6	0,703	0,058	8,3	17,1	16,5
1	104,9	0,863	0,131	15,2	16,3	30,4

Tabla 3.11. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para imidacloprid en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	84,1	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,025	83	0,021	0,002	9,5	28,6	19,0
0,075	98,8	0,074	0,001	1,4	23,6	2,7
0,1	83,9	0,084	0,005	6,0	23,3	11,9
0,25	84,8	0,212	0,025	11,8	20,25	23,6
0,75	89,1	0,668	0,051	7,6	17,1	15,3
1	87,4	0,873	0,111	12,7	16,3	25,4

Tabla 3.12. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para β -ciflutrina en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	78,8	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,025	95	0,022	0,003	13,6	28,2	27,3
0,075	93,7	0,077	0,004	5,2	23,4	10,4
0,1	100,1	0,091	0,001	1,1	22,6	2,2
0,25	86,3	0,240	0,010	4,2	19,7	8,3
0,75	102,6	0,717	0,116	16,2	16,8	32,4
1	104,9	0,982	0,004	0,4	16	0,8

Los valores de Incertidumbre expandida (U%) se establecieron en función del mayor valor de incertidumbre calculado para las concentraciones nominales en ensayo (Tabla 3.13). Los valores son aceptables por lo que el método puede ser utilizado para el

análisis de residuos de plaguicidas de los principios activos en estudio en matriz soja, ya que se encontraron en todos los casos por debajo del 50% establecido como valor máximo (Documento SANCO N°10684/2009; Resolución SENASA 138/2002).

El valor de Límite de Detección (LD), se determinó en función de tres veces el desvío estándar del menor nivel de concentración validado para precisión y exactitud a través del ensayo de recuperación y el valor de Límite de Cuantificación (LC) en seis veces ese valor. En base a estos parámetros se acepta una adecuada sensibilidad en la detección de todos los analitos y en la cuantificación de endosulfán, clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid y β -ciflutrina encontrándose por debajo de los LMR establecidos por SENASA para estos principios activos (Tabla 3.13).

Para el principio activo clorpirifós-etil, ya que no se presentó variabilidad en los resultados para el menor nivel validado, se adjudicó un Desvío Estándar similar al obtenido en los demás principios activos a fin de poder fijar valores de LD y LC. Respecto a este principio activo, validaciones presentadas por Laboratorios de referencia de la UE no han logrado validarlo trabajando en matriz de granos de trigo, método de QuEChERS y CG-ITD (Herrman y Poulsen, 2008).

Tabla 3.13. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de soja y su relación con los LMR establecidos por SENASA. Ref: ^{*}LC y LD para clorpirifós-etil tentativos ya que el DE para el menor nivel validado dio valor cero.

Principio activo	U%	LC (µg/g)	LD (µg/g)	LMR (µg/g)
Endosulfán	28,2	0,006	0,003	0,5
Clorpirifós-etil	30,6	0,006 [*]	0,003 [*]	0,01
Cipermetrina	30,4	0,006	0,003	0,1
Imidacloprid	25,4	0,006	0,003	0,01
β -ciflutrina	32,4	0,006	0,003	0,05

Resultados y Discusión

A continuación se presentan los resultados de niveles de residuos obtenidos de las muestras provenientes de ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de soja. Los valores de residuos se expresan en microgramos de principio activo por gramo de granos de soja ($\mu\text{g/g}$).

En parte de las muestras analizadas se encontraron niveles de residuos de plaguicidas por debajo del Límite de Detección del método (identificadas como ND) y en otras valores por debajo del Límite de Cuantificación (identificadas como <LC). En estos casos los resultados obtenidos de niveles de residuos de plaguicidas no fueron sometidos a análisis estadísticos, pero debido a que los niveles de residuos variaron entre las campañas, fechas de siembra, momento de aplicación y dosis, se realizó un análisis de las medidas resumen en los casos en que se detectaron residuos cuantificables con el objetivo de inferir efectos de las dosis y momentos de aplicación sobre los niveles de residuos encontrados. De igual forma se pretendió establecer la influencia sobre los niveles de residuos de las condiciones meteorológicas de cada campaña agrícola en la cuál se desarrollaron los ensayos para lo cuál se pueden encontrar en el Anexo 1 los datos resumidos referidos a las condiciones meteorológicas del día de las aplicaciones en R3 y R5 y durante los tres días posteriores como así también los datos de las precipitaciones y temperaturas acumuladas durante el ciclo del cultivo y en el período transcurrido entre las aplicaciones y la cosecha.

No se detectaron residuos de ninguno de los principios activos aplicados en las muestras tomadas de las parcelas testigos sin aplicación de plaguicidas, ni se detectó contaminación cruzada entre las muestras. La validación cruzada a través de los controles de calidad y blancos de reactivos asegura que los valores de residuos encontrados en las muestras son debidos a la presencia de estos residuos y no a errores sistemáticos que puedan incurrirse en la técnica de extracción de plaguicidas.

Residuos de endosulfán

Los valores de residuos de endosulfán ($\mu\text{g/g}$) corresponden a la suma de sus isómeros α y β y al principal producto de su metabolismo, el sulfato de endosulfán. En las muestras analizadas provenientes de las campañas agrícolas 2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012, los niveles detectados de residuos de endosulfán nunca superaron el LMR antiguamente establecido por SENASA de $0,5 \mu\text{g/g}$ ni para *Codex Alimentarius* de $1 \mu\text{g/g}$, mientras que, si consideramos el LMR para la UE de $0,05 \mu\text{g/g}$, el valor es superado en algunos casos. El Límite de Detección del método para este principio activo fue de $0,003 \mu\text{g/g}$ y el Límite de Cuantificación de $0,006 \mu\text{g/g}$. Los valores encontrados son esperables ya que el período transcurrido entre las aplicaciones y la cosecha fue de más de 50 días en los ensayos (Tabla 3.1), cumpliendo con el período de carencia de 14 días establecido para soja.

Los estudios de residuos de insecticidas organoclorados, entre ellos el endosulfán, coinciden en que estos plaguicidas son el mayor grupo de químicos responsables de la contaminación (Ntow *et al.*, 2007; Gonzalez *et al.*, 2010), aunque los plaguicidas en general se encuentran entre las herramientas agrícolas más asociadas con el daño ambiental (Devine *et al.*, 2008). Por esto, si bien el endosulfán se consideraba un principio activo con características muy diferentes al resto dentro del grupo químico de derivados organoclorados por su baja acumulación en grasas y menor estabilidad en el ambiente (Novo *et al.*, 2011), luego de numerosos estudios se determinó su inclusión dentro de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) en el Convenio de Estocolmo (Convenio de Estocolmo, 2013). Por lo tanto, si bien en el presente trabajo de tesis las aplicaciones de endosulfán no generan residuos en los granos por encima del LMR, debemos considerar que este principio activo se encuentra actualmente prohibido para casi todos los usos y los LMR ya no figuran en la reglamentación de SENASA vigente desde Julio de 2013 (SENASA, 2013). Cabe destacar que algunos autores señalan que, si bien los niveles de residuos encontrados pueden estar por debajo del LMR, debe considerarse el “efecto cóctel” de varios plaguicidas consumidos a través de los alimentos, los cuales pueden acumularse en el cuerpo y tener efectos combinados de adición o sinergismo (Ogah y Coker, 2012).

Durante la campaña 2009/2010 (Tabla 3.14) se detectaron residuos de este insecticida en el 25% de las muestras analizadas, de las cuales la mitad se encontraban por debajo del Límite de Cuantificación del método (LC=0,006 µg/g). En el 75% restante no se detectaron residuos de este plaguicida, encontrándose por debajo del Límite de Detección (LD=0,003 µg/g).

Las muestras en las cuales se detectaron residuos de este plaguicida fueron provenientes de la fecha de siembra 2 y los tratamientos con dosis altas (50% superior a la dosis recomendada) en aplicaciones en los estados fenológicos R3 (una repetición) y R5 (dos repeticiones).

Tabla 3.14. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2009/2010 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0,003 µg/g), muestras <LC=menores al Límite de Cuantificación (LC=0,006 µg/g). LMR SENASA= 0,5 µg/g.

Fecha de Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos (µg/g)
1	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	ND
				R5	1	ND
			2		ND	
			3		ND	
			Alta		R3	1
				2		ND
3	ND					
R5	1	<LC				
	2	ND				
	3	ND				
2	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	ND
				R5	1	<LC
			2		<LC	
			3		ND	
			Alta		R3	1
				2		ND
3	ND					
R5	1	ND				
	2	0,087				
	3	0,079				

En la Campaña 2010/2011 (Tabla 3.15) se detectaron residuos de endosulfán en el 87,5% de las muestras analizadas, siendo mayor el porcentaje que en la campaña 2009/2010. En el 12,5% de las muestras se encontraron residuos por debajo del Límite de Cuantificación del método (LC=0,006 µg/g) y el 12,5% restante presentó valores de residuos por debajo del Límite de Detección (LD=0,003 µg/g).

Tabla 3.15. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2010/2011 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0.003 µg/g), muestras <LC=menores al límite de cuantificación (LC=0,006 µg/g). LMR SENASA= 0,5 µg/g.

Fecha de Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos (µg/g)
1	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	0,021
				R5	1	0,029
			2		0,027	
			3		0,033	
			Alta	R3	1	0,134
					2	0,041
R5	3	0,042				
	1	0,023				
2	0,363					
3	0,165					
2	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	0,021
					2	0,017
					3	ND
				R5	1	0,011
			2		0,012	
			3		<LC	
			Alta	R3	1	0,02
					2	0,016
R5	3	0,011				
	1	<LC				
2	0,156					
3	<LC					

Debido a que se obtuvieron niveles cuantificables de residuos en esta campaña se calcularon medidas resumen (Tabla 3.16) y graficaron (Fig. 3.6) los resultados obtenidos a fin de analizar la tendencia de los residuos en función de las dosis aplicadas y los momentos de aplicación.

Tabla 3.16. Media y D.E. ($\mu\text{g/g}$) de los niveles de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la campaña 2010/2011 en dos fechas de siembra (FS), dosis y momentos de aplicación según estado fenológico del cultivo (EF) sin datos de muestras ND ni <LC. Ref: n= número de repeticiones.

FS	Dosis	Momento de aplicación (EF)	n	Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
1	Normal	R3	1	0,021
1	Normal	R5	3	0,030 \pm 0,003
1	Alta	R3	3	0,072 \pm 0,053
1	Alta	R5	3	0,184 \pm 0,171
2	Normal	R3	2	0,019 \pm 0,003
2	Normal	R5	2	0,012 \pm 0,001
2	Alta	R3	3	0,016 \pm 0,005
2	Alta	R5	1	0,156

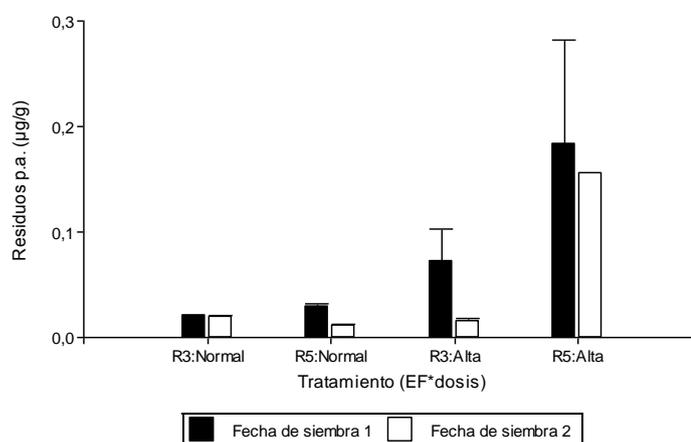


Fig 3.6. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la Campaña 2010/2011, en dos fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo (Tratamiento=EF*dosis) LMR SENASA=0,5 $\mu\text{g/g}$.

Comparando las medias obtenidas entre las diferentes fechas de siembra, momentos de aplicación y dosis, los niveles de residuos en la fecha de siembra 1 fueron mayores que los cuantificados para la fecha de siembra 2, los niveles más altos de residuos de endosulfán se encontraron en muestras provenientes de aplicaciones en dosis altas en el estado fenológico R5 (3 repeticiones en la fecha de siembra 1 y una repetición en la fecha de siembra 2), seguidos por dosis altas en estado R3 (3 repeticiones en ambas fechas de siembra) y los menores valores en muestras de aplicaciones en dosis normales.

En el 100% de las muestras analizadas correspondientes a la campaña 2011/2012 se detectaron residuos del principio activo endosulfán (Tabla 3.17). En el 27% de los casos los residuos se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación del método (LC=0,006 µg/g). Las parcelas pertenecientes a la repetición 3 en la fecha de siembra 2 (dosis altas en R3 y R5), se perdieron durante el ensayo experimental en el campo por lo tanto no se obtuvieron muestras para el análisis de residuos.

Tabla 3.17. Residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja en la campaña 2011/2012 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0,003 µg/g), muestras <LC=menores al Límite de Cuantificación (LC=0,006 µg/g). LMR SENASA= 0,5 µg/g.

Fecha de Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos (µg/g)
1	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	0,011
					2	0,012
					3	0,016
				R5	1	<LC
			2		0,012	
			3		0,028	
			Alta	R3	1	0,021
					2	0,021
R5	2	0,196				
	3	0,242				
2	Endosulfán	Endosulfán	Normal	R3	1	0,019
					2	0,011
					3	0,013
				R5	1	<LC
			2		0,016	
			3		<LC	
			Alta	R3	1	<LC
					2	0,014
R5	2	<LC				
	3	SD				

Se detectaron mayores niveles residuos de endosulfán en las muestras provenientes de la fecha de siembra 1 en dosis altas de aplicación en R5, mientras que para la fecha de siembra 2 se detectaron valores similares de residuos para todas las dosis y momentos de aplicación (Tabla 3.18 y Fig. 3.7).

Los resultados obtenidos de niveles de residuos de endosulfán por debajo del LMR coinciden con lo reportado por otros autores en estudios en soja (Correa *et al.*, 2001; Lorenzatti, 2004b). Mientras que en otros casos, con dosis de aplicación similares a las del presente estudio, los niveles de residuos se encontraron por encima del LMR, calculando un tiempo de espera teórico, desde la aplicación de 14,8 (cercano al período de carencia) a 69,5 días con uno y dos tratamientos respectivamente (Lorenzatti 2004a; Lorenzatti, 2005).

Tabla 3.18. Media y D.E. de los niveles de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra (FS), dosis y momentos de aplicación según estado fenológico del cultivo (EF) sin datos de muestras ND ni <LC. Ref: n= número de repeticiones.

FS	Dosis	Momento De aplicación (EF)	n	Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
1	Normal	R3	3	0,013 \pm 0,003
1	Normal	R5	2	0,020 \pm 0,011
1	Alta	R3	3	0,022 \pm 0,001
1	Alta	R5	3	0,205 \pm 0,033
2	Normal	R3	3	0,014 \pm 0,004
2	Normal	R5	1	0,016
2	Alta	R3	1	0,014

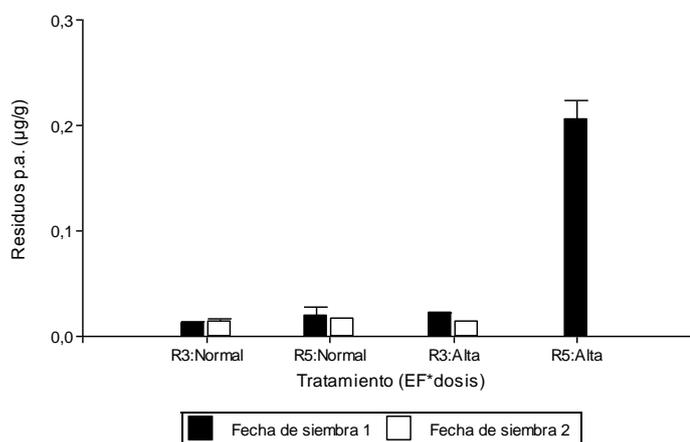


Fig. 3.7. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de endosulfán ($\alpha+\beta$ +sulfato) en granos de soja para la Campaña 2011/2012, en dos fechas de siembra, dosis y momentos aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo (tratamiento=EF*dosis) LMR SENASA=0,5 $\mu\text{g/g}$.

La variabilidad encontrada en los resultados de muestras provenientes de las diferentes campañas, coinciden con lo reportado por otros autores en soja, quienes no encontraron efecto de los años (campaña) utilizando como variable ambiental solo la temperatura, aunque si de los días desde la aplicación y del número de aplicaciones sobre el nivel de residuos de endosulfán (Lorenzatti, 2004a).

En el caso del presente estudio, debido al escaso número de repeticiones con resultados cuantificables de niveles de residuos de plaguicidas, no fue posible detectar diferencias estadísticamente significativas por falta de potencia, aunque se podría inferir un efecto de las condiciones meteorológicas de cada campaña (Anexo 1.1). Puede observarse que el porcentaje de muestras con residuos detectables de endosulfán fueron 2011/2012 > 2010/2011 > 2009/2010, por lo que se podría existir una mayor o menor tendencia de aparición de residuos dependiendo de las condiciones del año y los días transcurridos entre aplicación y cosecha, lo mismo ocurre al analizar las diferentes fechas de siembra dentro de cada campaña.

Por un lado se analizaron las condiciones meteorológicas del día de la aplicación y tres días posteriores a la misma, en especial las temperaturas y las precipitaciones y por otro lado las condiciones de precipitaciones acumuladas en el ciclo del cultivo (siembra a cosecha) y desde el día de la aplicación en R3 y R5 hasta la cosecha y las temperaturas acumuladas desde la aplicación en R3 y R5 hasta la cosecha. Si analizamos los resultados obtenidos para cada fecha de siembra durante las tres campañas, considerando que los ensayos se realizan en similares épocas (temprana y tardía), se puede observar que en la fecha de siembra 1 de la campaña 2009/2010 no se detectaron residuos de endosulfán en ninguna de las muestras analizadas y la única muestra en que se detectaron residuos, proveniente a la repetición 1 de la dosis de aplicación alta en R5, arrojó resultados por debajo del Límite de Cuantificación. Respecto a las condiciones ambientales luego de las aplicaciones, que se consideran importantes en la remoción del depósito del plaguicida (causas mecánicas y físicas), los valores de radiación fueron mayores en los días subsiguientes a la aplicación en R3 que en R5, mientras que las temperaturas medias y la humedad relativa fueron mayores luego de la aplicación en R5, registrando 5 mm de precipitaciones a las 48 hs de esta aplicación (Anexo 1.1). Sin embargo no se puede establecer relación entre estos parámetros y los niveles de residuos ya que han sido similares en ambos momentos de aplicación. Las condiciones de precipitación y

temperatura durante el ciclo del cultivo, pueden ser también causantes de disminuciones en el depósito debido al fenómeno de “eliminación aparente” por el crecimiento del vegetal (Coscollá, 1993). Los valores de precipitaciones acumuladas en el ciclo del cultivo fueron mayores para la campaña 2009/2010 por lo que podría considerarse el año más húmedo. Si analizamos las precipitaciones acumuladas (Anexo 1.1) de R3 a cosecha y de R5 a cosecha, (349 mm acumulados de R3 a cosecha y 223 mm acumulados de R5 a cosecha) como de temperaturas acumuladas (1897,75 °C acumulados de R3 a cosecha y 1416,85 °C acumulados de R5 a cosecha) los valores para esta fecha de siembra se encuentran en un nivel intermedio respecto a la misma fecha de siembra en las campañas 2010/2011, que fue la campaña más seca y de menores temperaturas y 2011/2012, que fue la campaña para esta fecha de siembra, de mayores precipitaciones y temperaturas. En este caso los bajos niveles de residuos de muestras provenientes de la fecha de siembra 1 de la campaña 2009/2010 podrían estar asociados al efecto de “eliminación aparente” o dilución, ya que si bien no se tomaron mediciones de parámetros de crecimiento, las características climáticas del año (altas precipitaciones y temperaturas medias) estarían brindando al cultivo las condiciones óptimas para el crecimiento y desarrollo lo que podría tener influencia también en la distribución del depósito inicial ya que el volumen de biomasa habría sido mayor que en las otras campañas.

En la fecha de siembra 1 de la campaña 2010/2011 (Tabla 3.16) se encontraron mayores niveles de residuos que en la campaña 2011/2012 (Tabla 3.18), excepto para la dosis alta aplicada en R5. En la campaña 2010/2011 no ocurrieron precipitaciones en los tres días posteriores a las aplicaciones en R3 y R5 para la fecha de siembra 1 (Anexo 1.3) mientras que en la campaña 2011/2012 ocurrió una precipitación de 4,5 mm el día siguiente a la aplicación en R5, lo cuál parecería no haber afectado el depósito del plaguicida. La campaña 2010/2011 (Anexo 1.1) fue la de menor cantidad de precipitaciones acumuladas en el ciclo del cultivo (505 mm). La fecha de siembra 1 de esta campaña, respecto a la misma siembra en las otras, fue la de menor cantidad de precipitaciones y temperaturas acumuladas desde las aplicaciones lo cuál podría evidenciarse en un menor crecimiento del cultivo y del “efecto dilución”. Por último para la fecha de siembra 1 de la campaña 2011/2012 hubo condiciones de mayores temperaturas máximas luego de las aplicaciones que en la campaña 2010/2011 (Anexo 1.3 y Anexo 1.4), pudiendo estas condiciones haber afectado el depósito inicial del plaguicida evidenciándose

en un menor contenido de residuos a cosecha respecto a la campaña 2010/2011. Las condiciones ambientales durante el ciclo del cultivo muestran una cantidad de precipitaciones y temperaturas acumuladas entre las aplicaciones y la cosecha superiores al resto de las campañas (Anexo 1.1).

Considerando los días entre aplicación y cosecha (Tabla 3.1) no parecería existir, aunque sin evidencia estadística, una correlación entre este parámetro y los niveles de residuos. Analizando la fecha de siembra 1, en la campañas 2009/2010 los días entre aplicación y cosecha fueron 89 días en la aplicación en R3 y 67 días en la aplicación en R5, valores similares a los de la campaña 2010/2011 de 93 días para la aplicación en R3 y 68 días en la aplicación en R5, sin embargo en la primera campaña no se detectaron residuos en las muestras mientras que en la mayoría de las muestras de 2010/2011 aparecen residuos de este principio activo. En la campaña 2011/2012 transcurrieron 124 días entre la aplicación en R3 y la cosecha y 108 días en R5, sin embargo en esta campaña se encontraron residuos a pesar de ser el tiempo transcurrido mucho mayor que en la campaña 2009/2010.

Analizando la fecha de siembra 2 en la campaña 2009/2010 ocurrieron precipitaciones leves (4 mm) al tercer día posterior a la aplicación en R5, sin embargo no parecería haber tenido efecto en el depósito del plaguicida ya que en algunas muestras se han encontrado residuos de este principio activo (Tabla 3.14). Las precipitaciones acumuladas desde R3 y R5 durante esta fecha de siembra fueron intermedias y las temperaturas más bajas comparadas a las otras campañas (Anexo 1.2). En esta campaña se encontraron los menores niveles de residuos y como se dijo anteriormente podría deberse a que las condiciones del año fueron propicias para el desarrollo del cultivo e incrementaron el efecto de “eliminación aparente”. No parecería existir una correlación entre los días desde la aplicación y la cosecha ya que los días transcurridos desde R3 (63 días) y R5 (53 días) fueron los más bajos comparados a las otras campañas y sin embargo no se encontraron mayor cantidad de residuos.

En la campaña 2010/2011 para la fecha de siembra 2 se registraron precipitaciones de 34 mm entre el tercer y cuarto día luego de la aplicación en R5, lo que podría explicar los mayores niveles de residuos en la aplicación en R3. La campaña vuelve a aparecer como la de mayores niveles de residuos, aunque los niveles encontrados son menores a los de la misma campaña para la fecha de siembra 1, lo cuál podría interpretarse en función de

las menores precipitaciones y temperaturas acumuladas desde la aplicación (Anexo 1.1). Por último, en la campaña 2011/2012 fecha de siembra 2, los valores de precipitación en el ciclo del cultivo, como así también los valores acumulados desde las aplicaciones en R3 y R5, fueron muy bajos comparados con las demás campañas y las temperaturas acumuladas tuvieron valores más altos que en la campaña 2009/2010 con precipitaciones menores a un 25% de las ocurridas en 2009/2010, lo cuál podría sugerir condiciones altamente restrictivas en el crecimiento del cultivo, menor intercepción del plaguicida por parte de las plantas, lo que se traduciría en un menor depósito inicial, que sumado a altas temperaturas luego de las aplicaciones podría ocasionar alta volatilización. Considerando los días entre aplicación y cosecha durante las campañas 2010/2011 y 2011/2012 estos fueron mayores a los observados para la campaña 2009/2010 y sin embargo aparecen en estas campañas un mayor número de muestras con residuos (Tabla 3.1).

Lo anteriormente discutido refleja la gran cantidad de factores involucrados en la eliminación del plaguicida debido a las condiciones ambientales tanto en los momentos de aplicación como en los días subsiguientes y en el desarrollo del cultivo durante su ciclo. Podría inferirse que el estado de crecimiento del cultivo influye en el depósito inicial ya que una mayor biomasa de cultivo se traduce en un mayor volumen de material vegetal en el cuál se deposita el plaguicida con su dosis y volumen de agua recomendados. Las condiciones de altas temperaturas y precipitaciones importantes luego de la aplicación podrían actuar como causas mecánicas y físicas de eliminación, por otra parte, condiciones ambientales que permitan el crecimiento óptimo del cultivo podrían afectar los niveles de residuos a través del fenómeno de “eliminación aparente” tal como lo explica Coscollá (1993). Debido a la falta de evidencia estadística respecto a la influencia de estos factores, las discusiones anteriores se enfocan a tratar de interpretar el efecto “campaña” en los niveles de residuos, pudiendo solo inferir dicho efecto.

Respecto a los datos obtenidos entre las repeticiones dentro de cada tratamiento, la bibliografía coincide en que existe una gran variación en los niveles de residuos de plaguicidas en muestras provenientes de ensayos experimentales debido a la variabilidad en la aplicación u el origen de las muestras analizadas (Chaudry *et al.*, 1978; Lorenzatti, 2005; Lucini y Molinari, 2011).

En coincidencia con los resultados obtenidos en el presente estudio, trabajos en otras matrices vegetales (berenjenas, tomate) reportan que los residuos de endosulfán son mayores cuanto mayor es la dosis aplicada y la disipación de los mismos depende de la especie vegetal y las condiciones ambientales, con mayor velocidad de eliminación de los residuos cuanto más alta es la dosis aplicada y requiriendo mayores tiempos de espera o carencia para alcanzar el LMR cuando se superan las dosis recomendadas (Chauhan y Kumari, 2011). Sin embargo, otros autores no encontraron diferencias significativas en los niveles de residuos en aplicaciones en dosis normales y altas (Arrébola *et al.*, 2001; Ntow *et al.*, 2007). En trabajos publicados en otras matrices vegetales como manzanas, coliflor, cebollas, limón, tomate, calabaza, berenjena y repollo, no se han detectado residuos de este principio activo (Deivendran *et al.*, 2006; Pierre y Betancourt, 2007; Singh *et al.*, 2009; Farhath y Shobha, 2012) o se encontraron niveles por debajo del LMR una vez alcanzado el período de carencia establecido (Duhan *et al.*, 2011) y los niveles hallados realizando cálculos de Ingesta Diaria Admisible se hallaron en concordancia con los recomendados por la FAO (Razi-ul-Hussnain *et al.*, 2002). Valores de persistencia de endosulfán de 3 a 10 días se han determinado para diferentes matrices vegetales (pimiento, tomate, manzanas, berenjenas) (Antonious *et al.*, 1998; Razi-ul-Hussnain *et al.*, 2002; Patyal *et al.*, 2004), mientras que en otras frutas (piñas) se encontraron niveles altos de residuos de endosulfán no cumpliendo con las reglamentaciones vigentes en Colombia (Pinzón *et al.*, 2011).

En estudios en soja, se ha probado la importancia del efecto protector de la vaina, encontrando de 6 a 7 veces más residuos en la vaina respecto al grano (Correa *et al.*, 2001), los autores destacan la importancia de este efecto a nivel ambiental, ya que las vainas permanecen en los rastrojos, lo cuál coincide con trabajos similares en que se encontraron residuos de endosulfán y sulfato de endosulfán en el rastrojo luego de aplicaciones en ensayos experimentales aunque los niveles se encontraron por debajo del LMR (Lorenzatti *et al.*, 2006).

Estudios en pimiento y tomate, indican la formación de sulfato de endosulfán en los tejidos de las plantas y la relativamente mayor persistencia del β -isómero en comparación con el α -isómero (más tóxico para los mamíferos). La persistencia del β -isómero en frutos de pimiento fue mayor que en tomate de 3 a 14 días después de la pulverización, aumentando el riesgo de exposición del consumidor (Patyal *et al.*, 2004). En el presente

estudio se han presentado los resultados considerando la suma de los isómeros de endosulfán y su metabolito principal, el endosulfán sulfato.

Residuos de Plaguicidas Organo Clorados (POC) han sido detectados en diferentes productos elaborados. En aceites vegetales comerciales, se encontraron residuos por encima del LMR en casi el 50% de muestras analizadas, siendo el aceite de soja el más contaminado, aún para principios activos que se encuentran prohibidos desde hace años (HCB, lindano, heptacloro y aldrín). Piñero González *et al.* (2007), explican que la presencia de estos residuos puede deberse a que los principios activos se han seguido utilizando aún bajo prohibición y a sus características de alta persistencia en el ambiente. La importancia de estos estudios radica en que la principal vía de ingreso de los plaguicidas al organismo es a través de los alimentos, en especial aquellos con alto contenido de grasa, como los aceites. Si bien los residuos de plaguicidas son eliminados durante el proceso de elaboración del aceite (Chaudry *et al.*, 1978; Miyahara y Saito, 1993) estos deben realizarse adecuadamente. Otras prácticas de procesamiento habituales antes del consumo de los alimentos también han sido documentados en su importancia en la reducción de los niveles de residuos de endosulfán, como por ejemplo en chimbombo y manzanas (Holland *et al.*, 1994; Antonious *et al.*, 1998; Sheikh *et al.*, 2012).

Otros estudios han encontrado residuos de POC en alimentos (Chaudry *et al.*, 1978; Kannan *et al.*, 1997; Kumari *et al.*, 2002), matrices vegetales (Pérez *et al.*, 2013), alimentos infantiles (Villamil Lepori *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2004), derivados lácteos, huevos (Albert y Rendón-von Oslén, 1988; Lenardón *et al.*, 1994; Ruiz *et al.*, 2008; Castilla Pinedo *et al.*, 2012) y hasta en leche materna (Lenardón *et al.*, 2000; Lorenzatti *et al.*, 2003), siendo los niveles en algunos casos superiores a los aceptados por las reglamentaciones vigentes y postulando que la presencia de residuos de plaguicidas pertenecientes a este grupo químico, es consecuencia de la concentración a través de la red trófica y su bioacumulación aún luego de su prohibición. A partir de los datos presentados, puede observarse que son escasos los estudios relacionados a la determinación de residuos de plaguicidas en granos, lo cuál, considerando que se destinan tanto a consumo directo como a la elaboración de otros alimentos refuerza la importancia de conocer su comportamiento en estas matrices vegetales.

En un trabajo de análisis de la situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina, se citan trabajos que reportan la presencia de residuos plaguicidas en ambientes acuáticos, suelos, sedimentos, fauna silvestre, alimentos y en la población humana, haciendo énfasis en el posible riesgo para la salud (Villamil Lepori *et al.*, 2013), al igual que en otros trabajos de revisión (Devine *et al.*, 2008). Gran cantidad de estudios a nivel ambiental han demostrado la presencia de residuos de POC en agua y sedimentos en la república Argentina en la zona de cultivo de la soja y de los frutales (Jergentz *et al.*, 2005; González *et al.*, 2010; Gil *et al.*, 2005), en agua y peces en la laguna de Mar Chiquita en la Provincia de Córdoba (Ballesteros *et al.*, 2010), como así también en muestras ambientales relacionadas a un mal depósito de plaguicidas obsoletos en la ciudad de Córdoba (Cañas *et al.*, 2009). En el caso de endosulfán, se destacan en la bibliografía las diferencias en toxicidad y estabilidad entre los isómeros y sus productos de degradación, en las diferentes matrices ambientales (Arrébola *et al.*, 2001; Sutherland *et al.*, 2004; Ntow *et al.*, 2007). Lucero *et al.* (2008) y Álvarez *et al.* (2009 ab) en sus estudios han encontrado residuos de POC en niveles plasmáticos en población adulta e infantil expuesta ambientalmente en Argentina, encontrando valores por encima de los referenciales, los cuales se asocian nuevamente a la alta persistencia de estos plaguicidas y sus características de bioacumulación, las diferencias entre los niveles encontrados fueron explicados en diferencias en la exposición (vía de absorción, tiempo de exposición, dosis, vida media del plaguicida, etc.), los factores individuales (edad, sexo, estado nutricional, predisposición genética, etc.) y los factores ambientales (plaguicidas presentes en el medio, factores climáticos, etc.).

Considerando los aspectos anteriormente discutidos, los plaguicidas organoclorados, entre ellos el endosulfán, se han prohibido para casi todos los usos debido a sus características de alta persistencia, bioacumulación y capacidad de transportarse a grandes distancias. Por lo tanto este principio activo debe eliminarse de los planteos productivos. Existen por esto principios activos como alternativas al endosulfán, que son plaguicidas con menor toxicidad aguda que deben ser utilizados bajo un adecuado plan de manejo y monitoreo continuo de las condiciones ambientales y de aplicación, tales como clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid, etc. (Bejarano González *et al.*, 2008). El uso de los ciclodienos, carbamatos y órganofosforados mas antiguos y tóxicos esta disminuyendo lentamente y al menos algunos de ellos han sido prohibidos en muchos países, pero en

general mantienen un 50% de la cuota del mercado internacional. En la actualidad los piretroides sintéticos representan el 20% de las ventas globales de insecticidas y tienen perfiles de toxicidad enormemente mejorados para mamíferos y aves con relación a sus predecesores. Estos nuevos insecticidas tienen algunas ventajas sobre las clases más antiguas. La baja toxicidad en mamíferos permite un intervalo corto previo a la cosecha, simplificando enormemente la logística de su uso. La mayoría son menos dañinos a los enemigos naturales u otras especies que no son el objetivo, lo que reduce su impacto en el medio ambiente más extenso. Todos los autores destacan sin embargo, la importancia de respetar las Buenas Prácticas Agrícolas en la aplicación de plaguicidas y orientar la producción hacia sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), lo que se refiere a un sistema de toma de decisiones para la selección y uso de estrategias agronómicas para el control de plagas, solo o coordinado de manera armoniosa, en una estrategia de manejo basada en el análisis de costo/beneficio que tenga en cuenta los intereses y el impacto en los productores, la sociedad y el medio ambiente e implica un menor uso de los plaguicidas. Es importante considerar que el objetivo específico de los insecticidas es matar plagas de insectos y por consecuencia puede que tengan un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo (recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas) y reducir o contaminar productos alimenticios para los niveles tróficos superiores (Devine *et al.*, 2008).

Residuos de clorpirifós-etil y cipermetrina

En los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de soja se utilizó también la mezcla comercial de clorpirifós-etil y cipermetrina. Los períodos de carencia establecidos para estos principios activos en soja son para cipermetrina de 14 días y para clorpirifós-etil de 7 a 45 días dependiendo de la formulación, en todos los casos los períodos entre aplicación y cosecha respetaron los PC establecidos (Tabla 3.1).

Residuos de clorpirifós-etil

Los residuos de clorpirifós-etil en muestras provenientes de la campaña 2009/2010 (Tabla 3.19) no fueron detectados (ND) en el 58% de las muestras, se detectaron residuos

debajo del Límite de Cuantificación (<LC) para el 17% y niveles cuantificables de residuos de este principio activo en granos de soja en un 25% de las muestras.

Tabla 3.19. Residuos de clorpirifós-etil ($\mu\text{g/g}$) en granos de soja en la campaña 2009/2010 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0,003 $\mu\text{g/g}$), muestras <LC=menores al Límite de Cuantificación (LC=0,006 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA= 0,01 $\mu\text{g/g}$

Fecha De Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos ($\mu\text{g/g}$)
1	Clorpirifós -etil + Cipermetrina	Clorpirifós-etil	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	ND
			Alta	R5	1	ND
					2	ND
					3	ND
2	Clorpirifós -etil + Cipermetrina	Clorpirifós-etil	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	<LC
			Alta	R5	1	<LC
					2	0,039
					3	<LC
Alta	R3	1	0,031			
		2	0,049			
		3	<LC			
		R5	1	0,021		
2	0,075					
3	0,046					

Las muestras en las cuales se detectaron residuos pertenecen a la fecha de siembra 2, en dosis normal aplicada en R5 (una sola de las muestras de las 3 repeticiones analizadas) y en dosis altas aplicadas en R3 y R5. Los niveles más altos de residuos se encontraron en muestras provenientes de la aplicación de dosis altas en R5. En todos los casos los niveles de residuos cuantificados se encontraron por encima del LMR permitido por SENASA, y solo en la repetición 1 de la aplicación en R5 estarían en valores acordes con la reglamentación de los EUA (0,3 $\mu\text{g/g}$), mientras que en ningún caso superan el LMR establecido en el *Codex* (0,1 $\mu\text{g/g}$) y solo la repetición 2 de la aplicación en R5 supera el LMR para la UE (0,05 $\mu\text{g/g}$). Debido a que se cuantificaron residuos solo en algunas de las

muestras de cada tratamiento (combinación de fecha de siembra, dosis y estado fenológico del cultivo) en esta campaña no fue posible realizar un análisis estadístico para comparar valores medios entre tratamientos. En la campaña 2010/2011 no se detectaron residuos de clorpirifós-etil en ninguna de las muestras analizadas provenientes de las dos fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación considerando el LD validado para la técnica de 0,003 µg/g. Los residuos detectados en la campaña 2011/2012 (Tabla 3.20) fueron mayores a las demás campañas, no detectándose residuos en un 9% de las muestras, con niveles menores al Límite de Detección en un 43% y pudiendo cuantificar residuos en el 48% de restante. La parcela correspondiente a la repetición 3 de aplicación de dosis normal en R5 para la fecha de siembra 2 se perdió durante el ensayo por lo que no se obtuvieron muestras para el análisis de plaguicidas.

Tabla 3.20. Residuos de clorpirifós-etil (µg/g) en granos de soja en la campaña 2011/2012 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0,003 µg/g), muestras <LC=menores al Límite de Cuantificación (LC=0,006 µg/g). LMR SENASA= 0,01 µg/g

Fecha de Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos (µg/g)
1	Clorpirifós -etil + Cipermetrina	Clorpirifós-etil	Normal	R3	1	ND
					2	<LC
					3	<LC
				R5	1	<LC
					2	<LC
					3	<LC
			Alta	R3	1	0,302
					2	0,376
3	0,096					
R5	R5	1	0,409			
		2	0,405			
3	0,366					
2	Clorpirifós -etil + Cipermetrina	Clorpirifós-etil	Normal	R3	1	<LC
					2	<LC
					3	0,431
				R5	1	<LC
					2	ND
					3	SD
			Alta	R3	1	<LC
					2	<LC
3	0,028					
R5	R5	1	0,262			
		2	0,239			
3	0,592					

Los niveles de residuos cuantificados superaron en todos los casos el LMR establecido para soja por SENASA y en casi todos los casos los establecidos por los EUA, la UE y *Codex* (excepto repetición 3 de aplicación de dosis alta para la fecha de siembra 2).

Las aplicaciones en dosis normal para ambas fechas de siembra, generaron residuos en los granos por debajo de los Límites de Detección y Cuantificación, excepto para la repetición 3 de la aplicación de dosis normal en R3 para la fecha de siembra 2, lo cual podría explicarse en la alta variabilidad que existe en las aplicaciones de plaguicidas en ensayos experimentales (Lorenzatti, 2005; Lucini y Molinari, 2011) ya que en todas las muestras correspondientes a esta dosis no se han detectado residuos. Para ambas fechas de siembra se encontraron mayores niveles de residuos en aplicaciones más tardías, es decir en R5 que en R3 (Tabla 3.21 y Fig. 3.8).

Tabla 3.21. Media y D.E. ($\mu\text{g/g}$) de los niveles de residuos de clorpirifós-etil en granos de soja para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra (FS), dosis y momentos de aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo (EF) sin datos de muestras ND ni <LC. Ref: n= número de repeticiones.

FS	Dosis	Momento de aplicación (EF)	n	Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
1	Alta	R3	3	0,26 \pm 0,15
1	Alta	R5	3	0,39 \pm 0,02
2	Normal	R3	1	0,43
2	Alta	R3	1	0,03
2	Alta	R5	3	0,36 \pm 0,20

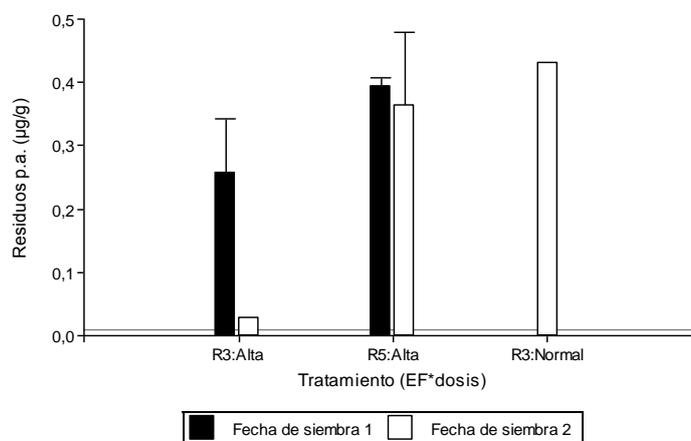


Fig. 3.8. Media y DE ($\mu\text{g/g}$) de residuos de clorpirifós etil en granos de soja para la Campaña 2011/2012, en dos fechas de siembra, dosis y momentos aplicación dependiendo del estado fenológico del cultivo (tratamiento=EF*dosis) LMR SENASA=0,01 $\mu\text{g/g}$.

Analizando las condiciones ambientales de las campañas (Anexo 1) los residuos de clorpirifós-etil siguen el mismo comportamiento anteriormente discutido para endosulfán en las campañas 2009/2010 y 2011/2012. En las muestras analizadas en la campaña 2009/2010 no se detectan residuos de este principio activo para la fecha de siembra 1, mientras que en la fecha de siembra 2 predominan los residuos en dosis altas y aplicaciones tardías. En la campaña 2010/2011, como se dijo anteriormente, no se detectaron residuos de este principio activo, lo cuál presenta un comportamiento diferente respecto a endosulfán ya que esta campaña fue la que mas residuos presentó de este principio activo. En la campaña 2011/2012 se detectó el mayor porcentaje de residuos en las muestras analizadas tal como ocurrió en el caso de endosulfán, el 48% de las muestras presentaron residuos cuantificables de clorpirifós-etil. En este caso se observa también un comportamiento similar al endosulfán ya que los mayores niveles de residuos se detectaron para la fecha de siembra 1. Como se dijo anteriormente en la campaña 2009/2010 se dieron las condiciones de precipitaciones acumuladas más altas en el ciclo del cultivo y las temperaturas acumuladas fueron menores a las registradas en la campaña 2011/2012, lo cuál puede haber beneficiado el crecimiento del cultivo incrementando el efecto de eliminación aparente. Analizando estos parámetros no se evidencia una tendencia clara en los niveles de residuos hallados que pueda atribuirse a las condiciones ambientales ni los días entre aplicación y cosecha.

Los resultados obtenidos coinciden con datos reportados por otros autores en matrices vegetales de coles, tomates, judías verdes, berenjenas, chimbombo y arándanos, en los cuales se estableció que los residuos de clorpirifós-etil eran dependientes de la frecuencia y la dosis de aplicación, mientras que no se pudo establecer en este caso la posible influencia de las condiciones climáticas inmediatamente después de la pulverización y la temporada, encontrándose en estos trabajos niveles de residuos acordes a las normas legales (Martínez Vidal *et al.*, 1998; Putnam *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2006; Samriti *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2012). Jyot *et al.* (2013) aseguran que el uso de la mezcla de clorpirifós-etil y cipermetrina en las dosis recomendadas no parece representar ningún peligro para los consumidores, con vidas medias de 3 a 5 días y recomendando períodos de espera mínimos de 24 horas para reducir el riesgo de consumo. En nuestro país, estudios realizados en mandarinas y naranjas

aseguran que pasado el período de carencia de 21 días, se cumple con el LMR fijado por la reglamentación de SENASA, aunque la aparición de residuos de este plaguicida en el final del ensayo indicarían una alta persistencia del principio activo (Kulczycki *et al.*, 2012). En otros trabajos se han detectado residuos en los frutos durante la cosecha (arándanos, berenjenas, cebolla) pero por debajo del LMR (Putnam *et al.*, 2003; Iqbal *et al.*, 2007; Pierre y Betancourt, 2007), siendo adecuados para el consumo del público, lo cual coincide con evaluaciones de riesgo en otras matrices vegetales (Zhang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2012).

Si bien se han detectado residuos de este principio activo en algunos estudios a nivel comercial en altos porcentajes de las muestras (bananas, manzana, puré de manzana, zumo de manzana y naranja, tomate, mantequilla de maní, leche entera, carne molida, salchichas de cerdo, arándanos, judías verdes, lechuga y tomate) los residuos en casi todos los casos se encontraron por debajo del LMR (Bolles *et al.*, 1999; Hernandez Borges *et al.*, 2009; Chowdhury *et al.*, 2013), sin embargo debemos considerar que los residuos de insecticidas órganofosforados son los mas abundantes (Bushway y Fan, 1998; Kumari *et al.*, 2002) encontrándose en carnes de res, residuos de clorpirifós-etil en el 7% de las muestras, de las cuáles un 2% superaron el LMR de *Codex* (Kumar *et al.*, 2008).

En estudios en lechuga y papa se determinó que un alto porcentaje de las muestras se encontraban contaminadas con residuos de clorpirifós-etil, excediendo el LMR en la mayoría de los casos, lo cual puede generar un riesgo al consumidor, aunque los autores concluyen que las prácticas de procesamiento de los alimentos (lavado, pelado y cocción principalmente) pueden disminuir en gran parte la contaminación microbiana y por plaguicidas en los alimentos (Dikshit *et al.*, 1985; Amoah *et al.*, 2006). Esto fue estudiado por otros autores llegando a las mismas conclusiones de la importancia de los procesos de elaboración de alimentos en general (Holland *et al.*, 1994; Zabik *et al.*, 2000; Cabras and Angioni, 2000; Kaushik *et al.*, 2009; Randhawa *et al.*, 2007; Samriti *et al.*, 2011) y para aquellos en base a la soja (Miyahara y Saito, 1993; Miyahara y Saito 1994), como así también la influencia del período de almacenamiento de los granos sobre el nivel de residuos de plaguicidas (Zayed *et al.*, 2003; Strada *et al.*, 2012). En algunos trabajos, un alto porcentaje de las muestras de vegetales y frutas provenientes de campos de agricultores, tenían residuos detectables de clorpirifós-etil, y en algunos casos por encima el LMR. Los autores concluyen que los agricultores tienen tendencia de sobredosificar los

plaguicidas a fin de asegurar una alta calidad externa de los productos y debido a que los niveles de residuos son dependiente de las dosis, las aplicaciones repetidas de plaguicidas, en especial cerca de la cosecha, pueden acumularse dando lugar a niveles de residuos en el intervalo de pre-cosecha sobre el nivel máximo de residuos (Martínez Vidal *et al.*, 1998; Sadlo, 2000; Zhang *et al.*, 2006; Randhawa *et al.*, 2007; Angioni *et al.*, 2011). Los resultados del presente estudio arrojan resultados similares para soja ya que en la mayoría de los casos los residuos se encuentran por encima del LMR en aplicaciones de dosis superiores en un 50% a la dosis recomendada (exceptuando una de las repeticiones en dosis normal). Otros autores también destacan el uso en planteos productivos de principios activos altamente tóxicos, además de las aplicaciones múltiples y dosis superiores a las recomendadas como la principal causa de presencia de residuos (Pierre y Betancourt, 2007).

Autores han encontrado esto en otras matrices vegetales detectando importantes diferencias en los niveles de residuos cuando se trabajó en un sistema de manejo integrado de plagas (chimbombo, berenjena y manzanas) (Arora, 2009; Singh *et al.*, 2009), en los cuáles se detectaron residuos de plaguicidas aunque por debajo de los límites máximos de residuos.

La persistencia de clorpirifós-etil ha sido estudiada por otros autores en muestras ambientales de suelos y aguas, encontrando en suelos residuos por debajo del límite detectable en aplicaciones de dosis normales y persistencia en algunos casos de hasta 15 días en dosis mayores a las recomendadas (Gupta *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012; Jyot *et al.*, 2013), aunque en algunos casos incluso antes de iniciadas las aplicaciones, existieron residuos de este principio activo en el suelo (Loewy *et al.*, 2011). En muestras de agua se han encontrado residuos de este principio activo, en la mayoría de los casos en niveles por debajo de los límites aceptados (Gil *et al.*, 2005; Bhattacharjee *et al.*, 2012), aunque es importante considerar que este principio activo se encontró con alta frecuencia (Jergentz *et al.*, 2005; Loewy *et al.*, 2011) y puede convertirse en una fuente de contaminación de importancia. Estudios de la exposición a este insecticida en la población han determinado la existencia de residuos de clorpirifós en adultos y niños, siendo mayores los niveles en este último grupo etario considerado un grupo de riesgo a la exposición (Carretero *et al.*, 2009).

Residuos de cipermetrina

Los niveles de residuos de cipermetrina ($\mu\text{g/g}$) corresponden a la suma de sus isómeros. En la campaña 2009/2010 no se detectaron residuos del principio activo en el 67% de las muestras analizadas, mientras que en el 33% restante los residuos se encontraron por debajo del LMR considerando lo establecido por SENASA y *Codex* ($0,1 \mu\text{g/g}$) y las reglamentaciones de los EUA y la UE ($0,05 \mu\text{g/g}$) (Tabla 3.22). Las muestras en que se detectaron residuos pertenecen a la fecha de siembra 2, en dosis normal en R5 y en dosis altas en R3 y R5, siendo mayores los niveles de residuos para dosis de aplicación altas respecto a las dosis normales, resultados similares a los obtenidos para el principio activo clorpirifós-etil.

Tabla 3.22. Residuos de cipermetrina (suma de isómeros) en granos de soja en la campaña 2009/2010 aplicado en dos fechas de siembra, dos dosis y momentos de aplicación de acuerdo al estado fenológico del cultivo (EF). Ref: Muestras ND= no detectadas (LD=0,003 $\mu\text{g/g}$), muestras <LC=menores al Límite de Cuantificación (LC=0,006 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA= 0,05 $\mu\text{g/g}$

Fecha de Siembra	Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis	Momento de aplicación (EF)	Rep	Residuos ($\mu\text{g/g}$)
1	Clorpirifós-etil + Cipermetrina	Cipermetrina	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	ND
			Alta	R5	1	ND
					2	ND
					3	ND
2	Clorpirifós-etil + Cipermetrina	Cipermetrina	Normal	R3	1	ND
					2	ND
					3	ND
			Alta	R5	1	0,014
					2	ND
					3	0,014
Alta	R3	1	0,024			
		2	0,013			
		3	0,018			
Alta	R5	1	0,018			
		2	0,013			
		3	0,015			

En las muestras provenientes de los ensayos realizados durante las campañas 2010/2011 y 2011/2012 no se detectaron residuos de este principio activo en ambas fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación (LD=0,003 µg/g).

Analizando los resultados obtenidos respecto a las condiciones ambientales de las campañas, no es posible asociar la variabilidad de los residuos encontrados con los datos meteorológicos ni inferir el efecto de los mismos como así tampoco de los días entre aplicación y cosecha comparando entre las campañas, sin embargo si analizamos ambas fechas de siembra para la campaña 2009/2010 se observan para la fecha de siembra 1 (Anexo 1.1) mayores precipitaciones en el ciclo del cultivo como así también mayor cantidad de precipitaciones y temperaturas acumuladas desde las aplicaciones en R3 y R5 hasta la cosecha lo que podría asociarse a un mayor efecto de eliminación aparente y por consiguiente menor nivel de residuos.

Los resultados obtenidos concuerdan con datos reportados por otros autores en cuyos trabajos la vida media de cipermetrina (berenjenas, chiles, tomates, col china) fue de 2 a 4 días, sin encontrar residuos por encima de los permitidos (Zhang *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2012; Jyot *et al.*, 2013), con una disminución de más del 70% de los residuos a los 7 días desde la aplicación, por lo que la aplicación de cipermetrina no parece representar ningún peligro para los consumidores. Respecto a otros cultivos, residuos de cipermetrina no se detectaron en zanahorias ni rábanos (Chapman y Harris, 1981; Ripley *et al.*, 2001) y en general, los residuos de varios piretroides (permetrina, cipermetrina y deltametrina) disminuyeron a concentraciones aceptables dentro del intervalo de pre-cosecha o período de carencia, siendo otros principios activos como el fenvalerato más persistentes (Ripley *et al.*, 2001).

Si bien se han detectado residuos de cipermetrina en algunos estudios (Chowdhury *et al.*, 2013), en otros (Westcott y Reichle, 1978; Arora, 2009, Singh *et al.*, 2009) los valores se encontraron por debajo de los niveles detectables. En estudios de monitoreo de residuos de plaguicidas, se concluye que la presencia de residuos se debe a su mal uso ya que la cipermetrina fue detectada en especies vegetales en las cuales no estaba autorizada (Perez *et al.*, 2013).

Como para otros principios activos, los niveles de residuos de cipermetrina se consideran dependientes de la frecuencia, del número y las dosis de aplicación, además de las condiciones climáticas inmediatamente después de la pulverización, con un importante

efecto de las lluvias y mayor aun en aplicaciones múltiples (Zhang *et al.*, 2006). El efecto de las dosis ha sido reportado también por otros autores, encontrando mayores niveles de residuos en dosis altas aplicadas en el cultivo de algodón (Battu *et al.*, 2009) alcanzando valores por debajo del nivel detectable después de 21 días de su aplicación en ambas dosis y encontrándose valores por debajo del LMR al momento de la cosecha. Otros estudios citan que la diferencia en la distribución relativa de los plaguicidas y resistencia a la disipación puede deberse a la influencia de las diferentes especies de cultivos (col y uvas, variedades de lechuga), los métodos de cultivo y las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas (Fujita *et al.*, 2012). En los resultados obtenidos en el presente estudio, aunque sin apoyo estadístico por falta de potencia en la comparación de medias, podría inferirse un efecto de las dosis ya que si bien se detectaron residuos aún en la dosis de aplicación normal en R5 para la fecha de siembra 2, los niveles parecerían ser mayores en las dosis de aplicación altas.

Si analizamos la importancia de este principio activo como un contaminante ambiental, se han encontrado evidencias de la baja persistencia de cipermetrina en suelos luego de la aplicación en cultivos, encontrando residuos no detectables el mismo día de aplicación (Mukherjee *et al.*, 2012), tras 7 días (Gupta *et al.*, 2011), 15 días desde la aplicación (Jyot *et al.*, 2013) y a la cosecha (Battu *et al.*, 2009), encontrando algunos autores períodos de hasta 2 meses de persistencia dependiendo del contenido de materia orgánica del suelo y las diferencias de degradación entre los isómeros (Chapman y Harris, 1981).

En estudios de aplicaciones aéreas los residuos de cipermetrina en muestras de suelos y agua disminuyeron rápidamente tras la aplicación, y sus concentraciones fueron en todos los casos muy bajas, sin identificar efectos biológicos marcados resultantes de la aplicación ni efectos sobre las poblaciones de peces (Shires y Bennett, 1985). En aguas de arrozales y en ríos, las concentraciones detectadas de residuos de plaguicidas estaban por debajo del umbral de tolerancia máximo de residuos (LMR) del agua potable (0,1 mg/l), adoptado por *Codex Alimentarius* (Bhattacharjee *et al.*, 2012), mientras que en nuestro país estudios en la zona de cultivo de soja y frutales han detectado residuos en algunas muestras de agua de este principio activo (Jergentz *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos en el presente estudio y en otros, son coherentes con las características de este principio activo. La cipermetrina ha sido descrita en la bibliografía

como un principio activo poco tóxico (González *et al.*, 2010), térmicamente inestable en condiciones acuosas, en donde la hidrólisis del plaguicida se acelera por el calor y en pH extremo (Lin *et al.*, 2005). Los estudios indican que los residuos de cipermetrina son propensos a degradarse por hidrólisis durante el procesamiento de alimentos (lavado, pelado, cocción) reduciendo de este modo la exposición de los consumidores, aunque pueden encontrarse algunos productos de su degradación (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009).

Residuos de imidacloprid y β -ciflutrina

Como alternativas a los productos tradicionales en el control de plagas en soja, se aplicó el formulado de la mezcla de los principios activos imidacloprid+ β -ciflutrina. No se detectaron residuos de estos principios activos en ninguna de las muestras analizadas provenientes de las campañas 2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012 para ambas fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación. Los Límites de Detección establecidos en la validación de la técnica fueron adecuados considerando los LMR establecidos para dichos principios activos.

Imidacloprid pertenece al grupo químico de derivados cloronicotilínicos o nitroguanidinas. Es un principio activo recientemente incorporado al mercado y desarrollado para controlar insectos resistentes a órganofosforados y organoclorados debido a su gran espectro de acción, bajo potencial de bioacumulación y relativa inmovilidad en suelo (Novo *et al.*, 2011; Kapoor *et al.*, 2012)

El período de carencia en soja para este insecticida es de 64 días, el cuál se cumplió en los ensayos experimentales excepto para la fecha de siembra 2 de la campaña 2009/2010 en la aplicación en R3 y R5, sin embargo en dichas muestras no se detectaron residuos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, coinciden con lo reportado por diversos autores quienes estudiaron la disipación de residuos de este principio activo en frutos y vegetales. En estudios en hojas y frutos de tomate, se encontraron niveles de imidacloprid por debajo del LMR tras 3 días desde la aplicación (Romeh *et al.*, 2009), no encontrando en otros estudios en la misma matriz residuos de este principio activo en muestras comerciales utilizando la técnica de QuEChERS (Ahumada y Zamudio, 2011). En otras matrices vegetales (bayas de uva, mango, chimbombo, berenjena) el uso de

imidacloprid parece ser toxicológicamente aceptable (Iqbal *et al.*, 2007; Arora, 2009; Arora *et al.*, 2009; Mohapatra *et al.*, 2012), sugiriendo períodos de espera de 3 a 55 días para el consumo dependiendo del fruto (mango, chimbombo) (Sahoo *et al.*, 2012; Bhattacharjee, 2013). Sin embargo, en estudios en mercados de Palestina en el año 2007, se detectaron residuos de imidacloprid en más de la mitad de las muestras analizadas y se observó un aumento de hasta el 120 % de concentración en las muestras respecto al año anterior, conduciendo a los autores a inferir una acumulación de imidacloprid en el suelo y/o un aumento del uso por los agricultores locales. Las concentraciones de residuos de imidacloprid en varios de los cultivos analizados se encontraron por encima del LMR establecido por *Codex* (Daraghmeah *et al.*, 2007). En otros estudios utilizando la técnica de QuEChERS, en el 22% al 33% de las muestras de frutas, vegetales y cereales se detectó la presencia de residuos de imidacloprid, de las cuales entre el 2% y el 6% superaban el LMR, sin embargo el cálculo de ingesta diaria e índices de riesgo fueron adecuados para el consumo de la población (Kapoor *et al.*, 2012). Estudios similares en España de cálculos de la ingesta diaria y su comparación con la IDA demostraron la seguridad del consumo de frutas ya que no se superaron los niveles admisibles en imidacloprid y otros plaguicidas estudiados (Blasco *et al.*, 2005).

Al igual que para otros principios activos, en la bibliografía se reporta la importancia del efecto de las prácticas de procesamiento sobre la disminución del nivel de residuos de imidacloprid y se establece que la disipación en cultivo depende tanto de las condiciones climáticas como del tipo de aplicación, la especie, la dosis y el intervalo entre la aplicación y la cosecha (Romeh *et al.*, 2009).

Respecto a la importancia de este principio activo como contaminante ambiental, en estudios de muestras de suelo analizadas mediante la técnica de QuEChERS se encontraron concentraciones de hasta 0,016 mg/kg (Giri *et al.*, 2012), mientras que otros autores no hallaron residuos de este principio activo en aguas (Araújo Ribeiro *et al.*, 2013). También es discutido el efecto de este principio activo sobre la supervivencia de las abejas; no por un impacto directo, sino como posible fuente de riesgo por el impacto subletal en el comportamiento debido a los tratamientos de las semillas con imidacloprid o su aplicación y transferencia al polen (Donnarumma *et al.*, 2011). Además se ha demostrado la presencia de imidacloprid en fuentes de alimento artificiales de las abejas productoras de miel (Devine *et al.*, 2008).

Si bien los residuos de este principio activo en los ensayos experimentales se encontraron por debajo del Límite de Detección establecido en la técnica, debemos considerar que otros estudios realizados han detectado residuos tanto en alimentos como en muestras ambientales, por lo cuál no deberían, en ningún caso, excederse las dosis recomendadas ni los momentos de aplicación adecuados, respetando las Buenas Prácticas Agrícolas.

El principio activo β -ciflutrina pertenece al grupo químico de los piretroides, con un período de carencia de 14 días para soja. El período de carencia se cumplió en todos los casos entre la aplicación y la cosecha. Los resultados obtenidos de niveles no detectados de residuos de este principio activo, coinciden con lo reportado por otros autores que han obtenido bajos niveles de residuos en otras matrices vegetales (mango, coles, chimbombo, algodón) encontrando vidas medias de los residuos de 3 a 10 días (Borah *et al.*, 2003; Banerjee *et al.*, 2012; Sahoo *et al.*, 2012; Chauhan *et al.*, 2013) y niveles de residuos a la cosecha dentro de la reglamentación vigente. En la determinación de los residuos de imidacloprid y β -ciflutrina mediante la técnica de QuEChERS en vegetales, se estableció que los residuos de β -ciflutrina son menos persistentes que los de imidacloprid (Banerjee *et al.*, 2012). Se destacan en los estudios la influencia sobre el nivel de residuos de este principio activo de la especie (Banerjee *et al.*, 2012), dosis de aplicación (Chauhan *et al.*, 2013), año y número de aplicaciones (Borah *et al.*, 2003; Sahoo *et al.*, 2012).

Estudios reportan bajas cantidades de β -ciflutrina en el suelo al momento de la cosecha (Chauhan *et al.*, 2013), lo cual coincide con lo reportado por otros autores encontrando evidencias de la baja persistencia ambiental e insignificante posibilidad de su lixiviación en aguas subterráneas por su inmovilidad en el suelo (Gupta y Gajbhiye, 2002; Sahoo *et al.*, 2012).

Conclusiones

- Los ensayos realizados, formas de aplicación, protocolos de seguridad para el lavado de materiales y manejo de las muestras como así también los controles de calidad realizados se consideran adecuados respecto de evitar la contaminación cruzada.

- La técnica de QuEChERS fue validada para todos los analitos en estudio en la matriz soja. Para todos los analitos se observa un efecto de la matriz, lo cuál es esperable ya que se trabajó con matrices complejas, por lo tanto las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de los niveles de residuos. Se establecieron valores adecuados de Coeficiente de Variación y Coeficientes de determinación lineal (R^2) para todas las curvas de calibración en matriz por lo que se aceptan para la cuantificación de los residuos en el rango lineal de concentraciones establecido para cada principio activo. Los valores de Recuperación porcentual (R%) se encontraron dentro del rango establecido por lo que se acepta la exactitud de los resultados. Los valores de Desviación estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron menores en todos los casos a los CV% calculados mediante la ecuación de Horwitz por lo cual se acepta la precisión de los resultados obtenidos. Los valores de Incertidumbre expandida (U%) y los Límites de Detección (LD) y Cuantificación (LC) fueron adecuados para el objetivo propuesto encontrándose los LC por debajo del LMR para endosulfán, clorpirifós-etil, cipermetrina, imidacloprid y β -ciflutrina.

- Las aplicaciones de endosulfán generaron residuos por debajo de los LMR aunque se detectó la presencia de los mismos en muestras analizadas de todas las campañas. Existe una tendencia a encontrar mayores niveles de residuos cuanto mayor es la dosis aplicada y la misma se realiza en estados más avanzados en el ciclo del cultivo (R5). Los niveles de residuos de endosulfán variaron entre las campañas y se podría inferir, aunque sin evidencia estadística, un efecto de las condiciones meteorológicas tanto en los momentos de aplicación como en los días subsiguientes y durante el ciclo del cultivo. Las condiciones de altas temperaturas y precipitaciones importantes luego de la aplicación podrían actuar como causas mecánicas y físicas de eliminación, por otra parte, condiciones ambientales que permitan el crecimiento óptimo del cultivo podrían afectar los niveles de residuos a través del fenómeno de eliminación aparente y el depósito inicial de endosulfán. De igual forma, aunque sin evidencia estadística, se podría inferir que no existe un efecto marcado de los días transcurridos desde la aplicación sobre los niveles de residuos de endosulfán.

- Los niveles de residuos encontrados de clorpirifós-etil variaron entre las campañas en estudio. Para la campaña 2009/2010 se detectaron residuos de este principio activo por encima de los LMR principalmente en aplicaciones de dosis altas tardías y estados avanzados del cultivo (R5), sin embargo aparecen residuos en una de las muestras provenientes de aplicación de la dosis normal. En la campaña 2010/2011 no se detectaron residuos de este principio activo. Durante la campaña 2011/2012 los residuos de clorpirifós-etil superaron los LMR en aplicaciones tardías y dosis altas y en una de las repeticiones de aplicación de dosis normal. Niveles de residuos por encima del LMR en dosis normales podrían asociarse a las dificultades para lograr la uniformidad en las aplicaciones de plaguicidas en parcelas de ensayo lo que ocasiona variaciones en la distribución del depósito inicial. Residuos del principio activo cipermetrina solo se detectaron en la campaña 2009/2010 siempre por debajo de los LMR establecidos por SENASA. Respecto al efecto de las variables ambientales, puede inferirse que debido a la menor estabilidad y persistencia de estos principios activos respecto al endosulfán, se hayan ocasionado pérdidas importantes de los residuos o bajos depósitos iniciales ante pequeñas variaciones de las condiciones meteorológicas las cuales pueden no verse reflejadas en las variables elegidas para el presente trabajo de tesis. Por lo tanto las aplicaciones de la mezcla de clorpirifós-etil+cipermetrina para el control de chinches en el cultivo de soja, en general, no generan residuos en los granos por encima de los LMR establecidos por SENASA para la República Argentina, sin embargo una correcta técnica de aplicación en lo que se refiere a la dosis y técnica de aplicación del plaguicida es indispensable a fin de lograr una depósito inicial homogéneo y evitar la concentración de residuos y la aparición de los mismos aún en dosis normales de aplicación.

-No se detectaron residuos de los principios activos imidacloprid ni β -ciflutrina en las muestras provenientes de ensayos de las campañas 2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012 en las fechas de siembra, dosis y momentos de aplicación en los ensayos experimentales. Estos resultados parecen colocar a estos principios activos como los más inocuos a nivel de la contaminación por residuos de plaguicidas en aplicaciones en campo para el control de chinches en el cultivo de soja recomendándose su uso respetando las BPA.

RESIDUOS EN GRANO DE INSECTICIDAS APLICADOS EN EL CULTIVO DE MAÍZ

Objetivo específico

Identificar y cuantificar, en granos de maíz, los residuos de insecticidas aplicados en el campo en diferentes dosis y épocas de siembra para control de lepidópteros.

Materiales y métodos

Los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de maíz se realizaron durante tres campañas agrícolas (2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012) con dos fechas de siembra en cada campaña. Las características generales de los ensayos realizados se han descrito en el Capítulo II correspondiente a Metodología General. En la Tabla 4.1 pueden observarse para cada campaña agrícola y época de siembra, el híbrido sembrado, la fecha de siembra, el tamaño de parcela (en metros cuadrados y el número, largo y espacio entre surcos), las fechas y estados fenológicos al momento de la aplicación, la fecha de cosecha en la cuál se realizó el muestreo y los días transcurridos entre la aplicación y la cosecha.

En el cultivo de maíz se aplicaron los insecticidas clorpirifós-etil+cipermetrina (EC, 50%+5%) y novalurón (EC, 5%). Se incluyeron dos dosis, una dosis denominada “normal” (recomendada por CASAFE, 2009) y una dosis “alta” correspondiendo a una dosis 50% superior a la recomendada. Las dosis “normales” fueron de 350 cc/ha para clorpirifós-etil+cipermetrina y 250 cc/ha para novalurón. Las dosis “altas” de 525 cc/ha y 375 cc/ha respectivamente. El momento de aplicación estuvo definido por el período de desarrollo vegetativo entre los estados fenológicos V2 (plántula) y VT (floración) momento en el cuál

ocurren los ataques de las orugas consideradas plagas claves en el cultivo. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento y se contó con un testigo por triplicado sin aplicación de plaguicidas. Las aplicaciones se realizaron con mochila manual Guarany-Plus-16 con un volumen de agua por hectárea entre 150 y 170 litros. Para la preparación del caldo de aplicación se midió con jeringas plásticas descartables el volumen requerido de cada principio activo y se diluyó con la cantidad de agua necesaria en una probeta plástica, se homogenizó la solución y luego se colocó en el tanque de la mochila. Se aplicaron en primer lugar las dosis normales y luego las dosis altas. Cuando se cambió el principio activo en el tratamiento se realizó triple lavado a la probeta y a la mochila descartando todos los enjuagues en bidones debidamente etiquetados. En todas las actividades, tanto de aplicación como de muestreo los operarios contaron con los elementos de protección personal necesarios: trajes impermeables, botas, guantes, máscara con filtro y antiparras. Quedan así establecidos los 4 tratamientos aplicados en este cultivo para cada fecha de siembra de los cuales se obtuvieron las muestras para el análisis de residuos de plaguicidas (Tabla 4.1). Durante la campaña 2009/2010 sólo se realizaron los tratamientos con clorpirifós-etil+cipermetrina en las dosis “normal” y “alta”.

Tabla 4.1. Resumen de los datos de híbridos, fechas de siembra, tamaño de parcela, fechas de aplicación, muestreo y días desde aplicación a cosecha, de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de maíz en tres campañas agrícolas (Camp) y dos épocas de siembra. Ref: tamaño de parcela expresada en número de surcos*largo de surcos*distancia entre surcos

Camp	Época de Siembra	Híbrido	Fecha de siembra	Tamaño de parcela (m ²)	Aplicación (Estado Fenológico y fecha)	Fecha de Muestreo (cosecha)	Días desde aplicación a cosecha
2009/2010	Temprana	DK747	19/11/2009	7 surcos*6m a 0,52m=21,84	V15 13/01/2010	14/06/2010	152 días
	Tardía	cuarentin	08/01/2010	4 surcos*6m a 0,52m=12,48	V8 19/02/2010	12/05/2010	82 días
2010/2011	Temprana	varpollib	04/10/2010	4 surcos*6 m a 0,52m=12,48	V8 13/12/2010	08/04/2011	117 días
	Tardía	DK699MGRR	29/12/2010	4 surcos*6m a 0,35m=8,4	V9 28/02/2011	13/06/2011	105 días
2011/2012	Temprana	DK747	23/11/2012	4 surcos*6 m a 0,52m=12,48	V15 18/01/2012	04/04/2012	76 días
	Tardía	cuarentin	10/01/2011	4 surcos*6 m a 0,52m=12,48	V9 15/02/2012	23/05/2012	97 días

Resultados de validación de la técnica

Para la validación de la Técnica de QuEChERS para los principios activos clorpirifós-etil, cipermetrina y novalurón en la matriz de granos de maíz se realizaron ensayos de calibración en solvente, ensayos de calibración en matriz y ensayos de fortificación. Las concentraciones nominales elegidas para estos ensayos fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$, 0,025 $\mu\text{g/g}$, 0,05 $\mu\text{g/g}$, 0,075 $\mu\text{g/g}$, 0,1 $\mu\text{g/g}$, 0,5 $\mu\text{g/g}$ y 1 $\mu\text{g/g}$. También se incluyó un nivel “cero” sin adición de plaguicidas.

Para evaluar la influencia de la matriz en la respuesta de los analitos se realizaron curvas de calibración en solvente (tolueno) y extracto de matriz de maíz orgánico. Para todos los analitos se observó efecto de la matriz lo cual es esperable debido a que se trabajó con matrices complejas (Fig. 4.1, 4.2 y 4.3). Novalurón presentó un comportamiento diferente al resto de los principios activos ya que mostró una mayor respuesta en el solvente que en la matriz, lo cual se evidenció con un desplazamiento hacia arriba de la curva correspondiente. Considerando el efecto las curvas en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de resultados tanto de los ensayos de recuperación como de las muestras de ensayos de aplicación de plaguicidas en el cultivo de maíz (Hill y Reynolds, 1999; Anastassiades *et al.*, 2003; *Codex Alimentarius*, 2005 CAC/GL 56/2005; AOAC, 2007; Documento SANCO N°10684/2009; Mastovska *et al.*, 2010; Hjorth *et al.*, 2010).

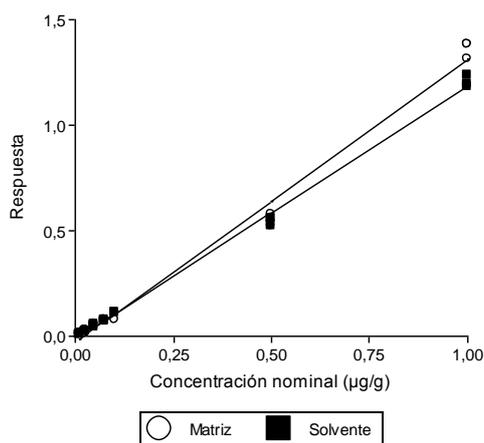


Fig. 4.1. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para clorpirifós-etil en granos de maíz

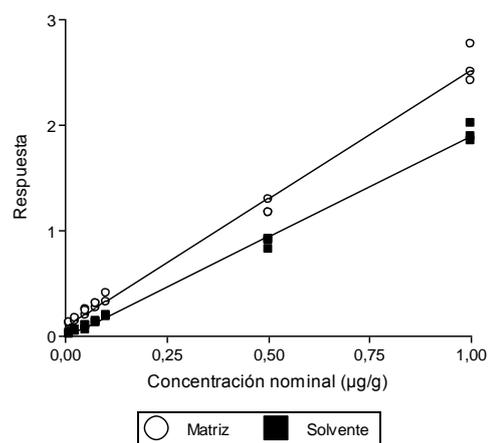


Fig. 4.2. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para cipermetrina en granos de maíz

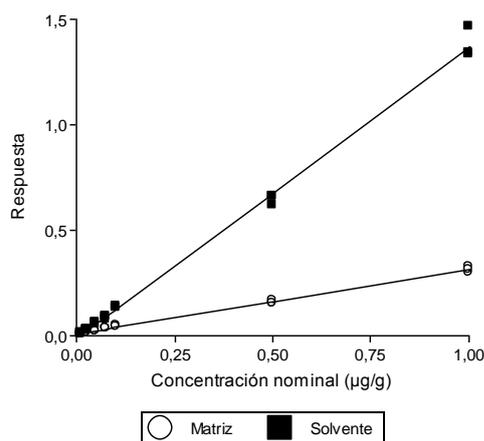


Fig. 4.3. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para novalurón en granos de maíz

En la Tabla 4.2. pueden observarse los parámetros que describen el comportamiento lineal de los analitos en función de la respuesta y los rangos de concentración estudiados en la matriz maíz.

Tabla 4.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en matriz maíz.
 Ref: a=pendiente b=ordenada al origen ($y= ax+b$) R^2 = coeficiente de determinación lineal

Principio activo	Rango lineal (µg/g)	a	b	R^2
Clorpirifós-etil	0,01-1	1,34	-0,03	0,99
Cipermetrina	0,01-1	2,43	0,09	0,99
Novalurón	0,01-1	0,3	0,01	1

Los coeficientes de determinación lineal estudiados presentaron valores superiores a 0,98, por lo que se comprobó la linealidad de todos los analitos en el rango de concentraciones estudiado (Herrmann y Poulsen, 2009; Hjorth *et al.*, 2010) y estos resultados permiten correlacionar linealmente la concentración y la respuesta obtenida ($p<0.05$). Los rangos lineales establecidos fueron de 0,01 µg/g a 1 µg/g para clorpirifós-etil, cipermetrina y novalurón.

Los valores de Coeficiente de Variación (CV%) obtenidos en los ensayos de calibración en matriz en granos de maíz (Tablas 4.3, 4.4 y 4.5) para los principios activos en estudio se encontraron por debajo del 20% acorde a lo establecido como criterio de aceptación (Documento SANCO N°10684/2009).

Tabla 4.3. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-etil en granos de maíz

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,011	0,002	20
0,025	0,027	0,001	2,2
0,05	0,055	0,001	2,1
0,075	0,073	0,002	2,8
0,1	0,087	0,011	13
0,5	0,545	0,027	4,97
1	1,539	0,038	2,8

Tabla 4.4. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo cipermetrina en granos de maíz

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,12	0,01	8,3
0,025	0,14	0,01	10,2
0,05	0,23	0,03	13,9
0,075	0,29	0,02	7,7
0,1	0,37	0,06	16
0,5	1,21	0,07	5,6
1	2,56	0,18	6,9

Tabla 4.5. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo novalurón en granos de maíz

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,006	0,001	16,7
0,025	0,014	0,002	14,3
0,05	0,023	0,003	13
0,075	0,036	0,002	5,5
0,1	0,047	0,002	4,6
0,5	0,158	0,007	4,2
1	0,313	0,012	3,8

El ensayo de recuperación fue realizado para evaluar la exactitud, precisión, estimar la Incertidumbre y calcular los Límites de Detección (LD) y Límites de Cuantificación (LC) del método.

Para clorpirifós-etil en granos de maíz (Tabla 4.6) se obtuvieron recuperaciones entre el 78,6% y 102,1% con una recuperación promedio del 89,5%, para cipermetrina (Tabla 4.7) se encontraron valores entre 75,4% y 105,9% y la recuperación promedio fue

del 84,1% y para el principio activo novalurón (Tabla 4.8) los valores de recuperación estuvieron entre el 84,4% y 92,6% con una recuperación promedio del 87,1%. Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido como criterio de aceptación (70-120%), por lo cuál se acepta la exactitud de los resultados obtenidos. La Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fue en todos los casos menor al CV% calculado mediante la fórmula de Horwitz por lo que se acepta la precisión de los resultados obtenidos (Herrmann y Poulsen, 2009). Los resultados coinciden con lo reportado por trabajos similares en la validación de la técnica de QuEChERS en cereales (Guan *et al.*, 2009, Herrmann y Poulsen, 2009; Mastovska *et al.*, 2010).

Tabla 4.6. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-etil en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	91	0,009	0,0015	22,2	32,4	20,0
0,025	93,4	0,022	0,005	22,7	28,2	26,1
0,05	78,6	0,039	0,004	10,2	26	20,5
0,075	93,4	0,070	0,009	12,8	23,8	25,7
0,1	88,4	0,088	0,008	9,1	22,9	18,2
0,5	102,1	0,510	0,042	8,2	17,7	16,5
1	80	0,800	0,001	0,1	16,6	0,3

Tabla 4.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para cipermetrina en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	75,4	0,0075	0,001	13,3	33,4	26,7
0,025	76,9	0,019	0,001	5,3	29	10,5
0,05	79,7	0,040	0,004	10	26	20
0,075	105,9	0,075	0,017	22,7	23,6	10,1
0,1	90,5	0,084	0,017	20,2	23,1	15,6
0,5	78,4	0,392	0,044	11,2	18,4	22,5
1	81,9	0,819	0,082	1	16,5	20

Tabla 4.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para novalurón en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	85,8	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,025	86,9	0,022	0,003	13,6	28,4	27,3
0,05	87,6	0,044	0,004	9,1	26	18,2
0,075	88	0,066	0,006	9,1	24	18,2
0,1	84,5	0,084	0,007	8,3	23,1	16,7
0,5	84,4	0,422	0,029	6,9	18,3	13,7
1	92,6	0,926	0,042	4,5	16,2	9,1

Los valores de incertidumbre expandida (U%) se establecieron en función del mayor valor de incertidumbre calculado para las concentraciones nominales en ensayo. Los valores son aceptables por lo que el método puede ser utilizado para el análisis de residuos de plaguicidas de los principios activos en estudio en matriz maíz (Tabla 4.9) (Documento SANCO N°10684/2009; Resolución SENASA 138/2002).

El valor de Límite de Detección (LD) se determinó en función de tres veces el desvío estándar del menor nivel validado para precisión y exactitud a través del ensayo de recuperación y el Límite de Cuantificación (LC) se estableció en función de seis veces ese valor de DE. En base a estos parámetros se acepta una adecuada sensibilidad en la detección y cuantificación de los analitos en estudio, encontrándose por debajo de los LMR establecidos por SENASA para estos principios activos (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de maíz y su relación con los LMR establecidos por SENASA.

Principio activo	U%	LC ($\mu\text{g/g}$)	LD ($\mu\text{g/g}$)	LMR ($\mu\text{g/g}$)
Clorpirifós-etil	26,1	0,009	0,0045	0,05
Cipermetrina	26,7	0,006	0,003	0,1
Novalurón	27,3	0,006	0,003	0,5

Resultados y Discusión

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en el cultivo de maíz. No se detectaron residuos de ninguno de los principios activos aplicados en las muestras tomadas de las parcelas testigos sin aplicación de plaguicidas, ni se detectó contaminación cruzada entre las muestras.

Los resultados obtenidos de los análisis muestran niveles no detectables de residuos de los principios activos aplicados en el cultivo de maíz, para las tres campañas agrícolas, dos fechas de siembra y dosis aplicadas. Considerando que los Límites de Detección de la técnica fueron para clorpirifós-etil de 0,0045 µg/g, para cipermetrina y novalurón de 0,003 µg/g, en comparación con los LMR establecidos por SENASA para clorpirifós-etil de 0,05 µg/g, cipermetrina de 0,1 µg/g y para novalurón de 0,5 µg/g, los valores no detectados se encuentran por debajo del LMR. Si analizamos el LMR para las legislaciones de EUA, UE y *Codex*, también podría asegurarse que los niveles se encuentran por debajo del límite permitido (Tabla 1.8).

Los períodos de carencia de estos principios activos en el cultivo de maíz se establecen en 30 días, en el caso de los ensayos de aplicación de plaguicidas se cumplió ya que transcurrieron más de 30 días entre la aplicación y la cosecha (Tabla 4.1), por lo que es de esperar que los niveles de residuos se encuentren por debajo del LMR. Si consideramos que las aplicaciones en este cultivo se realizan en estados vegetativos alejados temporalmente de la cosecha, que los órganos de cosecha no están presentes al momento de la aplicación y que se ha cumplido con el período de carencia establecido, es de esperar bajos o inexistentes niveles de residuos en las muestras a la cosecha.

Los niveles de residuos no detectados de clorpirifós-etil y cipermetrina, concuerdan con trabajos en otras matrices vegetales, tales como berenjenas, chiles, tomates, coles, judías verdes, chimbombo, arándanos y cebollas, en los cuáles no se reportan residuos por encima de los límites permitidos (Martínez Vidal *et al.*, 1998; Putnam *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2006; Iqbal *et al.*, 2007; Pierre y Betancourt, 2007; Samriti *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2011; Mukherjee *et al.*, 2012; Jyot *et al.*, 2013), por lo que la aplicación no parece representar ningún peligro para los consumidores, pero se recomiendan un período de espera mínimo de 1 día para reducir el riesgo ante el consumo (Jyot *et al.*, 2013). Respecto

a otros vegetales, residuos de cipermetrina no se detectaron en zanahorias ni rábanos, (Chapman y Harris, 1981; Ripley *et al.*, 2001) o disminuyeron a concentraciones aceptables dentro del período de carencia (Westcott y Reichle, 1978; Ripley *et al.*, 2001; Arora, 2009, Singh *et al.*, 2009; Kulczycki *et al.*, 2012), estudios en clorpirifós establecen mediante evaluaciones de riesgo que los alimentos son adecuados para el consumo (Zhang *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2012). Estudios de aplicación foliar de clorpirifós-etil en el cultivo de maíz reportan una vida media en el follaje de un día y en el suelo de 4 días para este principio activo (Wauchope *et al.*, 1991). En este estudio no se ha encontrado un efecto de la dosis sobre el nivel de residuos de cipermetrina ya que aún en dosis altas los residuos no fueron detectados al momento de la cosecha, lo cual difiere con otros autores que estudiaron el efecto de la frecuencia, número y dosis de aplicación sobre los residuos de este principio activo (Zhang *et al.*, 2006; Battu *et al.*, 2009).

Respecto a los resultados obtenidos en el cultivo de soja, anteriormente presentados, durante la campaña 2009/2010 se detectaron residuos de cipermetrina y en las campañas 2009/2010 y 2011/2012 también se detectaron residuos de clorpirifós-etil. Este comportamiento diferencial del mismo principio activo podría explicarse por un lado en la presencia del órgano de consumo al momento de la aplicación en el caso de la soja y en las diferencias entre estas especies de cultivos y los métodos empleados, lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Fujita *et al.*, 2012).

Estudios de aplicación de novalurón, arrojan resultados similares a los obtenidos en el presente estudio. En diferentes matrices vegetales los niveles de residuos de este principio activo se encontraron por debajo de los establecidos en las reglamentaciones (Kyung-Won *et al.*, 2011; Kyung-Won *et al.*, 2013) y la vida media se calculó en 3 días aproximadamente con un importante efecto del aumento de peso de las plantas sobre el nivel de residuos de plaguicida. En otros estudios se reportaron vidas medias inferiores (chili y berenjenas) siendo de alrededor de 2 días y los residuos se encontraron por debajo del Límite de Detección en las muestras a los 10 días desde el tratamiento, por lo cual se concluye que el novalurón no posee problemas de toxicidad residual (Das *et al.*, 2007).

Respecto a estos principios activos como contaminantes ambientales, se han encontrado en la bibliografía evidencias de la baja persistencia de clorpirifós y cipermetrina en suelos y agua tras la aplicación en cultivos. En suelos se han encontrado niveles de

residuos de clorpirifós y cipermetrina por debajo de valores detectables el mismo día de aplicación (Mukherjee *et al.*, 2012; Bhattacharjee *et al.*, 2012), tras 7 días (Gupta *et al.*, 2011), 15 días desde la aplicación (Jyot *et al.*, 2013) y a la cosecha (Battu *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012), encontrando algunos autores períodos de hasta 2 meses de persistencia dependiendo del contenido de materia orgánica del suelo y las diferencias de degradación entre los isómeros de cipermetrina (Chapman y Harris, 1981), sin encontrar efecto sobre poblaciones de peces (Shires y Bennett, 1985). En nuestro país estudios en la zona de cultivo de la soja y frutales han detectado residuos en algunas muestras de agua de estos principios activos (Jergentz *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 2005), principalmente clorpirifós con alta frecuencia (Jergentz *et al.*, 2005; Loewy *et al.*, 2011). En base a múltiples líneas de evidencia, en otros estudios se concluye que no está respaldada por la evidencia científica la presunción de que clorpirifós en los agroecosistemas de maíz dará lugar a la gran mortalidad de la fauna terrestre (Solomon *et al.*, 2001).

Respecto a novalurón, estudios de su degradación en suelos, arrojan resultados de vida media de entre 11 y 60 días dependiendo del tipo de suelo, las dosis de aplicación y los factores bióticos y abióticos, siendo especialmente importante en este principio activo la degradación microbiana en suelos aluviales (Das *et al.*, 2008), sin embargo los niveles de residuos no representan un riesgo importante a nivel ambiental.

Conclusiones

- Los ensayos realizados, formas de aplicación, protocolos de seguridad para el lavado de materiales y manejo de las muestras como así también los controles de calidad realizados se consideran adecuados respecto de evitar la contaminación cruzada.

- La técnica de QuEChERS fue validada para todos los analitos en estudio en la matriz de granos de maíz. Para todos los analitos en granos de maíz se observa un efecto de la matriz ya que la misma es compleja, por lo tanto las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de los niveles de residuos. Novalurón presentó un comportamiento diferente al resto de los principios activos ya que mostró una mayor respuesta en el solvente que en la matriz, lo cual se evidenció con un desplazamiento hacia arriba de la curva correspondiente. Los valores de coeficiente de variación y coeficientes de determinación lineal (R^2) para todas las curvas de calibración se encontraron dentro de los parámetros de aceptación por lo que son adecuadas para la cuantificación de los residuos en el rango lineal de concentraciones establecido para cada principio activo. Los valores de Recuperación porcentual (R%) se encontraron dentro del rango de aceptación establecido por lo que se acepta la exactitud de los resultados. Los valores de Desviación estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron menores en todos los casos a los CV% calculados mediante la ecuación de Horwitz por lo cual se acepta la precisión de los resultados obtenidos. Los valores de Incertidumbre expandida (U%) y los Límites de Detección (LD) y Cuantificación (LC) fueron adecuados para el objetivo propuesto.

- En base a los resultados obtenidos en el presente estudio y lo anteriormente discutido, se puede concluir que las aplicaciones de la mezcla comercial de los principios activos clorpirifós-etil+cipermetrina y del principio activo novalurón en el cultivo de maíz para el control de lepidópteros durante los estadios vegetativos del cultivo, respetando las buenas prácticas agrícolas de aplicación de los plaguicidas, no generan residuos en los granos superiores a los LMR establecidos por la reglamentación Argentina.

CURVAS DE DISIPACIÓN DE RESIDUOS DE INSECTICIDAS APLICADOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE GRANOS DE SOJA Y MAÍZ

Objetivo específico

Caracterizar las curvas de disipación de residuos de insecticidas aplicados durante el almacenamiento de granos de soja y maíz según las indicaciones de uso registradas para Argentina.

Materiales y métodos

Los ensayos de aplicación de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz se realizaron durante el año 2010. Si bien la aplicación de insecticidas en granos almacenados de soja no es una práctica habitual debido a la baja frecuencia con que se detectan insectos en dicho producto, por lo cuál no son una plaga principal como en el caso de maíz, en el presente trabajo de tesis se consideró interesante evaluar el comportamiento de los mismos principios activos, aplicados en iguales dosis y de la misma forma sobre dos matrices de trabajo diferentes. Esto permitiría inferir algún efecto de la especie de grano sobre los niveles de residuos, comparación que no pudo realizarse en las aplicaciones de insecticidas en los cultivos en el campo.

Para los ensayos se dispuso de un galpón con techo y paredes de chapa de zinc debidamente acondicionado con estanterías de aluminio. Se utilizaron baldes plásticos

negros de 20 litros de capacidad con sus respectivas tapas, simulando las condiciones de almacenamiento en silos. Las tapas contaron con perforaciones adecuadas para permitir el intercambio gaseoso. En cada uno de los baldes se colocaron 13 kilogramos de granos pesados previamente en una balanza. Los granos de soja y maíz fueron provistos por el Ing. Agr. Federico Piatti, responsable de la sección soja, trigo y maíz de la EEA INTA Manfredi y contaban con un porcentaje de humedad del 13% en el caso de soja y 14% en caso de maíz. Dichos granos provenían de la cosecha de la campaña 2009/2010 y no habían recibido ningún tratamiento con plaguicidas en poscosecha. Sin embargo, se tomaron muestras testigo y analizaron confirmando la ausencia de residuos en los materiales a utilizar. Los baldes fueron lavados con agua corriente y detergente neutro y luego enjuagados con agua deionizada dejándolos secar en el galpón. Para realizar la aplicación se colocaron los 13 kg de granos correspondientes a cada repetición del tratamiento sobre una placa de polietileno de 100 micrones, obteniendo una profundidad de capa de grano de 1 cm para lograr homogeneidad en la aplicación. Para la preparación del caldo de aplicación se tomó con jeringa o pipeta plástica una alícuota del principio activo a aplicar, en un recipiente limpio se colocó la cantidad de agua necesaria para realizar la solución y se mezcló hasta obtener un líquido homogéneo. Las aplicaciones fueron realizadas con pulverizador manual tipo Gerber de 1,5 litros de capacidad. Una vez aplicado el plaguicida se mezcló vigorosamente haciendo rodar los granos por la placa a fin de distribuir el producto y luego se colocaron a los granos en el balde correspondiente debidamente etiquetado y se tapó.

Los insecticidas aplicados fueron algunos de los utilizados en la República Argentina para el control de insectos en los granos almacenados (CASAFE, 2009), en todos los casos se utilizaron marcas comerciales disponibles en el mercado: clorpirifós-metil + deltametrina (EC, 14,5% + 0,65%), pirimifós-metil (EC, 50%), deltametrina + butóxido de piperonilo (EC, 2,5% + 20%), diclorvós (DDVP) (EC, 100%) y diclorvós + deltametrina (EC, 90% + 0,3%). Las dosis aplicadas fueron las máximas recomendadas en el marbete de cada producto siendo, para pirimifós-metil de 10 cc/tn de grano en 500 cc de agua, para clorpirifós-metil+deltametrina de 20 cc/tn de grano en 400 cc de agua, para deltametrina+butóxido de piperonilo de 20 cc/tn de grano en 400 cc de agua, para de diclorvós 20 cc/tn de grano en 1000 cc de agua y para diclorvós+deltametrina de 20 cc/tn de grano en 500 cc de agua. Las dosis de aplicación también pueden expresarse en gramos

de principio activo por tonelada (gr/tn). Estas dosis son las que aseguran el mayor período de protección contra las plagas. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento y se contó con un testigo por triplicado sin aplicación de plaguicidas.

El armado de los ensayos se realizó el día 1° de septiembre de 2010 (día 0). Ese mismo día se aplicaron los principios activos en las dosis descritas en granos de soja y maíz. Se taparon los tarros y colocaron en las estanterías debidamente etiquetados. Las muestras se tomaron con calador apropiado tal como se describió en el Capítulo II (Metodología General), a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación a fin de poder cuantificar los residuos presentes y caracterizar las curvas de disipación para cada uno de los principios activos en estudio en ambas matrices (Tabla 5.1). Las muestras fueron conservadas en freezer a -30°C para su posterior análisis.

Tabla 5.1. Resumen de los datos de principios activos aplicados, dosis teórica, depósito teórico de principio activo, fecha de aplicación, tiempo desde la aplicación y fecha de muestreo de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz.

Principios Activos	Dosis teórica (cc/tn o gr/tn)	Depósito teórico del principio activo (gr/tn)	Fecha de Aplicación (día cero)	Tiempo desde la aplicación (días)	Fecha de muestreo
Clorpirifós-metil (14,5%) + Deltametrina (0,65%)	20	2,9 0,13	01/09/2010	2	03/09/2010
				30	01/10/2010
				60	01/11/2010
				90	01/12/2010
				120	05/01/2011
Pirimifós-metil (50%)	10	5	01/09/2010	2	03/09/2010
				30	01/10/2010
				60	01/11/2010
				90	01/12/2010
				120	05/01/2011
Deltametrina (2,5%) + butóxido de piperonilo	20	0,5	01/09/2010	2	03/09/2010
				30	01/10/2010
				60	01/11/2010
				90	01/12/2010
				120	05/01/2011
Diclorvós	20	20	01/09/2010	2	03/09/2010
				30	01/10/2010
				60	01/11/2010
				90	01/12/2010
				120	05/01/2011
Diclorvós (18%) + Deltametrina (0,3%)	20	18 0,06	01/09/2010	2	03/09/2010
				30	01/10/2010
				60	01/11/2010
				90	01/12/2010
				120	05/01/2011

Resultados de validación de la técnica

Para la validación de la técnica de QuEChERS para los principios activos pirimifós-metil, diclorvós, deltametrina y clorpirifós-metil en las matrices de granos de soja y maíz se realizaron ensayos de calibración en solvente, ensayos de calibración en matriz y ensayos de fortificación. Los niveles elegidos para estos ensayos fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$, 0,05 $\mu\text{g/g}$, 0,1 $\mu\text{g/g}$, 1 $\mu\text{g/g}$, 3 $\mu\text{g/g}$ y 9 $\mu\text{g/g}$. También se incluyó un nivel cero sin adición de plaguicidas. Para evaluar la influencia de la matriz en la respuesta de los analitos se realizaron curvas de calibración en solvente (tolueno) y extracto de matriz de soja y maíz orgánicos. Se comprobó que todos los analitos analizados en matriz y solvente presentaron efecto de la matriz tanto en granos de soja (Fig. 5.1, 5.2, 5.3, y 5.4) como de maíz (Fig. 5.5, 5.6, 5.7 y 5.8), este comportamiento es esperable ya que se trabajó con matrices complejas. En el rango de concentraciones analizado, se evidencia un aumento de la respuesta de todos los analitos disueltos en la matriz respecto al solvente, lo cual se evidencia en un desplazamiento de la curva correspondiente. Considerando el efecto encontrado, las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de resultados tanto de los ensayos de recuperación como de las muestras de ensayos de aplicación de plaguicidas en almacenamiento, tal como lo recomienda la bibliografía en el tema (Hill y Reynolds, 1999; Anastassiades *et al.*, 2003; *Codex alimentarius*, 2005 CAC/GL 56/2005; AOAC, 2007; Documento SANCO N°10684/2009).

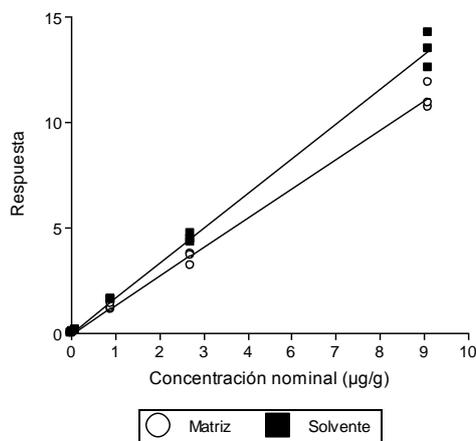


Fig. 5.1. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para pirimifós-metil en granos de soja

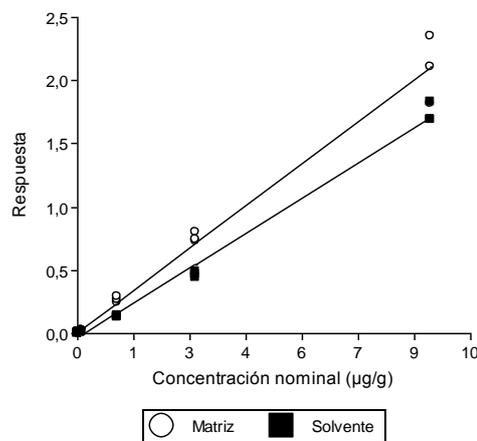


Fig. 5.2. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para diclorvós en granos de soja

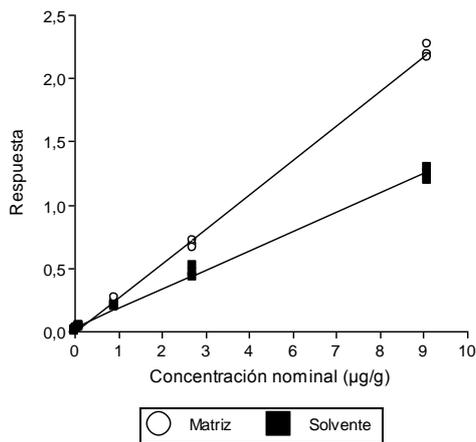


Fig. 5.3. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para deltametrina en granos de soja

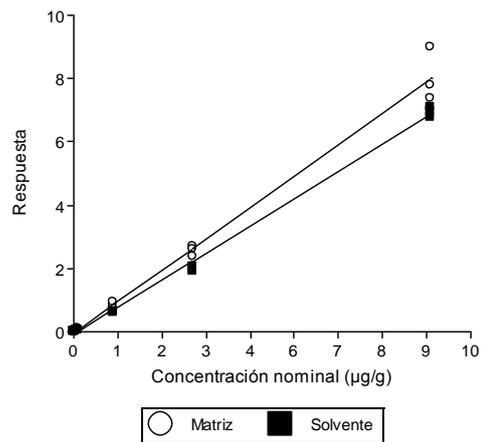


Fig. 5.4. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para clorpirifós metil en granos de soja

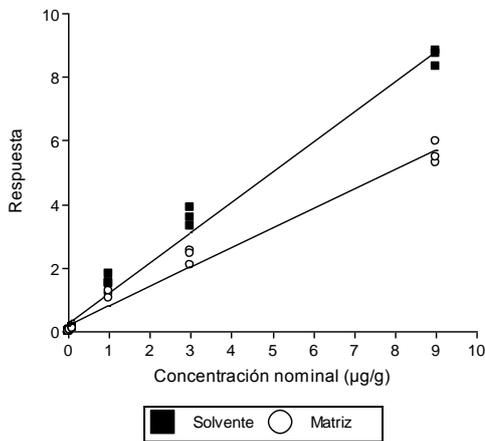


Fig. 5.5. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para pirimifós-metil en granos de maíz

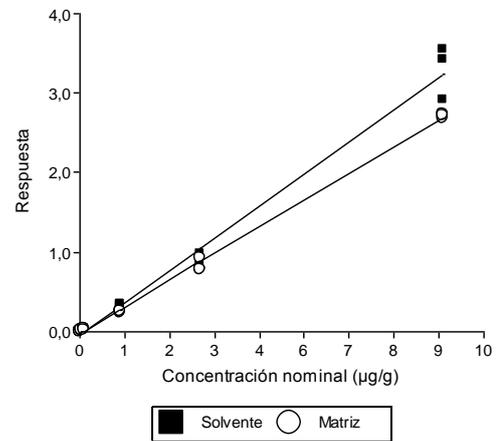


Fig. 5.6. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para diclorvos en granos de maíz

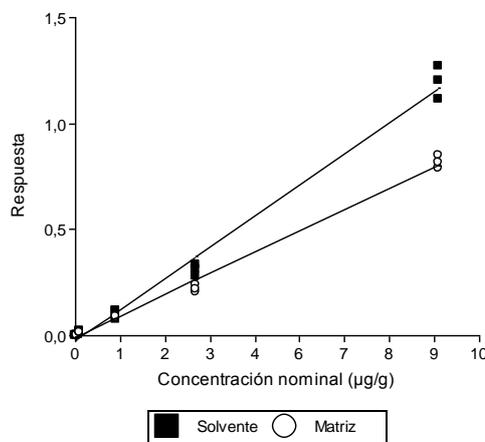


Fig. 5.7. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para deltametrina en granos de soja

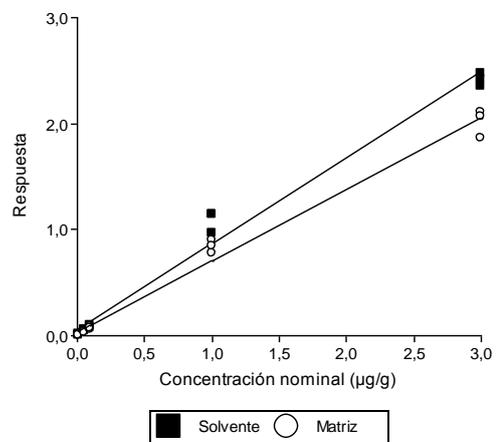


Fig. 5.8. Curvas de calibración en solvente (cuadrado negro) y matriz (círculo blanco) para clorpirifós metil en granos de soja

En las Tablas 5.2. y 5.3 pueden observarse los parámetros que describen el comportamiento lineal de los analitos en función de la respuesta y los rangos de concentración estudiados en las matrices de soja y maíz.

Tabla 5.2. Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz soja
 Ref: a=pendiente b=ordenada al origen ($y= ax+b$) R^2 = coeficiente de determinación lineal

Principio activo	Rango lineal ($\mu\text{g/g}$)	a	b	R^2
Diclorvós	0,01-9	0,23	0,01	0,98
Pirimifós-metil	0,01-9	1,24	-0,03	1
Deltametrina	0,05-9	0,24	-0,002	1
Clorpirifós-metil	0,01-9	0,89	-0,03	0,99

Tabla 5.3 Parámetros que describen el comportamiento lineal de la concentración de los analitos en función de la respuesta cromatográfica y los rangos de concentración estudiados en la matriz maíz
 Ref: a=pendiente b=ordenada al origen ($y= ax+b$) R^2 = coeficiente de determinación lineal

Principio activo	Rango lineal ($\mu\text{g/g}$)	a	b	R^2
Diclorvós	0,01-9	0,37	-0,04	0,99
Pirimifós-metil	0,01-9	0,95	0,27	0,99
Deltametrina	0,1-9	0,13	-0,04	0,99
Clorpirifós-metil	0,01-3	0,81	-0,06	0,98

Los coeficientes de determinación lineal presentaron valores superiores a 0,98 por lo que se comprobó la linealidad de todos los analitos en el rango de concentraciones estudiado (Herrmann y Poulsen, 2009; Hjorth *et al.*, 2010) y esto permite correlacionar linealmente la concentración y la respuesta obtenida ($p<0.05$) (Tablas 5.2 y 5.3).

Los rangos lineales establecidos para la matriz soja fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$ a 9 $\mu\text{g/g}$ para diclorvós, pirimifós-metil y clorpirifós-metil. En el caso del principio activo deltametrina no se logró validar para la menor concentración estudiada por lo que el rango lineal se estableció de 0,05 $\mu\text{g/g}$ a 9 $\mu\text{g/g}$. Los rangos lineales en matriz maíz fueron de 0,01 $\mu\text{g/g}$ a 9 $\mu\text{g/g}$ para diclorvós y pirimifós-metil y de 0,01 $\mu\text{g/g}$ a 3 $\mu\text{g/g}$ para clorpirifós-metil. El rango lineal de deltametrina fue de 0,1 $\mu\text{g/g}$ a 9 $\mu\text{g/g}$ ya que no se detectaron las concentraciones nominales de 0,01 $\mu\text{g/g}$ y 0,05 $\mu\text{g/g}$. Se presentaron por lo tanto

dificultades analíticas para la detección de deltametrina en concentraciones bajas para ambas matrices.

Los valores de Coeficiente de Variación (CV%) obtenidos en los ensayos de calibración en matriz en granos de soja (Tablas 5.4, 5.5, 5.6 y 5.7) y maíz (Tablas 5.8, 5.9, 5.10 y 5.11) para los principios activos en estudio se encontraron en casi todos los casos por debajo del 20% acorde a lo establecido como criterio de aceptación (Documento SANCO N°10684/2009). Este valor fue superado en el caso de pirimifós-metil y deltametrina para la concentración de 0,1 µg/g en la matriz soja (CV% 20,3%) y en el caso de clorpirifós-metil para la concentración de 0,01 µg/g en la matriz maíz (CV% =20,6%).

Tabla 5.4. Concentración nominal (µg/g), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo diclorvós en granos de soja

Conc. nominal (µg/g)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,0024	0,0001	2,4
0,05	0,0091	0,0006	6,7
0,1	0,0222	0,0023	10,2
1	0,2675	0,0256	9,5
3	0,7554	0,0356	4,7
9	2,0924	0,2629	12,6

Tabla 5.5. Concentración nominal (µg/g), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo pirimifós-metil en granos de soja

Conc. nominal (µg/g)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,012	0,002	16,9
0,05	0,059	0,008	13,7
0,1	0,117	0,024	20,3
1	1,220	0,129	10,6
3	3,548	0,306	8,6
9	11,16	0,629	5,6

Tabla 5.6. Concentración nominal (µg/g), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo deltametrina en granos de soja.

Conc. nominal (µg/g)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,05	0,028	0,005	15,9
0,1	0,030	0,006	20,3
1	0,244	0,019	7,6
3	0,688	0,026	3,8
9	2,207	0,053	2,4

Tabla 5.7. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-metil en granos de soja

Conc. Nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,008	0,001	12,5
0,05	0,036	0,003	6,9
0,1	0,072	0,005	6,9
1	0,848	0,097	11,5
3	2,552	0,165	6,5
9	8,048	0,831	10,3

Tabla 5.8. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo diclorvós en granos de maíz

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,006	0,001	12,9
0,05	0,017	0	0
0,1	0,032	0,001	3,6
1	0,332	0,016	4,7
3	0,909	0,064	7
9	3,296	0,345	10,5

Tabla 5.9. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo pirimifós-metil en granos de maíz

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,008	0,001	3,1
0,05	0,059	0,006	10,9
0,1	0,144	0,004	2,6
1	1,609	0,168	10,5
3	3,597	0,296	8,2
9	8,620	0,256	3

Tabla 5.10. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo deltametrina en granos de maíz.

Conc. nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,1	0,018	0,004	20
1	0,111	0,005	4,9
3	0,307	0,029	9,4
9	1,194	0,080	6,7

Tabla 5.11. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), respuesta promedio, desvío estándar de la respuesta (D.E.) y coeficiente de variación (CV%) para la curva de calibración en matriz del principio activo clorpirifós-metil en granos de maíz.

Conc. Nominal ($\mu\text{g/g}$)	Respuesta Promedio	D.E. de la Respuesta	CV%
0,01	0,006	0,001	20,6
0,05	0,044	0,006	12,6
0,1	0,083	0,008	9,1
1	1,082	0,097	9
3	2,412	0,067	2,8

Los ensayos de recuperación fueron realizados en ambas matrices para evaluar la exactitud, precisión, estimar la Incertidumbre y establecer los Límites de Detección (LD) y Límites de Cuantificación (LC) del método.

En el caso de la matriz soja, los valores de recuperación para pirimifós-metil se encontraron entre el 87,3% y 105,5% con una recuperación promedio de 95,6% (Tabla 5.12), para diclorvós entre el 82,3% y 102,8%, con recuperación promedio del 92,9% (Tabla 5.13), para deltametrina oscilaron entre el 79,7% y 108,5% con una recuperación promedio del 95,2% (Tabla 5.14) y para clorpirifós-metil entre el 83,3% y 105,4% con recuperación promedio del 95,6% (Tabla 5.15). Los porcentajes de recuperación hallados se encuentran dentro del rango de aceptación establecido entre el 70% y 120%, por lo tanto se acepta la exactitud de los resultados obtenidos. Se acepta la precisión de los resultados en soja ya que la Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fue menor a los CV% calculados mediante la fórmula de Horwitz (Herrmann y Poulsen, 2009).

Tabla 5.12. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para diclorvós en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calc.	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	87,7	0,008	0,002	25	33,1	22,2
0,05	85	0,043	0,003	7	25,6	14
0,1	95,5	0,096	0,007	7,3	22,8	14,6
1	82,3	0,852	0,113	13,3	16,3	26,5
3	101,3	3,038	0,380	12,5	13,6	25
9	102,8	9,247	0,556	6	11,4	12

Tabla 5.13. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para pirimifós-metil en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calc.	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	94,2	0,010	0,001	10	32	20
0,05	92,8	0,047	0,008	17	25,3	34
0,1	87,3	0,087	0,009	10,3	23,1	20,7
1	97,4	0,974	0,099	10,2	16	20,3
3	105,5	3,165	0,265	8,4	13,5	16,8
9	96,4	8,582	1,075	12,5	11,6	25

Tabla 5.14. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida U%) para deltametrina en granos de soja.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calc.	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,05	90,9	0,045	0,007	15,6	25,3	31,1
0,1	79,7	0,080	0,005	6,3	23,4	12,5
1	92,3	0,923	0,071	7,7	16	15,4
3	108,5	3,256	0,098	3	13,4	6
9	104,5	9,407	0,726	7,7	11,5	15,4

Tabla 5.15. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-metil en granos de soja

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	83,3	0,008	0,001	12,5	33,1	25
0,05	94,2	0,047	0,003	6,4	25,3	12,8
0,1	95,6	0,096	0,011	11,5	22,8	22,9
1	89,8	0,898	0,051	5,7	16,2	11,4
3	105,4	3,163	0,209	6,6	13,5	13,2
9	105,3	9,481	0,783	8,3	11,4	16,5

En el caso de granos de maíz los valores de recuperación para todos los principios activos se encontraron dentro del rango de aceptación de entre 70% y 120%, siendo para pirimifós-metil entre el 70% y 97,3% con recuperación promedio del 87,05% (Tabla 5.16), para diclorvós se encontraron entre el 78% y 102,8% y la recuperación promedio fue del 91,27% (Tabla 5.17), para deltametrina estuvieron entre el 93,9% y 103,7% con una recuperación promedio del 95,2% (Tabla 5.18) y para clorpirifós-metil tuvo valores entre el 78% y 99,9% siendo la recuperación promedio del 87,22% (Tabla 5.19). Los resultados

coinciden con lo reportado por trabajos similares en la validación de la técnica de QuEChERS en cereales (Guan *et al.*, 2009; Herrmann y Poulsen, 2009; Mastovska *et al.*, 2010). Los valores de Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron en todos los casos menores a los a los CV% calculados mediante la fórmula de Horwitz por lo que se acepta la precisión de los resultados de acuerdo al criterio de los reportes de validación de la Unión Europea (Herrmann y Poulsen, 2009).

Tabla 5.17. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para diclorovós en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	90	0,009	0,001	11,1	32	22,2
0,05	78	0,039	0,003	7,7	25,1	15,4
0,1	78	0,078	0,009	11,5	22,6	23,1
1	102,3	1,024	0,134	13,1	16	26,2
3	102,8	3,084	0,312	10,1	13,5	20,2
9	96,4	8,680	0,570	6,6	11,5	13,1

Tabla 5.16. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para pirimifós-metil en granos de maíz

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	90	0,008	0,002	25	33	22,2
0,05	70	0,035	0,001	2,9	26,3	5,7
0,1	80	0,080	0,010	12,5	23,3	25,0
1	97,3	0,973	0,074	7,6	16	15,2
3	89,4	2,681	0,332	12,4	13,7	24,8
9	95,7	8,609	0,197	2,3	11,7	4,6

Tabla 5.18. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para deltametrina en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,1	96	0,096	0,018	18,8	22,6	37,5
1	93,9	0,939	0,105	11,2	16,2	22,4
3	103,7	3,109	0,005	0,1	13,7	0,3
9	87,1	7,840	0,418	5,3	11,7	10,7

Tabla 5.19. Concentración nominal ($\mu\text{g/g}$), Recuperación porcentual media (R% media), media calculada, desvío estándar (D.E.), Desviación Estándar Relativa porcentual (Relative Standar Deviation RSD%), Coeficiente de Variación de Horwitz (CV% Horwitz) e Incertidumbre expandida (U%) para clorpirifós-metil en granos de maíz.

Conc Nominal ($\mu\text{g/g}$)	R% media	Media calculada	D.E.	RSD %	CV% (Horwitz)	U%
0,01	90	0,009	0,001	11,1	32,4	22,2
0,05	78	0,039	0,004	10,3	26	20,5
0,1	85	0,085	0,017	20	23,1	31,8
1	99,9	0,999	0,137	13,7	16	27,4
3	83,2	2,496	0,294	11,8	13,9	23,6

Los valores de incertidumbre expandida (U%) se encontraron por debajo del 50%, aceptado como valor máximo (Resolución SENASA 138/2002; Documento SANCO N°10684/2009) y se establecieron para el método en función del mayor valor de incertidumbre calculado de las concentraciones nominales en ensayo. Los valores son aceptables por lo que el método puede ser utilizado para el análisis de residuos de plaguicidas de los principios activos en estudio en matriz soja (Tabla 5.20) y maíz (Tabla 5.21).

El valor de Límite de Detección (LD) se determinó en función de tres veces el desvío estándar del menor nivel validado para precisión y exactitud a través del ensayo de recuperación y el Límite de Cuantificación (LC) se estableció en función de seis veces este DE. En base a estos parámetros se acepta una adecuada sensibilidad en la detección y cuantificación de los analitos en estudio, encontrándose por debajo de los LMR establecidos por SENASA para estos principios activos (Tablas 5.20 y 5.21). Sin embargo, analizando los valores de depósito teórico (Tabla 5.1) podrían existir limitaciones en la cuantificación de deltametrina al 0,3% en granos de maíz ya que el depósito esperado de 0,06 gr/tn se encuentra por debajo del LD establecido en 0,108 $\mu\text{g/g}$.

Tabla 5.20. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de soja y su relación con los LMR establecidos por SENASA.

Principio activo	U%	LC ($\mu\text{g/g}$)	LD ($\mu\text{g/g}$)	LMR ($\mu\text{g/g}$)
Pirimifós-metil	34	0,006	0,003	10
Diclorvós	26,5	0,012	0,006	5
Deltametrina	31,1	0,042	0,021	0,02
Clorpirifós-metil	22,9	0,006	0,003	5

Tabla 5.21. Incertidumbre expandida (U%), Límite de Cuantificación (LC) y Límite de Detección (LD) para los principios activos en granos de maíz y su relación con los LMR establecidos por SENASA.

Principio activo	U%	LC (µg/g)	LD (µg/g)	LMR (µg/g)
Pirimifós-metil	25	0,012	0,006	10
Diclorvós	26,2	0,006	0,003	5
Deltametrina	37,5	0,108	0,054	1
Clorpirifós-metil	31,8	0,006	0,003	5

Resultados y Discusión

Los niveles de residuos de los plaguicidas se expresan en µg/g (equivalente a mg/kg o partes por millón). En todos los casos, el primer muestreo se realizó a los 2 días desde la aplicación, considerando que este es el período de espera medio recomendado para los plaguicidas aplicados en almacenamiento, excepto para aquellos que contienen diclorvós, en los cuáles el período de carencia es de 20 a 30 días.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó a través de un análisis de la varianza teniendo en cuenta que las mediciones estaban correlacionadas por lo que se ajustó un modelo lineal mixto sujeto específico con comparaciones múltiples de LSD Fisher con un nivel de significancia del 5%. Se analizó la influencia de los días desde la aplicación, de las diferentes matrices (soja y maíz), las dosis y la interacción dosis*tiempo desde la aplicación en los casos en que fue posible.

En todos los tratamientos realizados se analizaron la media y desvío estándar de los niveles de residuos a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación, el porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos), tomando como 100% de los residuos el valor a los 2 días desde la aplicación (0% de desaparición de los residuos) y la tasa de disipación diaria (TDD), calculada como la diferencia de los residuos obtenidos entre las mediciones sucesivas dividido el total de días transcurridos entre las mismas.

Residuos de pirimifós-metil

Las características del principio activo pirimifós-metil ha sido descritas en la introducción del presenta trabajo de tesis. Según su recomendación de uso, no se establecen períodos de carencia para dicho principio activo pero se recomienda dejar transcurrir de 20 a 30 horas entre la aplicación y el consumo (Novo *et al.*, 2011), aunque trabajos señalan que el amplio período de protección de este producto guarda relación con la persistencia de sus residuos (Lucini y Molinari, 2011).

Los niveles de residuos de pirimifós-metil en las muestras de granos de maíz y soja presentaron una dinámica de disipación en la cual a medida que transcurren los días desde la aplicación los niveles de residuos disminuyen (Tabla 5.22).

Tabla 5.22. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$), porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos) y tasa de disipación diaria (TDD) de pirimifós-metil en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= 10 $\mu\text{g/g}$. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,006 $\mu\text{g/g}$ y LD soja=0,003 $\mu\text{g/g}$), <LC menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,012 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,006 $\mu\text{g/g}$).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Maíz % desap. Residuos	Maíz TDD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$)	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja % desap. Residuos	Soja TDD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$)
Pirimifós	Pirimifós	2	5,10 \pm 0,42 a	0	0,056	5,17 \pm 1,73 a	0	0,073
Pirimifós	Pirimifós	30	3,54 \pm 0,43 b	30,6	0,067	3,12 \pm 0,80 b	39,7	0,072
Pirimifós	Pirimifós	60	1,52 \pm 0,31 c	70,2	0,0027	0,95 \pm 0,36 c	81,6	0,009
Pirimifós	Pirimifós	90	0,72 \pm 0,23 d	85,9	0,0024	0,69 \pm 0,30 c	86,7	0,023
Pirimifós	Pirimifós	120	<LC	100		<LC	100	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en cada matriz, entre tiempos desde la aplicación

Los residuos encontrados a los dos días de la aplicación superan levemente al depósito teórico inicial esperado de acuerdo al porcentaje de principio activo aplicado en la dosis tanto en granos de maíz como de soja (Tabla 5.1). Sin embargo, los residuos de pirimifós-metil detectados se encontraron por debajo del LMR aceptado por SENASA (10 $\mu\text{g/g}$), los EUA (8 $\mu\text{g/g}$) y Codex (7 $\mu\text{g/g}$) a partir de 2 días desde la aplicación, mientras que superarían levemente a los establecidos para la UE (5 $\mu\text{g/g}$).

Analizando los resultados obtenidos en granos de maíz, se encontró influencia ($p < 0,05$) de los días desde la aplicación sobre el nivel de residuos a los 2, 30, 60 y 90 días y los residuos se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación (LC=0,012 $\mu\text{g/g}$) a los 120 días (Tabla 5.22 y Fig. 5.9).

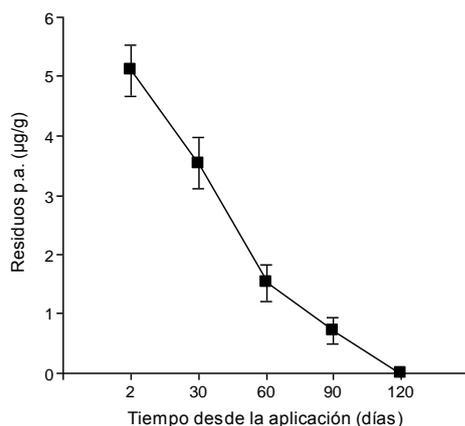


Fig. 5.9. Curva de disipación (Medias y DE) de residuos de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= 10 µg/g.

Los valores de Coeficiente de Variación para las mediciones a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 8%, 12%, 21% y 32% respectivamente lo cual se considera adecuado para este tipo de ensayos experimentales, ya que coincide con lo reportado por otros autores, los cuales detectaron alta variabilidad en los resultados debido a la falta de uniformidad en la aplicación de plaguicidas ya que los volúmenes de granos y las dosis utilizadas son muy pequeñas comparadas a condiciones reales de almacenamiento (Lucini y Molinari, 2011). Los porcentajes de desaparición de los residuos de pirimifós-metil fueron del 30,6% a los 30 días, 70,2% a los 60 días, 85,9% a los 90 días y 100% a los 120 días desde la aplicación (Fig. 5.10).

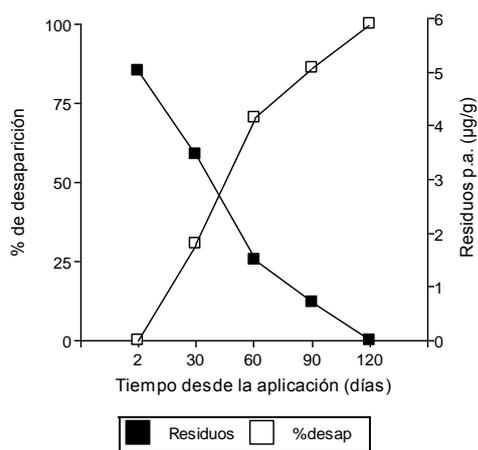


Fig 5.10. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

Otros autores han encontrado tasas de disipación menores de los residuos de pirimifós-metil aplicado en almacenamiento (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009). En algunos casos se encontró un 50% del contenido inicial de residuos tras 6 meses de almacenamiento en cereales como trigo, maíz y arroz (Singh y Chawla, 1980), en otros casos se alcanzó valores del 87% después de 8 meses en granos de maíz (Yeboah *et al.*, 1992). En estudios similares se han detectado residuos entre un 35% y 54% de la concentración inicial después de 127 a 270 días de almacenamiento en trigo (White *et al.*, 1997; Balinova *et al.*, 2006; Fleurat-Lessard *et al.*, 2007; Lucini y Molinari, 2011) llegando a la conclusión en algunos trabajos que el almacenamiento no fue suficientemente eficaz para reducir los residuos por debajo del LMR establecido (Uygun *et al.*, 2008). Para otros principios activos del grupo de los órganofosforados se han encontrado pérdidas del 64% de los residuos en granos de maíz luego de 12 meses (Lalah y Wandiga, 2002). Estudios de disipación de pirimifós-metil en granos de maíz reportan la persistencia del insecticida en los primeros 30 días después de la aplicación, con aproximadamente un 17% de reducción y la degradación se acentuó entre los 30 y 60 días, presentando una reducción de alrededor del 56% de los residuos iniciales (Sgarbiero *et al.*, 2003), es decir valores menores a los encontrados en el presente estudio (70% de reducción a los 60 días). Se han estudiado también las altas tasas de desaparición de residuos por la aplicación de prácticas de procesamiento de los alimentos (Holland *et al.*, 1994; Fleurat-Lessard *et al.*, 2007; Kaushik *et al.*, 2009). Sin embargo, debemos considerar que si estos alimentos están destinados a grupos de riesgo, para los cuales los LMR son menores que para la población en general, aún con las prácticas de procesamiento quedan residuos en los granos excediendo el LMR (Balinova *et al.*, 2006).

Considerando que la cinética de disipación consta de tres fases, la “fase de desprendimiento” que se debe principalmente a causas mecánicas; la “fase de degradación” la cual se debe a causas físicas y químicas; y por último la “fase de persistencia” que esta determinada por el bloqueo del plaguicida en el vegetal (Coscollá, 1993), es posible establecer a partir de la Tasa de Disipación (TDD) calculada para pirimifós-metil en granos de maíz (Fig. 5.11) las fases anteriormente descritas. Durante el período de 2 a 30 días y de 30 a 60 días se encontraron valores de TDD más altos, coincidiendo con la “fase de degradación” (0,056 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ y 0,067 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ respectivamente) y disminuyeron a medida que transcurrió el tiempo desde la aplicación, siendo de 0,027 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los

60 y 90 días y de $0,024 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 90 y 120 días, considerando estos como la “fase de persistencia”.

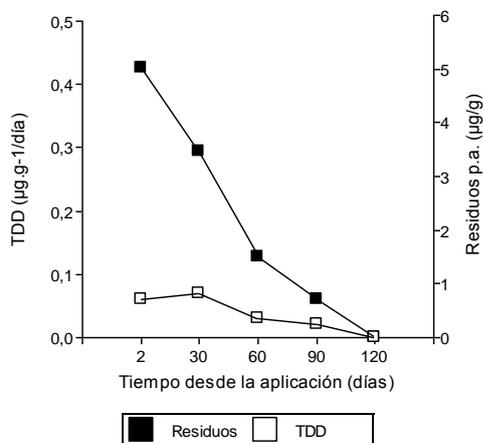


Fig 5.11. Tasa de Disipación Diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de pirimifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

Los niveles de residuos de pirimifós-metil en granos de soja se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA ($10 \mu\text{g}/\text{g}$) a partir de los 2 días desde la aplicación (Tabla 5.22 y Fig. 5.12), con influencia del tiempo desde la aplicación sobre los niveles de residuos ($p < 0,05$) siendo las medias diferentes entre los 2, 30 y 60-90 días. Los residuos a los 120 días estuvieron por debajo del Límite de Cuantificación de la técnica ($0,006 \mu\text{g}/\text{g}$). Los coeficientes de variación a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 33%, 26%, 38% y 44%, siendo acordes a lo esperado para aplicaciones de plaguicidas en ensayos experimentales.

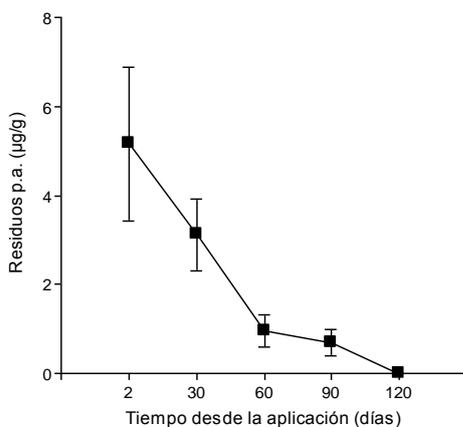


Fig. 5.12. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= $10 \mu\text{g}/\text{g}$.

Los porcentajes de desaparición de los residuos fueron del 40% a los 30 días, 81,6% a los 60 días, 86,7% a los 90 días y 100% a los 120 días (Fig. 5.13) los cuales son mayores a los reportados para otros principios activos del grupo de los organofosforados, con pérdidas del 47% de los residuos iniciales en soja tras 12 meses de almacenamiento (Lalah y Wandiga, 2002).

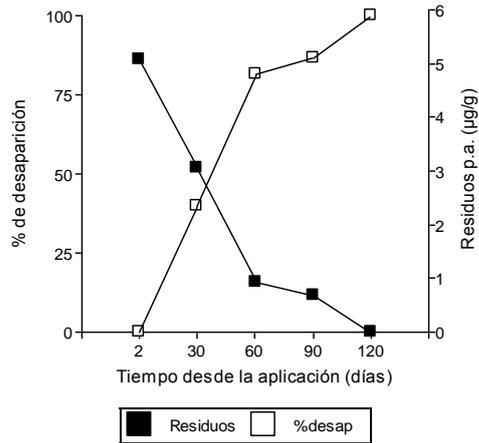


Fig 5.13. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

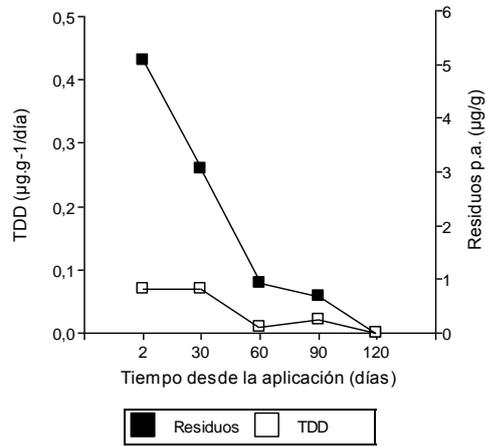


Fig. 5.14. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de pirimifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.

La TDD en el caso de soja fue más alta en los períodos de 2 a 30 días ($0,073 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$) y 30 a 60 días ($0,072 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$) correspondiendo a la “fase de degradación” de la curva de disipación y los valores fueron menores en el resto de los períodos analizados considerando estos como la “fase de persistencia” (Fig. 5.14).

Comparando ambas matrices de trabajo, los niveles iniciales de residuos presentaron valores similares. Para este principio activo no se detectó una influencia significativa ($p < 0,05$) de la matriz ni de la interacción matriz*tiempo desde la aplicación en el nivel de residuos (Fig. 5.15).

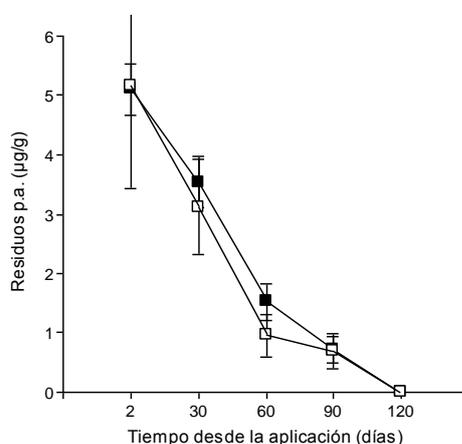


Fig. 5.15. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de pirimifós-metil en granos de soja (cuadrado blanco) y maíz (cuadrado negro) a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= 10 µg/g.

Considerando la TDD inicial el período de carencia teórico para alcanzar el LMR establecido por la UE en $5 \mu\text{g}/\text{g}$ sería de 4 días en granos de maíz y soja.

Existen estudios que destacan la influencia de las diferentes especies y cultivares en la penetración de pirimifós-metil, debido a características de las estructuras vegetales (Yagüe, 1989; Lucini y Molinari, 2011) aunque en el presente trabajo el comportamiento fue similar para ambas matrices. En la bibliografía se citan disminuciones del nivel de residuos para insecticidas órganofosforados en granos del 50% al 86% tras 5 a 8 meses de almacenamiento dependiendo del plaguicida, la formulación aplicada, la temperatura y humedad de almacenamiento, el contenido de humedad del grano y el tipo de granos

(Holland *et al.*, 1994); en los resultados del presente trabajo para ambas matrices los niveles de residuos a los 4 meses (120 días) ya se encuentran por debajo del Límite de Cuantificación establecido en la validación de la técnica en 0,012 µg/g para maíz y 0,006 µg/g para soja. Algunos autores desarrollaron un modelo ajustado de disipación en maíz bajo la influencia de la duración de almacenamiento, en condiciones de diferentes temperaturas considerando el tipo de grano para pirimifós-metil, siendo estos los principales factores establecidos para la disipación en dicho modelo en el cuál a mayor temperatura la pérdida de residuos es mayor (Morton *et al.*, 2001).

En otros estudios en muestras de granos de maíz y alimentos obtenidas en mercado los residuos de pirimifós-metil fueron los mas frecuentes, lo que puede deberse a la gran cantidad de aplicaciones en poscosecha, y si bien, los niveles encontrados no excedían los LMR, es importante considerar que pueden ser dañinos para la salud humana por el “efecto cóctel” de varios plaguicidas acumulados en el cuerpo y sus efectos combinados de adición o sinergismo (González Curbelo *et al.*, 2012; Ogah y Coker, 2012). Cálculos de ingesta de plaguicidas a través de productos derivados del trigo en otros países, concluyen que los plaguicidas órganofosforados, entre ellos el pirimifós-metil, deben ser considerados debido a su presencia en los productos de consumo, pero en todos los casos las ingestas calculadas no superaron el 10% de la IDA (Harcz *et al.*, 2007).

En la presente investigación se ha realizado una simulación del almacenamiento, sin embargo, las características reales del volumen de granos manejado, la forma de aplicación de los plaguicidas, la mezcla de granos dentro de las estructuras de almacenamiento, el movimiento y aireación, entre otras condiciones, pueden ocasionar que bajo prácticas reales los niveles de residuos, de todos los principios activos estudiados, sean menores a los encontrados en este estudio, al igual que concluyen otros autores (Lucini y Molinari, 2011).

Residuos de diclorvós

El insecticida diclorvós posee un gran poder de volteo y un período de protección de 15 días sobre los granos almacenados. Su período de carencia se establece entre 20 y 30 días desde la aplicación siendo de 20 días para la dosis menor de 10 cc/tn y 30 días para 20 cc/tn, dosis utilizada en el presente estudio (Novo *et al.*, 2011). Las dinámicas de

disipación de los residuos son similares en las matrices de grano de maíz y soja, siendo mayores los niveles iniciales de residuos en granos de maíz (Tabla 5.23).

Tabla 5.23. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$), porcentaje de desaparición de residuos (% desap. Residuos) y tasa de disipación diaria (TDD) de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= 5 $\mu\text{g/g}$. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,003 $\mu\text{g/g}$ y LD soja= 0,006 $\mu\text{g/g}$), <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,006 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,012 $\mu\text{g/g}$).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Maíz % desap. Residuos	Maíz TDD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$)	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja % desap. Residuos	Soja TDD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$)
Diclorvós	Diclorvós	2	9,27 \pm 1,78 a	0	0,225	6,76 \pm 2,14 a	0	0,181
Diclorvós	Diclorvós	30	2,97 \pm 0,27 b	68	0,086	1,68 \pm 0,65 b	75,1	0,042
Diclorvós	Diclorvós	60	0,38 \pm 0,15 c	95,9	0,012	0,41 \pm 0,21 b	93,9	0,010
Diclorvós	Diclorvós	90	0,02 \pm 0,02 c	99,8	0,001	0,10 \pm 0,07 b	98,5	0,003
Diclorvós	Diclorvós	120	<LC	100		<LC o ND	100	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en cada matriz entre tiempos desde la aplicación

Los niveles iniciales de residuos encontrados a los dos días de la aplicación son menores al depósito teórico esperado de 20 gr/tn, lo cuál podría relacionarse a la alta volatilidad de este principio activo.

Los residuos de diclorvós en granos de maíz superaron el LMR establecido por SENASA y Codex (5 $\mu\text{g/g}$) a los 2 días desde la aplicación, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en los niveles de residuos a los 2, 30, 60 y 90 días. Los valores disminuyen por debajo de este LMR a los 30 días desde la aplicación con lo cuál estos granos cumplirían con la reglamentación una vez transcurrido el período de carencia de 30 días (Fig. 5.16). Sin embargo si comparamos estos valores con el LMR establecido para la UE en 0,01 $\mu\text{g/g}$, considerando la TDD, luego de 100 días de almacenamiento en el caso de maíz y 120 días en el caso de soja se alcanzaría un valor adecuado, lo cuál es importante cuando los granos se destinan a la exportación hacia dicho mercado. Los valores de residuos encontrados a los 120 días se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación del método (0,006 $\mu\text{g/g}$). Los coeficientes de variación a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 19,2%, 9%, 39,8% y 65% acorde a los esperado por el tipo de ensayos realizados.

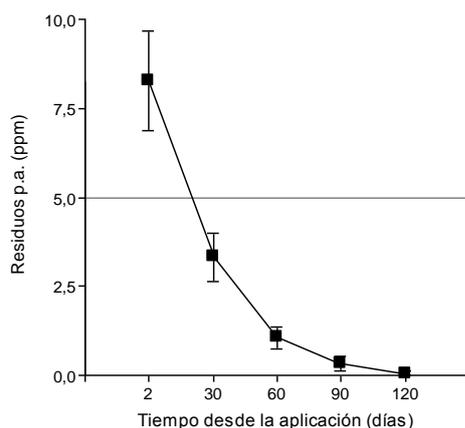


Fig. 5.16. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. LMR SENASA= 5 µg/g.

En estudios anteriores se han reportado niveles de residuos de diclorvós en muestras de ensayos experimentales en maíz, por debajo del LMR a los 60 y 90 días desde la aplicación, estableciéndose la influencia de los días de almacenamiento sobre el nivel de residuos (Strada *et al.*, 2012). En estudios en trigo se reportan resultados similares con niveles de residuos aceptables en condiciones de almacenamiento a 25°C y 12% de humedad de los granos (Elms *et al.*, 1972) y residuos menores a 5 ppm a los 7 días y niveles no detectables tras 30 días de almacenamiento (Cogburn y Simonaitis, 1975;), sin embargo estos estudios son antiguos y no deberían utilizarse como una referencia actual debido al gran avance en materia analítica en la determinación de residuos de plaguicidas y la mayor exigencia en los estándares de inocuidad alrededor del mundo.

Los porcentajes de desaparición de residuos fueron del 68% a los 30 días, 95,9% a los 60 días, 99,8% a los 90 días y 100% a los 120 días desde la aplicación (Fig. 5.17), lo cual concuerda con otros estudios que revelan una disminución de los residuos de diclorvós del 96% entre los 60 días y 90 días (Strada *et al.*, 2012).

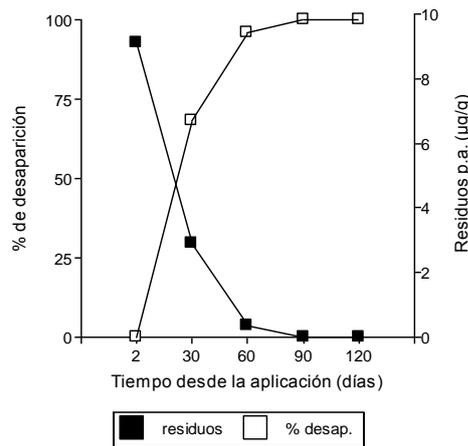


Fig. 5.17. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.

La TDD de los residuos fue mayor entre los 2 y 30 días siendo de $0,225 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ (“fase de degradación”) y disminuyó a medida que transcurrió el tiempo desde la aplicación, siendo de $0,086 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 30 y 60 días, de $0,012 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 60 y 90 días y de $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 90 y 120 días (“fase de persistencia”) (Fig. 5.18). La vida media reportada para diclorvós en trigo es de 2 semanas en condiciones de almacenamiento con una temperatura de 30°C y 50% de humedad relativa (Desmarchelier citado por Holland, 1994). En este estudio, utilizando la TDD máxima la vida media calculada fue de 20 días.

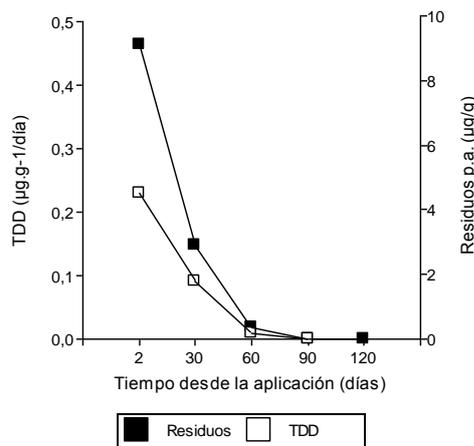


Fig. 5.18. Tasa de desaparición diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación.

Si bien en el presente estudio los niveles de residuos fueron aceptables una vez transcurrido el período de carencia, en estudios de monitoreo en otros países, se han detectado residuos de diclorvos en un 37 % de las muestras de maíz comercial y el 4% de estas excedían el LMR establecido (de 2 mg/kg para el estudio en cuestión), por lo cual informan los autores, estos alimentos estarían adulterados ya que contienen cantidades ilegales de residuos, lo cual puede ser debido a un abuso en la aplicación de estos insecticidas pudiendo producir problemas de comercio internacional considerando el estándar de cada país (Ogah y Coker, 2012).

En el caso de granos de soja los residuos de diclorvos se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA y Codex (5 µg/g) a partir de los 30 días desde la aplicación, con lo cuál estos granos estarían en condiciones de ser consumidos una vez transcurrido el período de carencia establecido en 30 días para la dosis aplicada, sin embargo en granos destinados a la exportación es importante verificar el LMR del país de destino, tal como se discutió anteriormente. Los valores encontrados fueron significativamente diferentes solo a los 2 días desde la aplicación en relación a los 30, 60 y 90 días ($p < 0,05$). A los 120 días los residuos se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación del método (0,012 µg/g) o no fueron detectados (Fig. 5.19). Los coeficientes de variación a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 31,7%, 38,5%, 50,5% y 73% respectivamente acorde a lo esperado por el tipo de ensayos realizados.

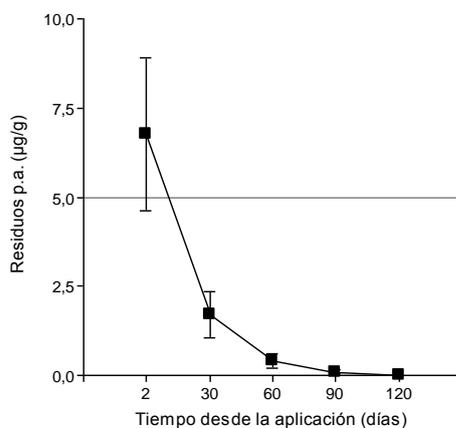


Fig. 5.19. Curva de disipación (Media y DE) de residuos de diclorvos en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. LMR SENASA= 5 µg/g

El 75,1% de los residuos de diclorvós en granos de soja habían desaparecido a los 30 días desde el almacenamiento, el 93,9% a los 60 días, el 98,5% a los 90 días y el 100% a los 120 días, por lo que los residuos finales son similares en ambas matrices (Fig. 5.20).

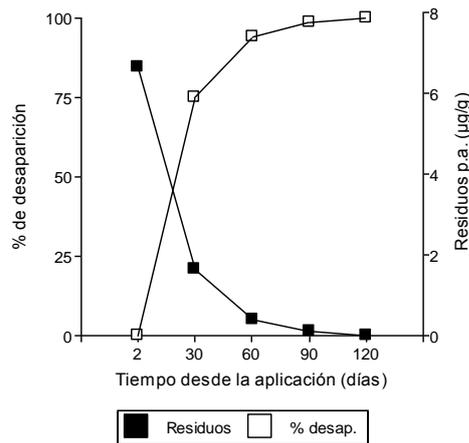


Fig. 5.20. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD en granos de soja fue menor a la encontrada en maíz siendo de $0,181 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ en el período de 2 a 30 días correspondiendo a la “fase de degradación”, de $0,042 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 30 y 60 días, $0,010 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 60 y 90 días y $0,003 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 90 y 120 días pudiendo establecerse la “fase de persistencia” (Fig. 5.21). La disipación de diclorvós en granos de soja fue más lenta que en granos de maíz. Autores han explicado este fenómeno con otros principios activos basándose en una mayor retención de residuos en granos de soja debido al contenido lipídico del grano lo que ocasiona una retención bioquímica del plaguicida (Lalah y Wandiga, 2002). Estudios de los residuos de diclorvós en granos de soja en dosis de 12 mg/kg y 24 mg/kg, establecen que analizando los residuos en la superficie, los mismos disminuyen entre un 15% al 21% durante el período de almacenamiento, mientras que en la parte interna del grano, el depósito inicial corresponde entre el 36% y 62% de la dosis aplicada y a medida que transcurre el tiempo desde la aplicación los residuos internos fueron del 9% al 11% y principalmente corresponden a sus metabolitos. Por lo tanto se concluye que el diclorvós es rápidamente

metabolizado en esta matriz y los fenómenos de volatilización son importantes (Zayed *et al.*, 2007; JMPR, 2012). Comparando estos datos con los resultados obtenidos en el presente estudio, para alcanzar un 10% del nivel de residuos iniciales se requerirían aproximadamente 54 días, un período mucho menor al reportado por los anteriores autores.

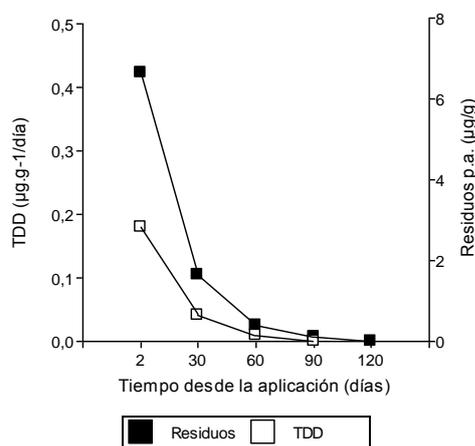


Fig. 5.21. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La característica de alta volatilidad de este principio activo (7×10^{-2} mmHg a 40°C) (Zayed *et al.*, 2007) es la que otorga a este plaguicida un alto poder de volteo y una rápida disipación. Miyahara y Saito (1994), en un estudio de simulación de la producción de derivados de soja, establecieron que los residuos de diclorvós eran fácilmente eliminados, encontrándose niveles bajos en los productos terminados tales como leche de soja y tofu. Estudios en otras matrices frescas reflejan disminuciones de hasta el 70% de los residuos en seis días aún en condiciones de almacenamiento a 4°C (Kaushik *et al.*, 2009) y disminuciones del más del 95% del residuo inicial a los 30 días dependiendo de la temperatura de almacenamiento (El-Behissy *et al.*, 2001). Se ha reportado además que los residuos de diclorvós son eliminados completamente por el proceso de deodorización utilizado en la elaboración del aceite refinado debido a un fenómeno de desaparición térmica (Miyahara y Saito, 1993).

Comparando ambas matrices en estudio (Fig. 5.22), se encontraron mayores niveles de residuos inicialmente en maíz respecto a soja y se comprobó influencia ($p < 0,05$) de la matriz, el tiempo desde la aplicación y la interacción matriz*tiempo desde la aplicación.

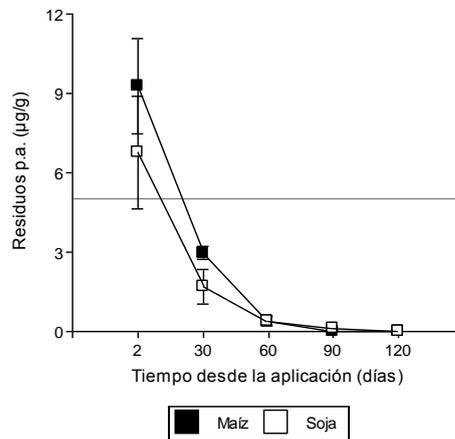


Fig. 5.22. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de maíz (cuadrado negro) y soja (cuadrado blanco) a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR. LMR SENASA= 5 µg/g.

El “período de carencia teórico o intervalo de seguridad” en este estudio experimental para granos de maíz, considerando la TDD calculada entre los 2 y 30 días ($0,225 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$), sería de 19 días desde la aplicación para llegar al LMR de $5 \mu\text{g}/\text{g}$ y en el caso de soja ($\text{TDD}=0,181 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$) alrededor de 8 días, coincidiendo con lo establecido como período de carencia (20 a 30 días) de acuerdo a lo establecido en las Buenas Prácticas agrícolas de aplicación y los LMR para Argentina, sin embargo según se discutió anteriormente es necesario considerar los estándares de inocuidad requeridos por otros países si dichas partidas de granos se destinaran a la exportación. Referencias al uso de diclorvós se encuentran en la bibliografía desde hace más de 30 años, y si bien dichos estudios recomiendan el uso de diclorvós en trigo en molinos harineros y almacenes portuarios debido a la rápida degradación de sus residuos (Cogburn y Simonaitis, 1975; Wirthgen y Raffke, 1979), los requisitos actuales en los mercados internacionales obligan a reanalizar este tipo de estudios en granos destinados a la exportación. En otros estudios de cálculo de ingesta si bien los residuos de diclorvós estuvieron presentes en trigo, los niveles no superaron el 10% de la IDA (Harcz *et al.*, 2007).

Residuos de deltametrina

La deltametrina es un insecticida de contacto derivado del grupo químico de los piretroides y es el más potente de los insecticidas estudiados. Su período de protección es de hasta 12 meses para la dosis de 20 cc/tn de granos. Este producto no posee período de carencia pero se recomienda dejar transcurrir de 20 a 30 horas antes del consumo (Novo *et al.*, 2011). En el caso tanto de granos de maíz como de soja se observó un comportamiento similar de los residuos (Tabla 5.24). Los residuos totales de deltametrina corresponden a la suma de sus isómeros.

Tabla 5.24. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos) y tasa de disipación diaria (TDD) de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA= 1 µg/g, LMR SENASA soja= 0,02 µg/g, Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,054 µg/g y LD soja= 0,021 µg/g), <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,108 µg/g y LC soja= 0,042 µg/g).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Maíz % desap. Residuos	Maíz TDD (µg.g ⁻¹ /día)	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja % desap. Residuos	Soja TDD (µg.g ⁻¹ /día)
Deltametrina	Deltam	2	8,50±1,80	0	0,242	5,00±0,67	0	0,065
Deltametrina	Deltam	30	1,73±0,80	79,6	0,028	3,18±1,24	36,4	0,074
Deltametrina	Deltam	60	0,89±0,51	89,5	0,027	0,96±0,42	80,8	0,027
Deltametrina	Deltam	90	0,07±0,04	99,2	0,002	0,16±0,06	96,8	0,005
Deltametrina	Deltam	120	<LC	100		<LC o ND	100	

Analizando los resultados obtenidos para el principio activo deltametrina con respecto al nivel de depósito inicial esperado establecido en 0,5 gr/tn equivalente a µg/g (Tabla 5.1), puede observarse que los valores detectados a las 48 horas luego de la aplicación exceden en 17 veces el nivel esperado en el caso de maíz y en 10 veces en el caso de soja. Como posible causa de estos resultados fuera de rango, se infiere que pudo haber existido alguna limitante en la validación de la técnica, como se discutió anteriormente, por lo que estos resultados, si bien no fueron eliminados del trabajo de tesis, no pueden ser utilizados para realizar recomendaciones respecto a la utilización del principio activo deltametrina en granos almacenados.

Considerando el depósito inicial teórico de 0,5 µg/g aún inmediatamente después de la aplicación nos encontraríamos con niveles de residuos por debajo del LMR establecido para granos almacenados en general por SENASA y los EUA en 1 µg/g y los requeridos por la UE y el *Codex* de 2 µg/g. Sin embargo, los límites establecidos para este principio activo en granos de soja son mucho menores y aunque no se refieren específicamente a los

tratamientos en poscosecha, los residuos se analizan en un producto generalmente sin conocer el tratamiento previo. Por lo tanto aún en aplicaciones en dosis recomendadas con un depósito teórico de 0,5 µg/g se superarían los LMR establecidos para soja en las legislaciones de Argentina (0,02 µg/g), los EUA (0,1 µg/g) y la UE (0,05 µg/g), estando los niveles solo acordes a la legislación del *Codex* (1 µg/g). Por esto no debería recomendarse la aplicación de este principio activo en almacenamiento de granos de soja debido a los estrictos límites respecto a este contaminante.

Como se dijo anteriormente, si bien no es posible concluir sobre los valores de residuos obtenidos, se presentan las tendencias en la disipación de este principio activo y su comportamiento en ambas matrices.

En la Fig. 5.23 puede verse la dinámica de disipación de deltametrina en granos de maíz. Los coeficientes de variación a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 21,2%, 45,9%, 57% y 51,5% respectivamente acorde a lo esperado en ensayos experimentales de aplicación de plaguicidas.

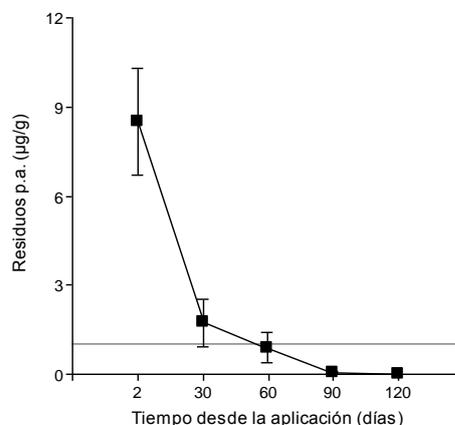


Fig. 5.23. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. LMR SENASA granos en general =1 µg/g.

Los porcentajes de desaparición de residuos fueron del 79,6% a los 30 días, 89,5% a los 60 días, 99,2% a los 90 días y 100% a los 120 días.

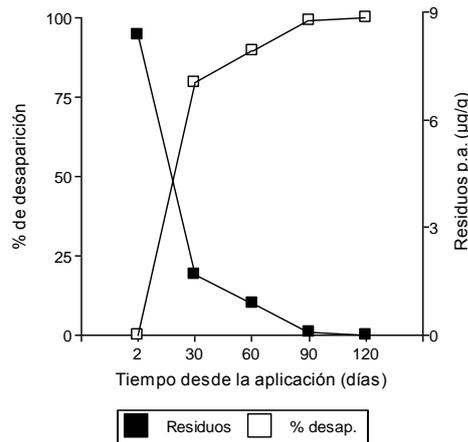


Fig. 5.24. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD de los residuos, considerando la misma solo como valores experimentales debido a lo discutido anteriormente, fue mayor en la primera etapa desde la aplicación siendo de $0,242 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 2 y 30 días correspondiendo a la “fase de degradación” y disminuyó a medida que transcurrió el tiempo desde la aplicación, siendo de $0,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ o menor durante los demás períodos en la “fase de persistencia”, siguiendo un comportamiento similar a lo observado para los niveles de residuos (Fig. 5.24, Fig. 5.25).

La vida media para deltametrina estudiada por Desmarchelier (citado por Holland *et al.*, 1994) es de más de 50 semanas para trigo almacenado en condiciones de temperatura de 30°C y humedad relativa del 50%.

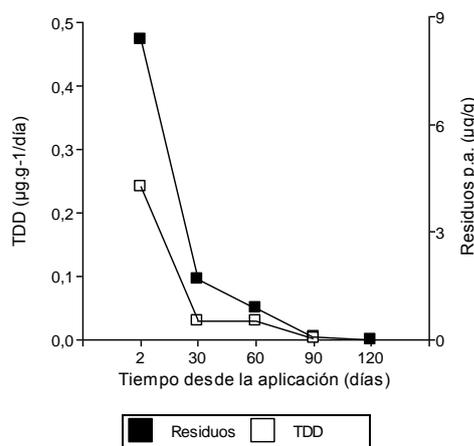


Fig. 5.25. Tasa de desaparición diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La tendencia en la disipación de residuos de deltametrina en granos de soja se presenta en la Fig. 5.26. Los coeficientes de variación calculados para los 2, 30, 60 y 90 días fueron de 13%, 39%, 43,8% y 38% respectivamente, siendo acordes a lo esperable por el tipo de ensayos realizados.

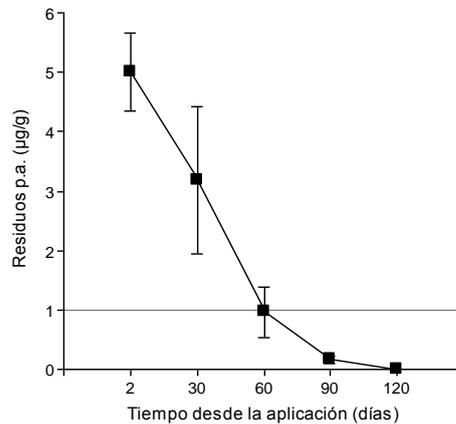


Fig. 5.26. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.
 LMR SENASA granos en general=1 µg/g. LMR SENASA soja= 0,02 µg/g

Los porcentajes de desaparición de los residuos fueron a los 30 días del 36,4%, a los 60 días del 80,8%, a los 90 días del 96,8% y a los 120 días del 100% (Fig. 5.27).

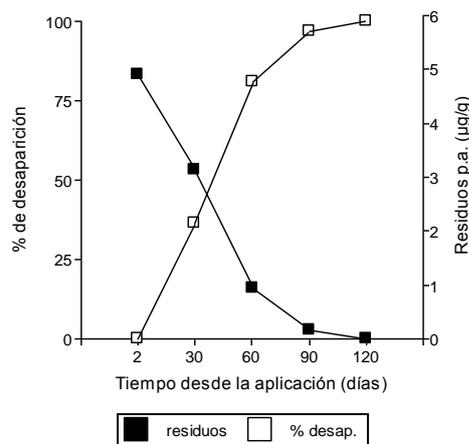


Fig. 5.27. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD, considerada solo a los efectos del presente trabajo, en el caso de granos de soja fue de $0,065 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 2 y 30 días desde la aplicación, entre los 30 y 60 días fue de $0,074 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, pudiendo corresponder estos períodos a la “fase de degradación” mientras que entre los 60 y 90 días y los 90 a 120 días las TDD fueron de $0,027 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ y $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, correspondiendo a la “fase de persistencia” de los residuos (Fig. 5.28).

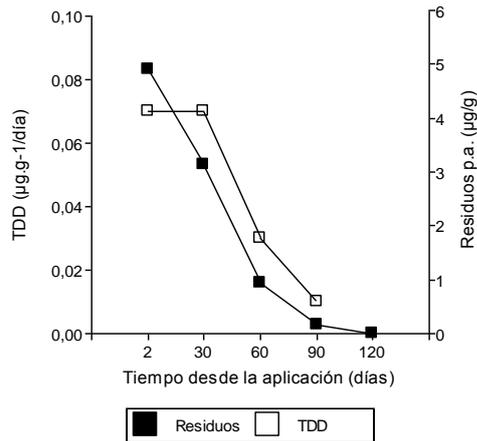


Fig. 5.28. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

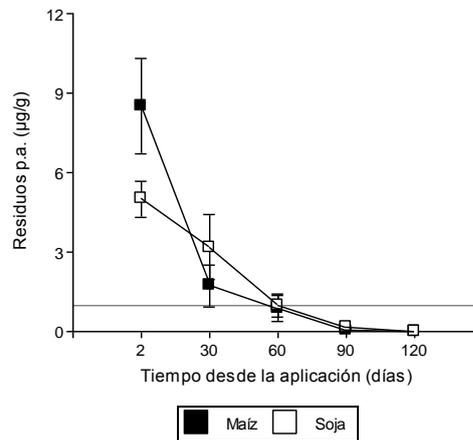


Fig. 5.29. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja (cuadrado blanco) y maíz (cuadrado negro) a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. LMR SENASA granos en general= $1 \mu\text{g/g}$. LMR SENASA soja= $0,02 \mu\text{g/g}$

Los residuos en granos de soja, considerando la limitante anteriormente expuesta, fueron más persistentes que en granos de maíz lo cual puede explicarse en términos del mayor contenido lipídico de los granos ocasionando un fenómeno de retención bioquímica de plaguicida, tal como reportan otros autores (Lalah y Wandiga, 2002).

Si bien no es posible discutir respecto a los niveles de residuos encontrados, se presenta una breve revisión bibliográfica de estudios realizados con este principio activo. Los insecticidas piretroides sintéticos son descritos en la bibliografía como “muy estables” en condiciones de silo por sus características químicas (no volátiles, con altos valores de Kow y estables frente a los procesos hidrolíticos principalmente en condiciones de oscuridad) (Holland *et al.*, 1994; Amvrazi, 2011), lo cual concuerda con datos reportados por otros autores de la alta persistencia de residuos de deltametrina en granos de trigo y maíz almacenados tras 90 días (Pimentel Trevizan y Casadei de Baptista, 2000; Pimentel Trevizan y Casadei de Baptista, 2001), tendiendo a concentrarse en el salvado, aunque los residuos se encontraron por debajo de la tolerancia establecida por la ley brasilera. Estudios de aplicación de piretrinas en trigo almacenado mostraron niveles de residuos sin cambios durante 22 días con una disipación completa en 8 meses de almacenamiento y vida media de los residuos entre 40 y 70 días dependiendo la dosis aplicada (Caboni *et al.*, 2007, Kaushik *et al.*, 2009). En granos de trigo tratados con deltametrina en dosis similares a las del presente estudio y condiciones de almacenamiento de 20°C y 70% de humedad, los residuos fueron persistentes de 180 y hasta 270 días desde la aplicación, llegando a la conclusión de que no hay una degradación medible de los residuos en granos de trigo almacenados (Balnova *et al.*, 2007), no logrando en otros trabajos establecer modelos de disipación debido a la persistencia de los residuos (Morton, 2001). Otros autores no han encontrado residuos de este principio activo en granos almacenados (Westcott y Reichle, 1987; Aldana Madrid *et al.*, 2008).

Residuos de clorpirifós-metil y deltametrina

Las formulaciones combinadas de fosforados y piretroides se utilizan para aprovechar las características de un alto poder de volteo inicial del piretroide con el mayor poder residual del fosforado (Novo *et al.*, 2011).

Los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en ambas matrices en estudio mostraron una dinámica de disipación similar encontrando menores niveles de residuos de principio activo a medida que avanza el tiempo desde la aplicación (Tabla 5.25). Los residuos totales de deltametrina corresponden a la suma de sus isómeros.

Tabla 5.25. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos) y tasa de disipación diaria (TDD) de clorpirifós metil y deltametrina encontrados en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA clorpirifós metil=5 µg/g, LMR SENASA deltametrina granos en general= 1 µg/g. LMR SENASA deltametrina soja= 0,02 µg/g Ref: ND= no detectado (Clorpirifós metil: LD maíz= 0,003 µg/g y LD soja= 0,003 µg/g; Deltametrina: LD maíz= 0,054 µg/g y LD soja= 0,021 µg/g), <LC= menor al límite de cuantificación (Clorpirifós-metil LC maíz= 0,006 µg/g y LC soja= 0,006 µg/g; Deltametrina LC maíz= 0,108 µg/g y LC soja= 0,042 µg/g).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Maíz % desap. Residuos	Maíz TDD (µg.g ⁻¹ /día)	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja % desap. Residuos	Soja TDD (µg.g ⁻¹ /día)
Clorp+delt	Clorp	2	1,98±0,54 a	0	0,025	7,14±1,06 a	0	0,172
Clorp+delt	Clorp	30	1,29±0,58 ab	34,8	0,021	2,32±0,57 b	67,5	0,034
Clorp+delt	Clorp	60	0,67±0,43 bc	66,2	0,019	1,29±0,25 c	81,9	0,031
Clorp+delt	Clorp	90	0,10±0,05 c	94,9	0,003	0,36±0,15 d	95,0	0,012
Clorp+delt	Clorp	120	<LC	100		<LC	100	
Clorp+delt	Delt	2	4,56±2,22	0	0,097	2,93±0,20	0	0,034
Clorp+delt	Delt	30	1,84±0,70	59,6	0,058	1,97±0,59	32,8	0,046
Clorp+delt	Delt	60	0,10±0,05	97,8	0,003	0,58±0,35	80,2	0,013
Clorp+delt	Delt	90	ND	100		0,18±0,10	93,9	0,006
Clorp+delt	Delt	120	ND	100		<LC o ND	100	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0,05$) en cada matriz entre tiempos desde la aplicación

Los niveles de residuos de clorpirifós-metil en las determinaciones a los 2 días desde la aplicación (1,98 µg/g) se encuentran en el caso de maíz dentro de los valores de depósito teórico esperado de 2,9 µg/g, mientras que en el caso de soja es superado ampliamente. Una posible causa podría inferirse en los bajos volúmenes de plaguicidas y de granos utilizados en los ensayos los cuales pueden haber dificultado la distribución homogénea del plaguicida, tales limitantes fueron reportadas por otros autores en sus trabajos de investigación (Lucini y Molinari, 2011).

Los residuos de clorpirifós-metil en granos de maíz se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA en 5 µg/g a los 2 días desde la aplicación. También se encuentran por debajo de los límites para los EUA de 6 µg/g, la UE de 3 µg/g y Codex de 10 µg/g. Los niveles de residuos fueron diferentes ($p<0,05$) para las determinaciones a los 2 y 90 días desde la aplicación pero no en el resto de las mediciones. Se encontraron niveles de residuos por debajo del Límite de Cuantificación (0,006 µg/g) a los 120 días desde la aplicación (Tabla 5.25 y Fig. 5.30).

Los coeficientes de variación de los residuos para los 2, 30, 60 y 90 días fueron de 27%, 45%, 64% y 52%, debido a la variabilidad de aplicación de los plaguicidas en ensayos experimentales.

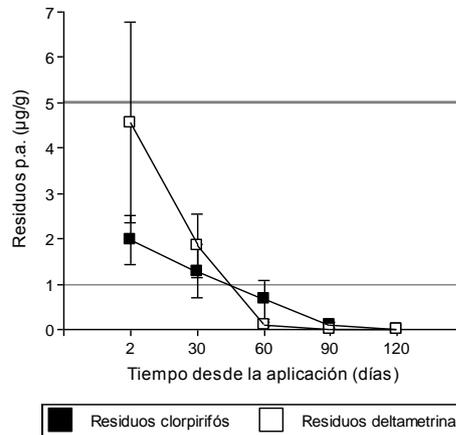


Fig. 5.30. Curva de disipación (Media y DE) de los residuos de clorpirifós metil (cuadrado negro) y deltametrina (cuadrado blanco) en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR.
 Ref: Línea delgada LMR deltametrina=1 µg/g, línea ancha LMR clorpirifós-metil=5 µg/g.

Se observó un porcentaje de desaparición de los residuos de clorpirifós-metil del 34,8% a los 30 días desde la aplicación, 66,2% a los 60 días, 94,9% a los 90 días y 100% a los 120 días desde la aplicación (Fig. 5.31), lo cual coincide con lo reportado para insecticidas órganofosforados con disminuciones de entre el 50% y 86% en almacenamientos de 5 a 8 meses dependiendo del plaguicida, la formulación aplicada, la temperatura y humedad de almacenamiento (Amvrazi, 2011). En estudios anteriores (Strada *et al.*, 2012a) se encontraron resultados similares para esta formulación aplicada en granos de maíz detectando influencia del período de almacenamiento sobre el nivel de residuos y porcentajes de disminución del 30% entre los 60 y 90 días de almacenamiento. Tras mayores períodos de almacenamiento (270 días) otros autores han encontrado una disminución de los residuos de clorpirifós-metil en trigo del 60 %, siendo adecuados a los LMR para la población en general, aunque no para los LMR establecidos para grupos de riesgo (Balinova *et al.*, 2006).

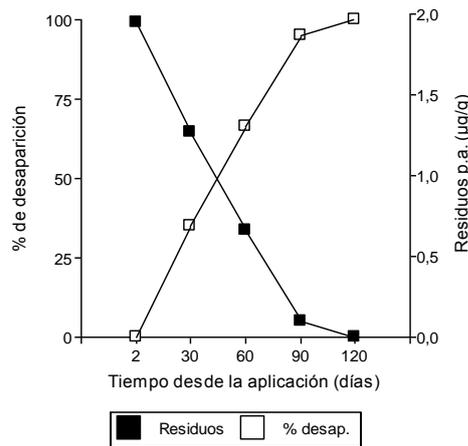


Fig. 5.31. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de clorpirifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD fue menor a la calculada para otros principios activos del grupo de los organofosforados sin encontrar diferencias entre la “fase de degradación” y “fase de persistencia” (Fig. 5.32). Esto coincide con lo reportado por la bibliografía que asegura que los residuos de clorpirifós-metil son más estables que los de pirimifós-metil (Holland *et al.*, 1994) debido a que este principio activo posee una menor tensión de vapor (Balinova *et al.*, 2006). La vida media reportada de clorpirifós-metil en granos de trigo es de 19 semanas (Desmarchelier citado por Holland *et al.*, 1994), en el presente estudio considerando la TDD máxima ($0,025 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$) la vida media de los residuos fue de 40 días (6 semanas).

Trabajos publicados en maíz y trigo en almacenamiento a diferentes temperaturas y contenidos de humedad del grano, establecen que la mayoría de los residuos de clorpirifós-metil se perdieron durante los primeros dos meses de almacenamiento, con mayores tasas de pérdida a altas temperaturas y contenidos de humedad de los granos (Arthur *et al.*, 1991; Arthur *et al.*, 1992). Otros estudios de la degradación de este principio activo, reportan pérdidas de los residuos de entre el 51% y 38% en la superficie y a un metro de profundidad respectivamente tras 8 meses de almacenamiento, siendo menores los valores de desaparición de residuos a los encontrados en el presente estudio (White *et al.*, 1997).

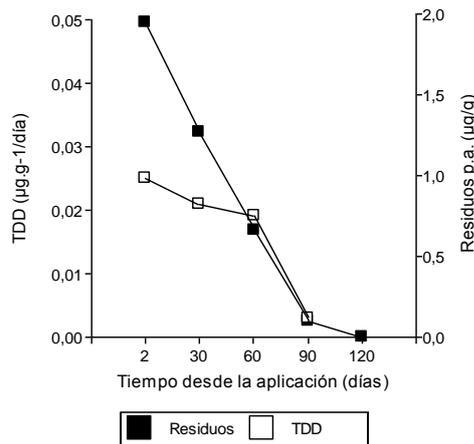


Fig. 5.32. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de clorpirifós-metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

En granos de soja, como se dijo anteriormente, los residuos iniciales de clorpirifós-metil fueron superiores a los esperados de acuerdo a la dosis de aplicación. Los mismos se encontraron por encima del LMR a los 2 días desde la aplicación, y disminuyeron por debajo del LMR en la observación de los 30 días encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en los niveles de residuos a los 2, 30, 60 y 90 días (Fig. 5.33). Se encontraron niveles de residuos por debajo del Límite de Cuantificación (0,006 µg/g) a los 120 días desde la aplicación al igual que en el caso de maíz. Los coeficientes de variación calculados fueron acordes al tipo de ensayo siendo del 14,8%, 24,8%, 19,4% y 41,7% a los 2, 30, 60 y 90 días respectivamente.

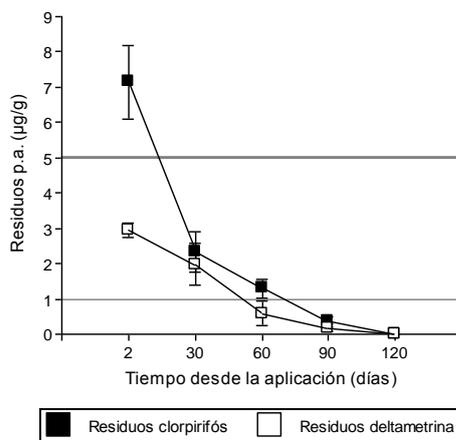


Fig. 5.33. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de clorpirifós-metil (cuadrado negro) y deltametrina (cuadrado blanco) en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR deltametrina=1 µg/g y línea ancha LMR clorpirifós-metil=5 µg/g.

El porcentaje de desaparición de los residuos a los 30 días fue del 67,5%, a los 60 días 81,9%, a los 90 días 95 % y del 100% a los 120 días (Fig. 5.34).

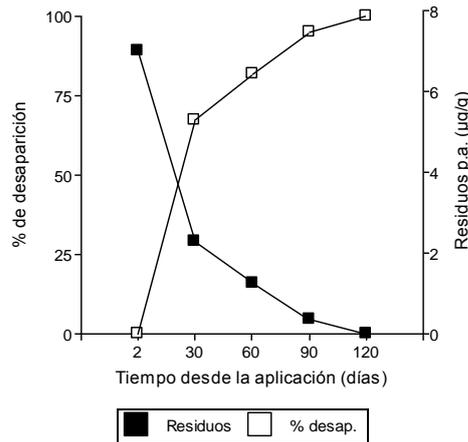


Fig. 5.34. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de clorpirifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD para clorpirifós-metil en granos de soja (Fig. 5.35) entre los 2 y 30 días ($0,172 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$) fue más alta inicialmente que la observada en maíz lo cual podría corresponderse a la “fase de degradación” y es acorde a lo reportado por otros autores, los cuales aseguran que a mayores niveles de residuos iniciales las TDD son mayores y en este estudio los niveles iniciales de este principio activo fueron mayores en soja que en maíz (Singh y Chawla, 1980).

Si bien se ha estudiado que las prácticas de procesamiento de alimentos en base a soja pueden eliminar hasta un 80-90% de los residuos y en un 100% con otras prácticas como la deodorización en la elaboración de aceites refinados de soja (Miyahara y Saito, 1993; Miyahara y Saito, 1994), es necesario asegurar la inocuidad de estos alimentos aún crudos.

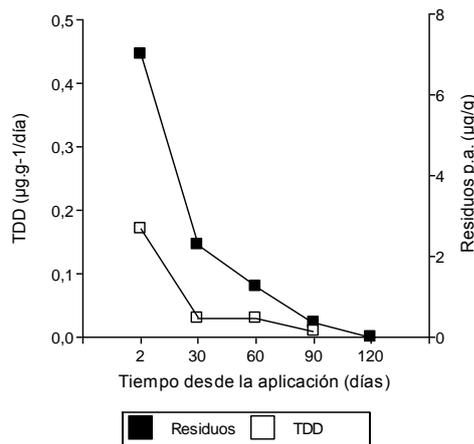


Fig. 5.35. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de clorpirifós-metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La vida media de los residuos de clorpirifós-metil en soja sería de aproximadamente 21 días considerando la TDD máxima, y el período de carencia teórico de 14 días considerando el LMR de SENASA de 5 µg/g. Si consideramos el límite establecido por los EUA de 6 µg/g dicho período de carencia sería de aproximadamente de 8 días y para alcanzar el LMR de la UE de 3 µg/g, sería de 26 días. Esto ocurre debido a los altos niveles iniciales de residuos en esta matriz lo cual puede deberse a variabilidad en la distribución del plaguicida durante la aplicación como se explicó anteriormente.

Mientras que algunos autores determinaron que el período de almacenamiento en trigo generalmente no era lo suficientemente eficaz para reducir los residuos a niveles por debajo de los límites máximos de residuos (Uygun *et al.*, 2008) en otros estudios mediante la técnica de QuEChERS no se encontraron residuos de clorpirifós-metil en trigo y maíz, sus derivados y productos alimenticios para bebés (González Curbelo *et al.*, 2012) o los mismos se encontraron por debajo del LMR (Skrbić, 2007; Aldana Madrid *et al.*, 2008) y además si bien se han detectado residuos de este plaguicida en productos derivados del trigo, en casos analizados los niveles de ingesta no superaron el 10% de la IDA (Harcz *et al.*, 2007). En modelos de análisis de la disipación de este principio activo se estableció que la disipación depende de la temperatura, el tipo de granos y la duración del almacenamiento, lo cual coincide con lo obtenido en el presente estudio (Morton, 2001).

Los resultados obtenidos respecto a los niveles de residuos de deltametrina en granos de maíz a los dos días de la aplicación (4,56 µg/g) muestran nuevamente niveles

superiores en 35 veces a los esperables de acuerdo a la dosis aplicada (0,13 µg/g). Analizando que en el caso de clorpirifós-metil, aplicado en la mezcla con deltametrina, los valores fueron adecuados, no podría inferirse una errónea medición de la dosis de aplicación ya que la misma se hubiera evidenciado en los niveles de residuos iniciales de ambos principios activos, por lo cuál se vuelven a inferir en este caso problemas en las determinaciones analíticas de este principio activo debido. Por lo tanto no se concluye respecto a los resultados obtenidos de niveles de residuos de deltametrina aunque se presentan los gráficos que representan las tendencias en la disipación. Los residuos de deltametrina en granos de maíz disminuyeron siguiendo una tendencia de disipación al igual que el resto de los principios activos (Fig. 5.30). Los coeficientes de variación porcentual en las mediciones a los 2, 30 y 60 días fueron de 48,6%, 37,8% y 45,8% respectivamente.

El porcentaje de desaparición de los residuos (Fig. 5.36) fue de un 59,6% a los 30 días, del 97,8% a los 60 días y del 100% a partir de los 90 días, lo cual coincide con trabajos anteriores en que se encontró una disminución de los residuos de deltametrina de alrededor del 50% en maíz entre los 60 y 90 días desde la aplicación con esta misma formulación (Strada *et al.*, 2012a).

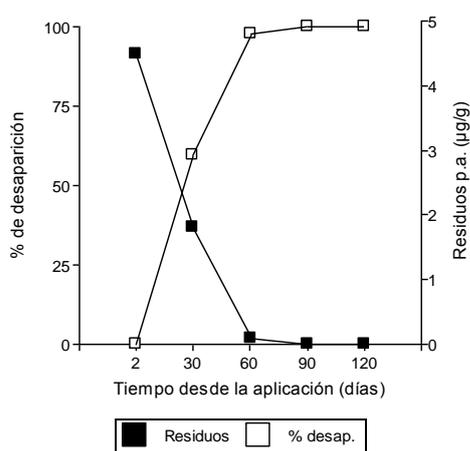


Fig. 5.36. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD de los residuos, considerando que se presentan solo a los efectos de esta investigación, fue mayor entre los 2 y 30 días desde la aplicación siendo de $0,097 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, disminuyendo a $0,058 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 30 y 60 días y a valores de $0,003 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 60 y 90 días, pudiendo determinar hasta los 60 días la “fase de degradación” y luego la “fase de persistencia” (Fig. 5.37).

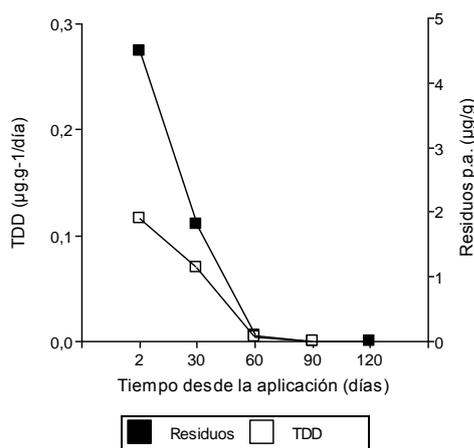


Fig. 5.37. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

En el caso de granos de soja los residuos iniciales de deltametrina fueron 22 veces superiores a lo esperable de acuerdo a la dosis aplicada. Una vez más, se refuerza que el origen de estos resultados no esperados se podría encontrar en problemas analíticos en la determinación de deltametrina, ya que si los mismos se hubieran originado en las mediciones de la dosis los residuos de deltametrina deberían haber sido mayores a los inicialmente detectados en maíz al igual que ocurrió en el caso de los residuos de clorpirifós-metil.

Analizando el depósito teórico inicial esperado de $0,13 \mu\text{g}/\text{g}$ en relación a los LME establecidos para deltametrina en soja de $0,02 \mu\text{g}/\text{g}$ para SENASA, $0,05 \mu\text{g}/\text{g}$ para la UE, $0,1 \mu\text{g}/\text{g}$ para los EUA y $1 \mu\text{g}/\text{g}$ para *Codex*, puede observarse que los residuos solo se encontrarían por debajo del LMR del *Codex*, Por lo tanto no se debería recomendar la aplicación de deltametrina en granos de soja debido a los bajos niveles permitidos.

Los coeficientes de variación calculados fueron de 6,98%, 26,7%, 60,3% y 53% para las mediciones a los 2, 30, 60 y 90 días. El porcentaje de desaparición de los residuos a los 30 días fue del 32,8%, a los 60 días del 80,2%, a los 90 días del 93,9% y a los 120 días del 100% (Fig. 5.38).

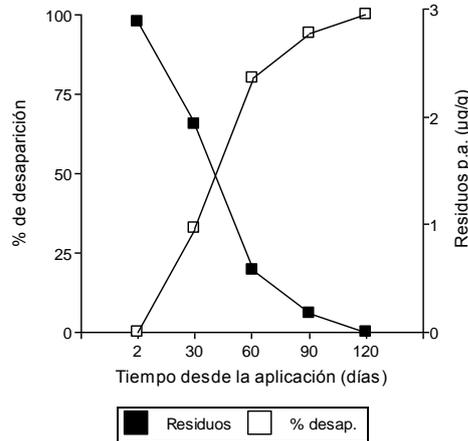


Fig. 5.38. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD inicial para deltametrina en soja entre los 2 y 30 días fue de $0,034 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, entre 30 y 60 días de $0,046 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, de 60 a 90 días fue de $0,013 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ y de 90 a 120 días de $0,006 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ (Fig. 5.39).

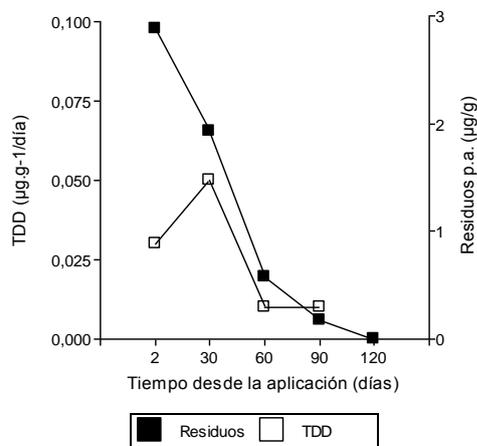


Fig. 5.39. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos de deltametrina (cuadrado negro) en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

Los datos reportados respecto a los niveles de residuos en la aplicación de esta formulación para la dosis máxima fueron menores a los encontrados en el presente estudio, siendo para clorpirifós-metil de entre 2,17 y 2,90 µg/g y para deltametrina entre 0,09 y 0,13 µg/g (Dow AgroSciences, 2013), los cuáles serían acordes de acuerdo al depósito inicial esperado de acuerdo a la dosis aplicada.

Residuos de diclorvós y deltametrina

La mezcla del organofosforado diclorvós y el piretroide deltametrina es otra de las opciones recomendadas para el control de insectos en granos almacenados considerando las características de ambos principios activos las cuales fueron explicadas anteriormente. Los residuos de ambos principios activos disminuyeron a medida que trascurrieron los días desde la aplicación estableciendo una dinámica de disipación en granos de maíz y soja (Tabla 5.26). Los residuos totales de deltametrina corresponden a la suma de sus isómeros.

Tabla 5.26. Media y desvío estándar, porcentaje de desaparición de los residuos (% desap. Residuos) y tasa de disipación diaria (TDD) de deltametrina y diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación. LMR SENASA deltametrina granos en general= 1 µg/g, LMR SENASA deltametrina soja= 0,02 µg/g, LMR SENASA Diclorvós= 5 µg/g. Ref: ND= no detectado (Diclorvós: LD maíz= 0,003 µg/g y LD soja= 0,006 µg/g, Deltametrina LD maíz= 0,054 µg/g y LD soja= 0,021 µg/g); <LC= menor al límite de cuantificación (Diclorvós LC maíz= 0,006 µg/g y LC soja= 0,012 µg/g, Deltametrina LC maíz= 0,108 µg/g y LC soja= 0,042 µg/g).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Maíz % desap. Residuos	Maíz TDD (µg.g ⁻¹ /día)	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja % desap. Residuos	Soja TDD (µg.g ⁻¹ /día)
Diclo+deltam	Diclo	2	5,03±1,29 a	0	0,18	3,95±0,42 a	0	0,115
Diclo+deltam	Diclo	30	1,07±0,47 b	78,7	0,036	0,74±0,41 b	81,3	0,013
Diclo+deltam	Diclo	60	0,19±0,08 b	96,2	0,006	0,35±0,18 bc	91,1	0,010
Diclo+deltam	Diclo	90	0,01±0,01 b	99,8	0,0003	0,04±0,03 c	99	0,001
Diclo+deltam	Diclo	120	<LC	100		<LC	100	
Diclo+deltam	Deltam	2	4,46±0,85	0	0,129	3,30±0,73	0	0,012
Diclo+deltam	Deltam	30	0,86±0,38	80,7	0,024	2,96±0,37	10,3	0,086
Diclo+deltam	Deltam	60	0,14±0,06	96,9	0,005	0,37±0,25	88,8	0,009
Diclo+deltam	Deltam	90	<LC	100		0,10±0,03	97	0,003
Diclo+deltam	Deltam	120	<LC o ND	100		<LC o ND	100	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05) en cada matriz entre días desde la aplicación

Los niveles de residuos iniciales de diclorvós son menores a los esperados respecto de la dosis aplicada (18 gr/tn) en ambas matrices de grano, sin embargo, como se discutió

anteriormente la característica de alta volatilidad de este principio activo puede haber provocado pérdidas del plaguicida durante los dos días anteriores a la medición.

Los residuos de diclorvós en granos de maíz superaron el LMR establecido por SENASA y el *Codex* en 5 µg/g a los 2 días desde la aplicación, mientras que a los 30, 60 y 90 días estuvieron por debajo de mismo cumpliendo con el período de carencia establecido en 30 días (Fig. 5.40). Sin embargo si consideramos el LMR de la UE de 0,01 µg/g se alcanzarían niveles de residuos aceptables recién a los 90 días desde la aplicación. Los residuos de este principio activo a los 120 días se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación del método (LC= 0,006 µg/g). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los niveles de residuos a los 2 días respecto al resto de las mediciones. Los coeficientes de variación en los resultados obtenidos a los 2, 30, 60 y 90 días fueron del 25,5%, 44%, 43% y 43% respectivamente.

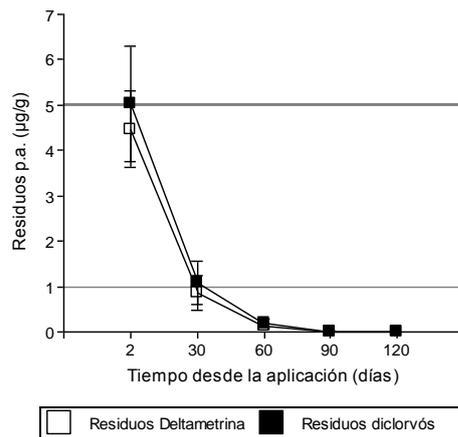


Fig. 5.40. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós (cuadrado negro) y deltametrina (cuadrado blanco) en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR deltametrina=1 µg/g y línea ancha LMR diclorvós=5 µg/g.

Los residuos presentaron un porcentaje de desaparición del 78,7% a los 30 días, 96,2% a los 60 días, 99,8% a los 90 días y del 100% a los 120 días desde la aplicación, lo cual coincide con lo anteriormente discutido de las características de alta volatilidad de este principio activo (Fig. 5.41).

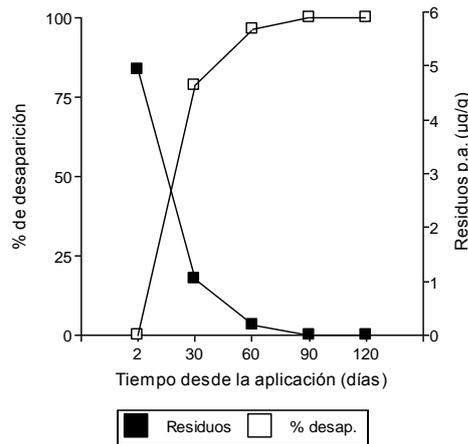


Fig. 5.41. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD de los residuos fue de $0,18 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 2 y 30 días (“fase de degradación”), $0,036 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 30 y 60 días, $0,006 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 60 y 90 días y $0,0003 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 90 y 120 días (“fase de persistencia”) (Fig. 5.42). En base a estos, el período de carencia teórico calculado sería de menos de 1 día, por lo cual se cumple con el período de carencia establecido en 30 días para nuestro país.

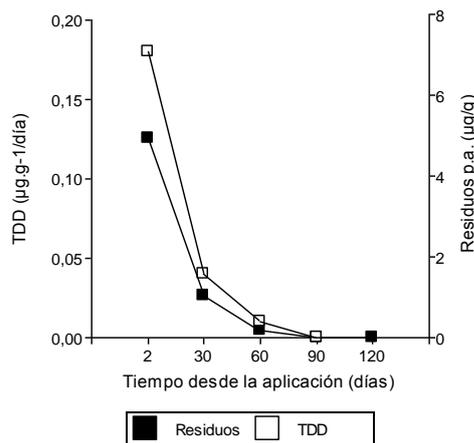


Fig. 5.42. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

Los residuos de diclorvós en granos de soja fueron menores a los inicialmente encontrados en maíz. Los residuos fueron menores al LMR establecido por SENASA y el *Codex* en 5 µg/g a partir de los 2 días desde la aplicación (Fig. 5.43). Si nos referimos al LMR de la UE (0,01 µg/g) se necesitarían 120 días para alcanzar niveles aceptables en los granos. Los residuos a los 120 días fueron menores al Límite de Cuantificación (LC=0,012 µg/g). Se encontró una diferencia significativa ($p < 0,05$) en la media de los residuos a los 2 días desde la aplicación respecto al resto de las mediciones. Los coeficientes de variación porcentual fueron del 10,7%, 55%, 52,4% y 75% para los 2, 30, 60 y 90 días respectivamente y acordes a lo esperable ensayos experimentales de aplicación de plaguicidas.

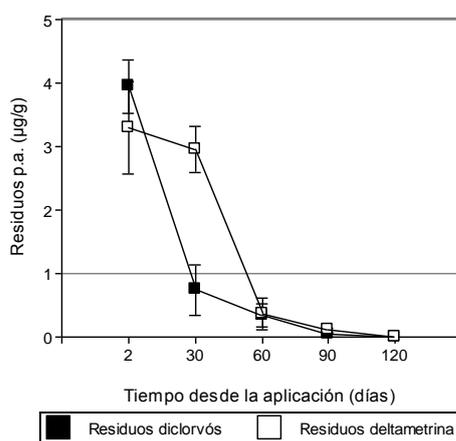


Fig. 5.43. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós (cuadrado negro) y deltametrina (cuadrado blanco) en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR deltametrina granos en general=1 µg/g (para soja= 0,02 µg/g) y línea ancha LMR diclorvós=5 µg/g.

El porcentaje de desaparición de los residuos a los 2 días fue del 81,3%, a los 30 días del 91,1%, a los 60 días del 99% y a los 120 días del 100% coincidiendo con el LD (0,0003 µg/g) (Fig. 5.44). Los porcentajes de desaparición de residuos fueron similares en granos de maíz y soja, aunque los valores iniciales fueron mayores en maíz, de cualquier forma a los 120 días los residuos en ambas matrices se encuentran por debajo del Límite de Cuantificación (0,006 µg/g).

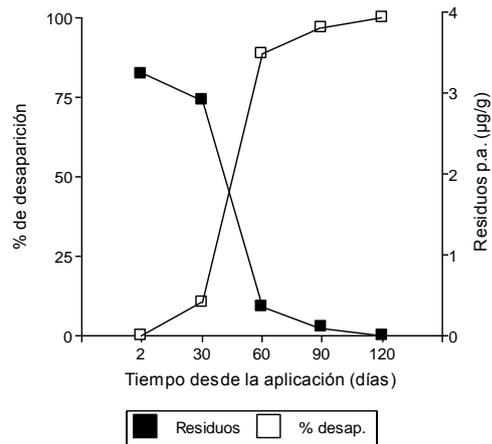


Fig. 5.44. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD para diclorvós en granos de soja fue de $0,115 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 2 y 30 días y disminuyó a valores de $0,013 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ o menores en el resto de los períodos (Fig. 5.45).

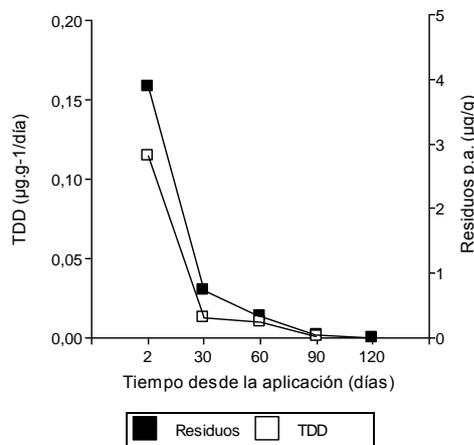


Fig. 5.45. Tasa de desaparición diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

En el caso del principio activo deltametrina, se siguen observando niveles de residuos iniciales muy altos en comparación al depósito teórico esperado (Tabla 5.1). Para los granos de maíz el depósito inicial de deltametrina fue de $4,46 \mu\text{g}/\text{g}$, significando 74 veces el depósito esperable de acuerdo a la dosis de $0,06 \text{ gr}/\text{tn}$, respecto a los granos de soja

la relación entre los valores obtenidos es de 55 veces (tabla 5.26). Por lo tanto los resultados obtenidos no son concluyentes respecto al comportamiento de deltametrina en las matrices estudiadas y se infiere una inadecuada validación de la técnica analítica. Sin embargo a pesar de que los residuos iniciales en maíz fueron mayores a lo esperado los mismos disminuyen por debajo del LMR establecido por SENASA en $1 \mu\text{g/g}$ a los 30 días y no se detectaron ($\text{LD}= 0,054 \mu\text{g/g}$) residuos de este principio activo a partir de los 90 días desde la aplicación o los mismos se encontraron por debajo del Límite de Cuantificación ($\text{LC}=0,108 \mu\text{g/g}$) de la técnica. Los coeficientes de variación porcentual calculados para las mediciones a los 2, 30 y 60 días fueron del 19%, 45% y 45% respectivamente. Los residuos presentaron un porcentaje de desaparición rápido, siendo del 80,7% a los 30 días, 96,9% a los 60 días y del 100% a partir de los 90 días (Fig. 5.46).

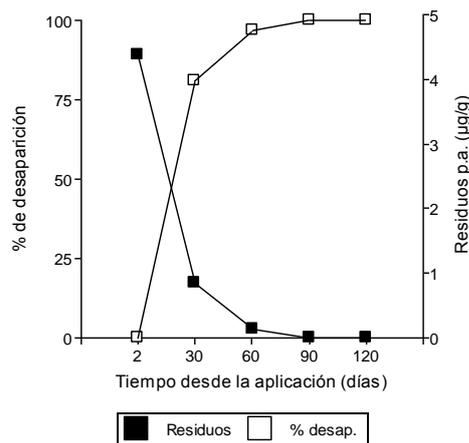


Fig. 5.46. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD experimental de los residuos, considerando las limitaciones de los resultados anteriormente discutidas, fue de $0,129 \mu\text{g.g}^{-1}/\text{día}$, $0,24 \mu\text{g.g}^{-1}/\text{día}$ y $0,005 \mu\text{g.g}^{-1}/\text{día}$ en los períodos de 2 a 30 días, 30 a 60 días y 60 a 90 días respectivamente (Fig. 5.47).

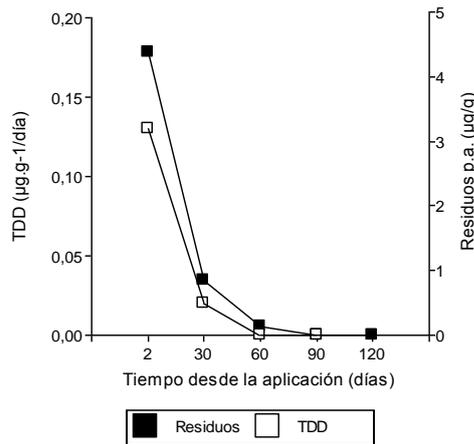


Fig. 5.47. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

En el caso de granos de soja los niveles de residuos de deltametrina fueron menores a los inicialmente encontrados en maíz pero los mismos superan el depósito teórico esperado como se dijo anteriormente. Los coeficientes de variación calculados fueron del 12,5%, 22%, 67,5% y 31% para las mediciones a los 2, 30, 60 y 90 días. El porcentaje de desaparición de los residuos a los 30 días fue del 10,3%, a los 60 días del 88,8%, a los 90 días del 97% y del 100% a los 120 días (Fig. 5.48).

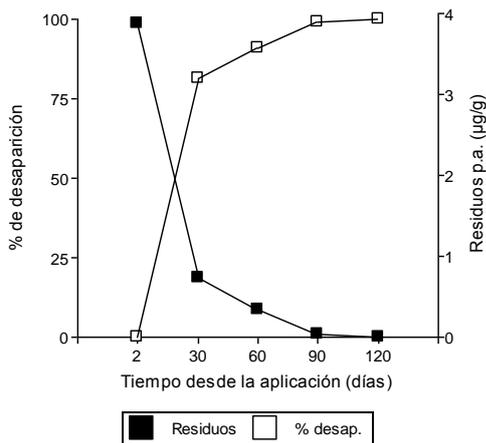


Fig. 5.48. Porcentaje de desaparición de residuos (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

La TDD para deltametrina en soja entre los 2 y 30 días fue de 0,012 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$, menor a la calculada para maíz y se mantuvo en valores bajos a medida que transcurrieron los días desde la aplicación siendo de 0,086 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 30 y 60 días, de 0,009 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 60 y 90 días y de 0,003 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}/\text{día}$ entre los 90 y 120 días (Fig. 5.49).

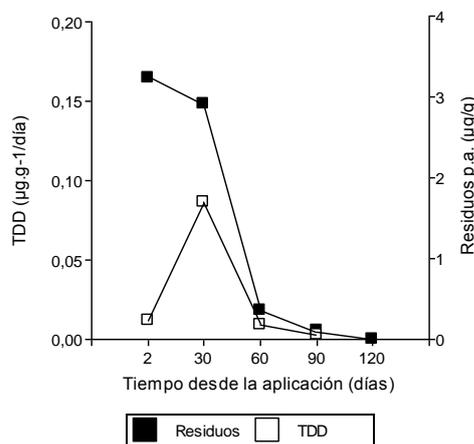


Fig. 5.49. Tasa de disipación diaria (cuadrado blanco) y nivel de residuos (cuadrado negro) de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días tras la aplicación

Comparando ambas matrices se puede observar una retención de los residuos en granos de soja, con mayor persistencia de los mismos en los granos y TDD menores que las calculadas para granos de maíz.

Residuos de deltametrina en diferentes formulaciones aplicadas

El principio activo deltametrina fue aplicado en los tratamientos en tres formulaciones en la dosis recomendada de 20 cc/tn de granos. La formulación de deltametrina+ butóxido de piperonilo (EC, 2,5%+20%), significa una dosis del principio activo deltametrina de 0,5 cc/tn de granos, la formulación clorpirifós-metil+deltametrina (EC, 14,5%+0,65%) significan 0,13 cc/tn de granos y la de diclorvós+deltametrina (EC, 90%+0,3%) una dosis de deltametrina de 0,06 cc/tn de granos. En la Tabla 5.27 se presentan los resultados de los niveles de residuos de deltametrina en granos de soja y maíz

en las tres formulaciones aplicadas con el objetivo de comparar los niveles de residuos obtenidos.

Tabla 5.27. Media y desvío estándar y tasa de disipación diaria (TDD) de los residuos de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación en diferentes dosis teóricas (gr/tn) de principio activo de acuerdo a la formulación comercial. LMR SENASA granos en general= 1 µg/g, LMR SENASA soja= 0,02 µg/g. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,054 µg/g y LD soja= 0,021 µg/g), <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,108 µg/g y LC soja= 0,042 µg/g).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis teórica objetivo (gr/tn)	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Maíz TDD (µg.g ⁻¹ /día)	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja TDD (µg.g ⁻¹ /día)
Deltam	Deltam	0,5	2	8,50±1,80 a	0,242	5,00±0,67 a	0,065
Deltam	Deltam	0,5	30	1,73±0,80 c	0,028	3,18±1,24 b	0,074
Deltam	Deltam	0,5	60	0,89±0,51 cd	0,027	0,96±0,42 d	0,027
Deltam	Deltam	0,5	90	0,07±0,04 d	0,002	0,16±0,06 e	0,005
Deltam	Deltam	0,5	120	<LC		<LC o ND	
Clorp+delt	Deltam	0,13	2	4,56±2,22 b	0,097	2,93±0,20 b	0,034
Clorp+delt	Deltam	0,13	30	1,84±0,70 c	0,058	1,97±0,59 c	0,046
Clorp+delt	Deltam	0,13	60	0,10±0,05 d	0,003	0,58±0,35 de	0,013
Clorp+delt	Deltam	0,13	90	ND		0,18±0,10 de	0,006
Clorp+delt	Deltam	0,13	120	ND		<LC o ND	
Dicl+delt	Deltam	0,06	2	4,46±0,85 b	0,129	3,30±0,73 b	0,012
Dicl+delt	Deltam	0,06	30	0,86±0,38 cd	0,024	2,96±0,37 b	0,086
Dicl+delt	Deltam	0,06	60	0,14±0,06 d	0,005	0,37±0,25 de	0,009
Dicl+delt	Deltam	0,06	90	<LC		0,10±0,03 e	0,003
Dicl+delt	Deltam	0,06	120	<LC o ND		<LC o ND	

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) entre los tratamientos aplicados dentro de cada matriz correspondiendo a la interacción dosis de p.a.*tiempo desde la aplicación*

Como se explicó anteriormente, los valores de residuos de deltametrina a los dos días tras la aplicación superan ampliamente el depósito teórico esperado respecto a la dosis aplicada, por lo tanto, no se extraen conclusiones respecto del comportamiento de este principio activo en granos de soja y maíz almacenados. Sin embargo, se realizará la comparación de los niveles de residuos obtenidos en la aplicación de tres dosis de principio activo deltametrina a fin de establecer el posible efecto de la dosis de aplicación sobre el nivel de residuos.

Tanto en granos de maíz como de soja existe influencia de la dosis de principio activo, el tiempo desde la aplicación y de la interacción dosis de p.a.*tiempo desde la aplicación ($p < 0,05$) (Tabla 5.27). Independientemente de la dosis los residuos siguen una dinámica de disipación en la cual a medida que transcurren los días desde la aplicación los niveles de residuos disminuyen. Como es de esperar dosis más altas de principio activo se traducen en mayores niveles de residuos iniciales de los plaguicidas lo cual concuerda con

lo reportado en la bibliografía (Balnova *et al.*, 2006; Strada *et al.*, 2012).

En el caso de maíz se encontraron diferencias en los niveles de residuos ($p < 0,05$) a los 2 días desde la aplicación en la dosis de 0,5 cc/tn de principio activo respecto al resto de las formulaciones. En las dosis aplicadas en mezclas con clorpirifós-metil y diclorvós las diferencias fueron menores (Fig. 5.50).

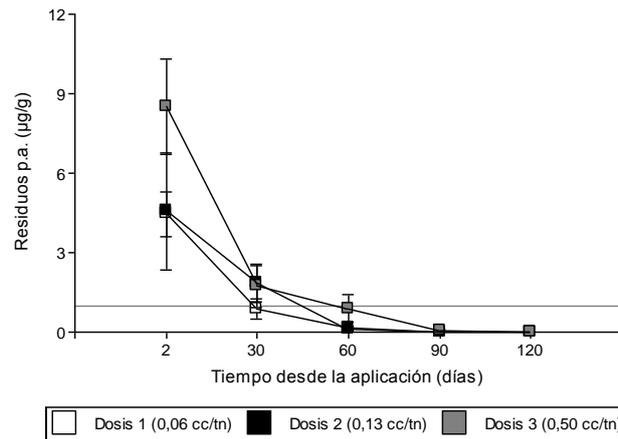


Fig. 5.50. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de maíz en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR. Ref: dosis 0,06 cc/tn (cuadrado blanco), dosis 0,13 cc/tn (cuadrado negro) y dosis 0,5 cc/tn (cuadrado gris). LMR SENASA granos en general=1 µg/g.

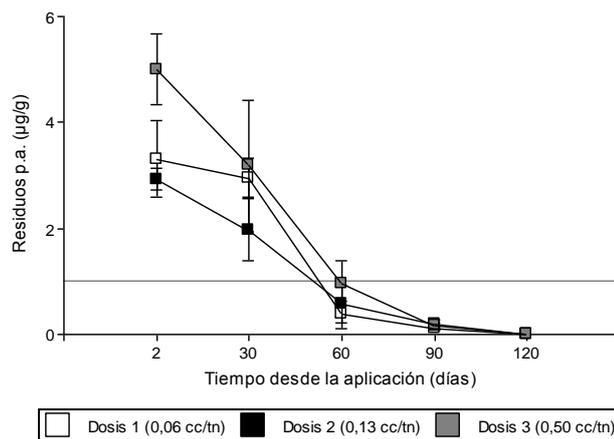


Fig. 5.51. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de deltametrina en granos de soja en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR. Ref: dosis 0,06 cc/tn (cuadrado blanco), dosis 0,13 cc/tn (cuadrado negro) y dosis 0,5 cc/tn (cuadrado gris). LMR SENASA soja=0,02 µg/g.

En granos de soja los residuos se encontraron diferencias en los niveles de residuos ($p < 0,05$) provenientes de la dosis de 0,5 cc/tn a los 2 días respecto a las otras dosis de principio activo (mezclas con clorpirifós-metil y diclorvós) (Fig. 5.51). Las TDD fueron mayores para la dosis más alta del principio activo deltametrina en ambas matrices, lo cuál concuerda con estudios en los cuales se observó que cuanto más altas son las dosis aplicadas mayor es la tasa de pérdida de insecticidas (Singh y Chawla, 1980).

Residuos de diclorvós en diferentes formulaciones

El principio activo diclorvós fue aplicado en los tratamientos en dos formulaciones de producto comercial, ambas en la dosis máxima recomendada de 20 cc/tn de granos. La formulación de diclorvós como EC (concentrado emulsionable) al 100%, significa una dosis de principio activo de 20 cc/tn de granos y la formulación de diclorvós+deltametrina (EC, 90%+0,3%) representa una dosis de 18 cc/tn de granos, por lo cuál se comparan a continuación los niveles de residuos detectados en ambos tratamientos y la posible influencia de la dosis sobre el nivel de residuos de diclorvós en granos de soja y maíz (Tabla 5.28).

Tabla 5.28. Media y desvío estándar y tasa de disipación diaria (TDD) de los residuos de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación en diferentes dosis teóricas (gr/tn) de principio activo de acuerdo a la formulación comercial. LMR SENASA= 5 µg/g. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,003 µg/g y LD soja= 0,006 µg/g); <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,006 µg/g y LC soja= 0,012 µg/g).

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Dosis Teórica objetivo (gr/tn)	Tiempo desde la aplicación (días)	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Maíz TDD (µg.g ⁻¹ /día)	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja TDD (µg.g ⁻¹ /día)
Diclorvós	Diclorvós	20	2	9,27±1,78 a	0,225	6,76±2,14 a	0,181
Diclorvós	Diclorvós	20	30	2,97±0,27 c	0,086	1,68±0,65 c	0,042
Diclorvós	Diclorvós	20	60	0,38±0,15 d	0,012	0,41±0,21 d	0,010
Diclorvós	Diclorvós	20	90	0,02±0,02 d	0,001	0,10±0,07 d	0,003
Diclorvós	Diclorvós	20	120	<LC		<LC o ND	
Dicl+delt	Diclorvós	18	2	5,03±1,29 b	0,180	3,95±0,42 b	0,115
Dicl+delt	Diclorvós	18	30	1,07±0,47 d	0,036	0,74±0,41 cd	0,013
Dicl+delt	Diclorvós	18	60	0,19±0,08 d	0,006	0,35±0,18 d	0,010
Dicl+delt	Diclorvós	18	90	0,01±0,01 d	0,0003	0,04±0,03 d	0,001
Dicl+delt	Diclorvós	18	120	<LC		<LC	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) entre los tratamientos aplicados dentro de cada matriz correspondiendo a la interacción dosis de p.a*tiempo desde la aplicación.

Tanto en granos de maíz como de soja se encontró efecto de las dosis de principio activo, tiempo desde la aplicación y de la interacción ($p < 0,05$) sobre el nivel de residuos de diclorvós (Tabla 5.28). Los residuos siguen una dinámica de disipación en la cual a medida que transcurren los días desde la aplicación los niveles de residuos disminuyen y cuanto mayor fue la dosis de principio activo, más altos fueron los niveles de residuos de plaguicidas lo cual concuerda con lo reportado en la bibliografía (Balnova *et al.*, 2006; Strada *et al.*, 2012).

En granos de maíz para ambas dosis los residuos se encontraron por encima del LMR a los 2 días desde la aplicación, cumpliendo a los 30 días en el período de carencia, con los niveles de residuos aceptados en el LMR establecido por SENASA (Fig. 5.52).

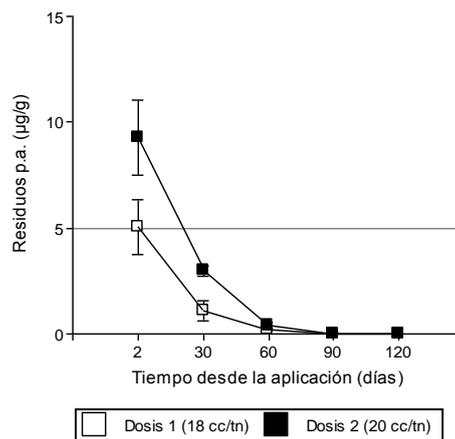


Fig. 5.52. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de maíz en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días y su relación con el LMR. Ref: dosis 1 18 cc/tn (cuadrado blanco) y dosis 20cc/tn (cuadrado negro). LMR SENASA= 5 µg/g.

En el caso de granos de soja, la dosis de 20 cc/tn genera residuos por encima del LMR a los 2 días desde la aplicación lo cual no ocurre con la aplicación de la dosis de 18 cc/tn de diclorvós (Fig. 5.53).

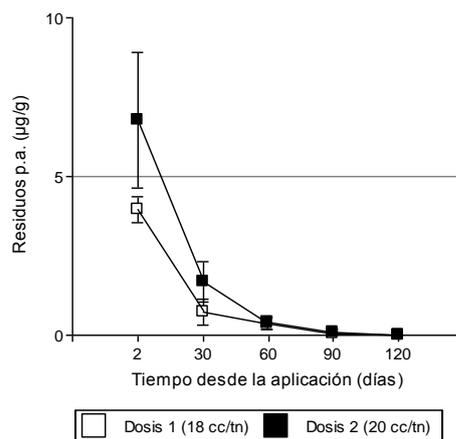


Fig. 5.53. Curvas de disipación (Media y DE) de los residuos de diclorvós en granos de soja en diferentes dosis de p.a. de acuerdo a la formulación comercial a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación y su relación con el LMR. Ref: dosis 1 18 cc/tn (cuadrado blanco) y dosis 20cc/tn (cuadrado negro). LMR SENASA= 5 µg/g.

En todos los casos analizados, los residuos de diclorvós se encuentran por debajo del LMR a los 30 días desde la aplicación por lo cuál se cumple con la reglamentación vigente en nuestro país, aunque si consideramos las reglamentaciones de la UE (Tabla 1.8) en la cual el LMR para diclorvós es 0,01 µg/g, el tiempo de espera teórico para maíz sería de 100 días para la dosis de aplicación de 20 cc/tn y de 90 días para la dosis de aplicación de 18 cc/tn y para soja entre 120 y 130 días respectivamente, por lo tanto si estos granos estuvieran destinados a las exportaciones no se lograría cumplir el estándar de inocuidad requerido.

Las TDD son más altas en maíz respecto a soja, lo cual puede relacionarse a lo anteriormente discutido respecto a la retención bioquímica de plaguicidas en esta matriz por su mayor contenido lipídico. Acorde a lo reportado en la bibliografía, las TDD son mayores en la dosis más alta de principio activo (Singh y Chawla, 1980).

Conclusiones

- Los ensayos realizados, formas de aplicación, protocolos de seguridad para el lavado de materiales y manejo de las muestras como así también los controles de calidad realizados se consideran adecuados respecto de evitar la contaminación cruzada. En el caso de la aplicación de clorpirifós-metil se evidencian en granos de soja niveles de residuos superiores al depósito esperado de acuerdo a la dosis aplicada por lo cuál puede inferirse falta de homogeneidad en la aplicación.

- La técnica de QuEChERS fue validada para los analitos pirimifós-metil, diclorvós y clorpirifós-metil en la matriz de granos de soja y maíz. En todos los analitos analizados se observa un efecto de la matriz por lo tanto las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de los niveles de residuos. Los valores de Coeficiente de Variación y R^2 para las curvas de calibración se consideran adecuados ya que se encuentran dentro de los parámetros de aceptación, por lo tanto dichas curvas son válidas para la cuantificación de los residuos en el rango lineal de concentraciones establecido para cada principio activo. Se acepta la exactitud de los resultados obtenidos ya que los valores de Recuperación porcentual (R%) se encontraron dentro del rango de aceptación establecido. Los valores de Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron menores en todos los casos a los CV% calculados mediante la ecuación de Horwitz por lo cual se acepta la precisión de los resultados. Los valores de Incertidumbre expandida (U%) y los Límites de Detección (LD) y Cuantificación (LC) fueron adecuados para el objetivo propuesto. Respecto al principio activo deltametrina, si bien los parámetros de aceptación indican que la técnica es válida, el rango lineal de trabajo es acotado y se presentan dificultades para detectar deltametrina en bajas concentraciones nominales. En base a lo anteriormente expuesto no podría aceptarse la validación en las determinaciones de residuos del principio activo deltametrina ya que los resultados obtenidos no se consideran válidos ni respaldatorios del comportamiento del plaguicida aplicado en almacenamiento de granos de soja y maíz.

- Las aplicaciones de insecticidas en granos almacenados de soja y maíz deben realizarse siempre considerando las recomendaciones de uso. Los niveles de residuos de todos los principios activos estudiados siguen una dinámica de disipación en la cuál a medida que

transcurre el tiempo desde la aplicación los niveles de residuos disminuyen. Los porcentajes de desaparición de residuos y las Tasas de Disipación Diarias fueron variables entre las matrices de grano de soja y maíz y los principios activos en estudio.

-Las aplicaciones de pirimifós-metil en granos de soja y maíz para el control de plagas en granos almacenados, en sus dosis recomendadas por CASAFE para el máximo período de protección, no generan en los granos residuos por encima del LMR establecido por SENASA a las 48 horas desde la aplicación tras lo cual se considera cumplido el período de espera mínimo para el consumo. También cumplirían con los límites establecidos para los EUA y *Codex*, superando el valor reglamentario para la UE.

- Las aplicaciones de diclorvós en granos de soja y maíz para el control de plagas en granos almacenados, respetando las dosis indicadas, disipan en forma adecuada alcanzando valores menores al LMR establecido por SENASA transcurrido el período de carencia recomendado de 30 días, siendo los residuos levemente más persistentes en granos de soja. Sin embargo si se consideran los LMR establecidos para la UE en 0,01 µg/g los residuos se encontrarían sobre este nivel máximo permitido hasta 90 días en el caso de maíz y 120 días en el caso de soja para la dosis máxima recomendada en nuestro país de 20 cc/tn de granos.

- Los niveles iniciales de residuos del principio activo deltametrina superan entre 10 y 70 veces los valores esperados de depósito inicial de acuerdo a la dosis aplicada. Por lo tanto en el presente trabajo de tesis no se concluye respecto al comportamiento de dicho principio activo en almacenamiento de granos de soja y maíz y se infiere una posible limitante analítica para la determinación de los residuos. Por otro lado, aún si se hubieran alcanzado los niveles esperados de depósito inicial, los residuos hubieran sido superiores a los LMR en el caso de los granos de soja ya que los límites para dicho principio activo y matriz son muy restrictivos en comparación a los establecidos para granos en general.

- La aplicación de la mezcla de clorpirifós-metil y deltametrina para el control de insectos en granos almacenados, genera residuos de clorpirifós-metil en los granos por debajo del LMR en granos de maíz tras dos días de la aplicación, mientras que en granos de soja se supera este nivel aceptable, lo cuál puede deberse al alto nivel inicial de residuos encontrándose por encima del depósito teórico de acuerdo a la dosis aplicada. Por lo tanto se concluye en la necesidad de adecuarse a las Buenas Prácticas Agrícolas en la aplicación de plaguicidas en especial las dosis aplicadas y su distribución en la masa de granos ya que se infiere que esta variabilidad se ha reflejado en el resultado obtenido. Respecto al

principio activo deltametrina no se ha podido concluir considerando lo anteriormente expuesto.

- Los resultados obtenidos analizando las diferentes dosis de principio activo deltametrina de acuerdo a la formulación aplicada, si bien los niveles de residuos fueron superiores a los esperados por la dosis aplicada, permiten establecer una interacción de la dosis de principio activo y el tiempo desde la aplicación siendo mayores los niveles de residuos cuanto mayor la dosis aplicada respecto a la concentración de este principio activo en la formulación.

- Diferentes dosis aplicadas del principio activo diclorvos de acuerdo a la formulación generan residuos en los granos por debajo del LMR establecido por SENASA transcurrido el período de carencia, aunque es importante considerar que a mayores dosis los niveles de residuos son mayores.

RESIDUOS DE INSECTICIDAS APLICADOS DE MANERA REPETIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE GRANOS DE SOJA Y MAÍZ

Objetivo específico

Identificar y cuantificar los residuos de insecticidas aplicados de manera repetida durante el almacenamiento de granos de soja y maíz.

Materiales y métodos

El ensayo de simulación de las aplicaciones repetidas de insecticidas nos permite determinar el efecto de prácticas no recomendadas, ya sea por negligencia o descuido, sobre el nivel de residuos en los granos. Para esto se realizaron dobles y triples aplicaciones sobre la misma muestra de granos. Los ensayos se realizaron durante el año 2010 en un período de 120 días. Se dispuso, al igual que para los ensayos de disipación de insecticidas, de un galpón con techo y paredes de chapa de zinc debidamente acondicionado con estanterías de aluminio. Se utilizaron baldes plásticos negros de 20 litros de capacidad con sus respectivas tapas, simulando lo que ocurre en almacenamiento en silos. Las tapas contaron con perforaciones adecuadas para permitir el intercambio gaseoso. Todas las condiciones de cuidados en la manipulación de los granos, preparación de los materiales y del caldo de aplicación fueron similares a las descritas en el Capítulo V. En cada uno de los baldes se colocaron 13 kg de granos de soja o maíz. Para realizar la aplicación se

desparramaron los granos sobre una placa de polietileno de 100 micrones logrando una capa de una profundidad de capa de granos de 1 cm a fin lograr homogeneidad en la aplicación. Las aplicaciones fueron realizadas con pulverizador manual tipo Gerber de 1,5 litros de capacidad. Las dosis aplicadas fueron las máximas recomendadas que aseguran el mayor período de protección contra las plagas: para pirimifós-metil 10 cc/tn de grano en 500 cc de agua, clorpirifós-metil + deltametrina 20 cc/tn de grano en 400 cc de agua, deltametrina + butóxido de piperonilo 20 cc/tn de grano en 400 cc de agua, diclorvós 20 cc/tn de grano en 1000 cc de agua y diclorvós + deltametrina 20 cc/tn de grano en 500 cc de agua. Se realizaron tres repeticiones por ensayo y se contó con un testigo por triplicado sin aplicación de plaguicidas.

El armado de los ensayos se realizó el día 1° de septiembre de 2010 (día 0). Ese mismo día se aplicó la dosis teórica propuesta para cada principio activo. A los 60 días y previo a la segunda aplicación, se tomó la muestra correspondiente, luego se retiraron los granos del tarro, se colocaron sobre una plancha de polietileno y se aplicó nuevamente cada principio activo en la dosis indicada, luego se volvieron a colocar los granos dentro del tarro correspondiente; a los 90 días se realizó la tercera aplicación previa toma de la muestra correspondiente a dos aplicaciones, siguiendo el mismo procedimiento y a los 120 días se tomó la última muestra de cada tarro con triple aplicación (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Resumen de los datos de ensayos experimentales de aplicación de manera repetida de insecticidas en almacenamiento de granos de soja y maíz.

Principios Activos	Dosis teórica (cc/tn o gr/tn)	Día de aplicación	Fecha de aplicación	Muestreo (Días desde la primera aplicación y fecha)	Número de aplicaciones en la muestra
Clorpirifós-metil + deltametrina	20	Día 0	01/09/2010	Día 60 1/11/2010	1
		Día 60	01/11/2010	Día 90 1/12/2010	2
		Día 90	01/12/2010	Día 120 05/01/2010	3
Pirimifós-metil	10	Día 0	01/09/2010	Día 60 1/11/2010	1
		Día 60	01/11/2010	Día 90 1/12/2010	2
		Día 90	01/12/2010	Día 120 05/01/2010	3
Deltametrina + butóxido de piperonilo	20	Día 0	01/09/2010	Día 60 1/11/2010	1
		Día 60	01/11/2010	Día 90 1/12/2010	2
		Día 90	01/12/2010	Día 120 05/01/2010	3
Diclorvós	20	Día 0	01/09/2010	Día 60 1/11/2010	1
		Día 60	01/11/2010	Día 90 1/12/2010	2
		Día 90	01/12/2010	Día 120 05/01/2010	3
Diclorvós +deltametrina	20	Día 0	01/09/2010	Día 60 1/11/2010	1
		Día 60	01/11/2010	Día 90 1/12/2010	2
		Día 90	01/12/2010	Día 120 05/01/2010	3

Resultados de validación de la técnica

La técnica de QuEChERS fue validada para los principios activos y las matrices en estudio y los ensayo realizados y resultados obtenidos se han descripto anteriormente en el Capítulo V.

Resultados y Discusión

Los niveles de residuos se expresan microgramos de principio activo por gramo de material vegetal ($\mu\text{g/g}$).

Como “tratamientos repetidos” se define la aplicación de un mismo plaguicida repetidamente, con ciertos intervalos de tiempo sobre el mismo material vegetal. En estos casos puede darse un efecto acumulativo de los residuos debido a que en el momento de efectuar la aplicación se cuenta con residuos iniciales a los que se les sumará el depósito correspondiente, lo cuál sería como una superposición continuada de las curvas de disipación con efecto acumulativo de los residuos (Coscollá, 1993). Este efecto puede ser todavía más acusado debido a la lenta degradación de los plaguicidas en el almacenamiento por la falta del efecto de los factores ambientales en la disipación y los tratamientos realizados temporalmente cercanos al momento del consumo (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009).

Es sabido que los agricultores tienen tendencia de sobredosificar los plaguicidas a fin de asegurar una alta calidad externa de los productos y debido a que los niveles de residuos son dependiente de las dosis, las aplicaciones repetidas de plaguicidas, en especial cerca de la cosecha, pueden acumularse dando lugar a niveles de residuos en el intervalo de pre-cosecha sobre el nivel máximo de residuos (Martínez Vidal *et al.*, 1998; Sadlo, 2000; Zhang *et al.*, 2006; Randhawa *et al.*, 2007; Angioni *et al.*, 2011). Otros autores también destacan la prevalencia del uso en planteos productivos de principios activos altamente tóxicos, además de las aplicaciones múltiples y dosis superiores las recomendadas como el principal problema de los residuos (Pierre y Betancourt, 2007).

En los resultados obtenidos se evidencia, para todos los principios activos en estudio, un efecto acumulativo de los residuos de insecticidas debido a tratamientos repetidos. Existe una cantidad limitada de plaguicidas permitidos legalmente para su uso en

granos almacenados, los cuales poseen una alta eficacia de control, baja toxicidad al hombre, amplios períodos de protección y dosificados correctamente no afectan la calidad de los granos ni la salud del consumidor. Es importante aplicar estrictamente las dosis recomendadas y evitar las aplicaciones múltiples cuando aun existe poder residual de la aplicación anterior para evitar la presencia de residuos por encima de los permitidos (Novo *et al.*, 2011). Esto concuerda con lo recomendado por otros autores respecto a la utilización de Buenas Prácticas Agrícolas respetando las dosis y evitando tratamientos fitosanitarios inadecuados (Coscollá, 1993; Arrebola *et al.*, 2001; Balinova *et al.*, 2007; Piñero Gonzalez, *et al.*, 2007; Arregui *et al.*, 2007; Kulczycki *et al.*, 2012).

Residuos de pirimifós-metil

Analizando los resultados obtenidos en aplicaciones múltiples de pirimifós-metil en granos de soja y maíz almacenados, se evidencia un efecto acumulativo de los residuos debido a los tratamientos repetidos (Tabla 6.2).

Tabla 6.2. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de pirimifós metil en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,006 $\mu\text{g/g}$ y LD soja=0,003 $\mu\text{g/g}$) <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,012 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,006 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA= 10 $\mu\text{g/g}$

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la primera aplicación (días)	Número de Aplicaciones	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	2	1 c	5,10 \pm 0,42 c	5,17 \pm 1,73 c
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	30	1 c	3,54 \pm 0,43 c	3,12 \pm 0,80 d
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	60	1 c	1,52 \pm 0,31 de	0,95 \pm 0,36 ef
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	90	1 c	0,72 \pm 0,23 d	0,69 \pm 0,30 de
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	120	1 c	<LC	<LC
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	90	2 a	16,19 \pm 1,59 a	17,18 \pm 1,97 a
Pirimifós-metil	Pirimifós-metil	120	3 b	12,12 \pm 2,02 b	13,18 \pm 1,18 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en el número de aplicaciones (columna Número de aplicaciones) y en la interacción tiempo desde la aplicación*número de aplicaciones en cada matriz.

En ambas matrices a partir de los 2 días desde la aplicación los niveles de residuos se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA al realizar una única aplicación de pirimifós-metil. Sin embargo al realizar una nueva aplicación a los 60 días,

los niveles de residuos a los 90 días sobrepasan el LMR en ambas matrices. Lo mismo ocurre con muestras a los 120 días al aplicar una tercera dosis del principio activo a los 90 días del almacenamiento. Realizando una sola aplicación, a los 120 días el nivel de residuos en ambas matrices se encontró por debajo del Límite de Cuantificación de la técnica mientras que en las dobles y triples aplicaciones se supera el LMR (Fig. 6.1 y 6.2). Se estableció que existe influencia del número de aplicaciones siendo las medias diferentes para una, dos y tres aplicaciones ($p < 0,05$) y además existe un efecto combinado de los días desde la aplicación y el número de aplicaciones.

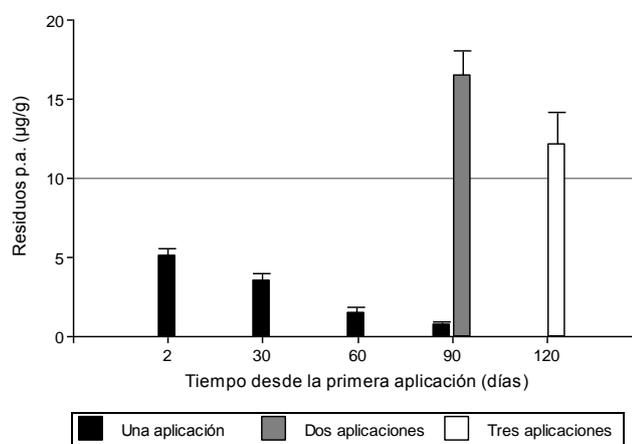


Fig. 6.1. Media y desvío estándar (µg/g) de los residuos de pirimifós metil en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con LMR. LMR SENASA= 10 µg/g.

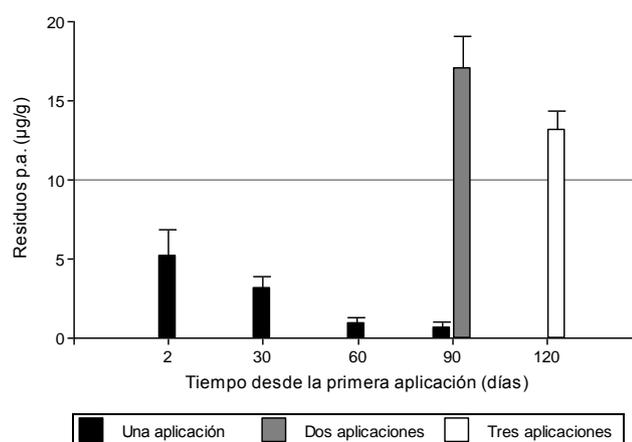


Fig. 6.2. Media y desvío estándar (µg/g) de los residuos de pirimifós metil en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con LMR. LMR SENASA= 10 µg/g.

Residuos de diclorvós

Para el principio activo diclorvós, las aplicaciones múltiples en granos de soja y maíz almacenados, produjeron un efecto acumulativo de los niveles de residuos debido a estos tratamientos repetidos (Tabla 6.3).

Tabla 6.3. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,003 $\mu\text{g/g}$ y LD soja= 0,006 $\mu\text{g/g}$), <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,006 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,012 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA= 5 $\mu\text{g/g}$.

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la primera aplicación (días)	Número de aplicaciones	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
Diclorvós	Diclorvós	2	1 c	9,27 \pm 1,78 a	6,76 \pm 2,14 a
Diclorvós	Diclorvós	30	1 c	2,97 \pm 0,27 c	1,68 \pm 0,65 bc
Diclorvós	Diclorvós	60	1 c	0,38 \pm 0,15 d	0,41 \pm 0,21 cd
Diclorvós	Diclorvós	90	1 c	0,02 \pm 0,02 c	0,10 \pm 0,07 b
Diclorvós	Diclorvós	120	1 c	<LC	<LC o ND
Diclorvós	Diclorvós	90	2 a	4,88 \pm 0,43 b	3,37 \pm 0,44 a
Diclorvós	Diclorvós	120	3 b	1,46 \pm 0,19 c	1,38 \pm 0,61 bc

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en el número de aplicaciones (columna Número de aplicaciones) y en la interacción tiempo desde la aplicación número de aplicaciones en cada matriz.*

Tanto en granos de soja como de maíz, a partir de los 30 días desde la aplicación los niveles de residuos se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA al realizar una aplicación de diclorvós; encontrando que transcurrido el período de carencia de 30 días estos granos cumplen con la reglamentación nacional. Al realizar una segunda aplicación a los 60 días, en las muestras recolectadas a 90 días se evidencia un aumento del nivel de residuos, al igual que ocurre cuando se realiza una tercera aplicación a los 90 días, lo cual repercute en los niveles de residuos en las muestras a los 120 días. En ambas matrices, si bien el aumento de los residuos es notable, los niveles se encontraron por debajo del LMR a partir de los 2 días desde la aplicación, en el caso de maíz a los 90 días en las muestras con dos aplicaciones el valor se acerca mucho al nivel máximo permitido por el LMR. Realizando una sola aplicación, a los 120 días el nivel de residuos en ambas matrices se encontró por debajo del Límite de Cuantificación o Detección de la técnica mientras que en las dobles y triples aplicaciones aún se pueden cuantificar residuos en los granos, lo cual tiene implicancia por el efecto acumulativo de los residuos (Fig. 6.3 y 6.4). Se estableció que existe influencia del número de aplicaciones siendo las medias diferentes

para 1, 2 y 3 aplicaciones ($p < 0,05$) y además existe un efecto combinado de los días desde la aplicación y el número de aplicaciones.

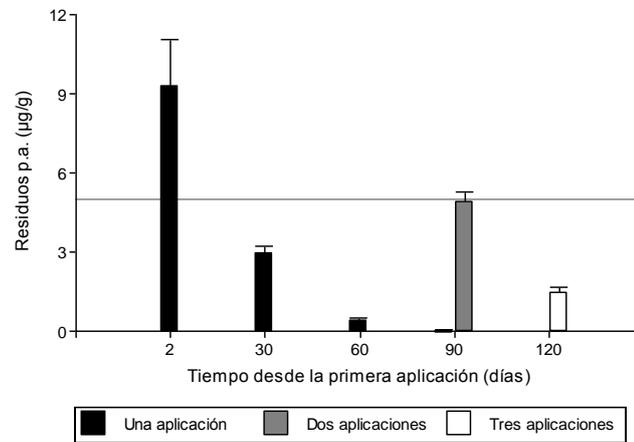


Fig. 6.3. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con el LMR. LMR SENASA= 5 $\mu\text{g/g}$.

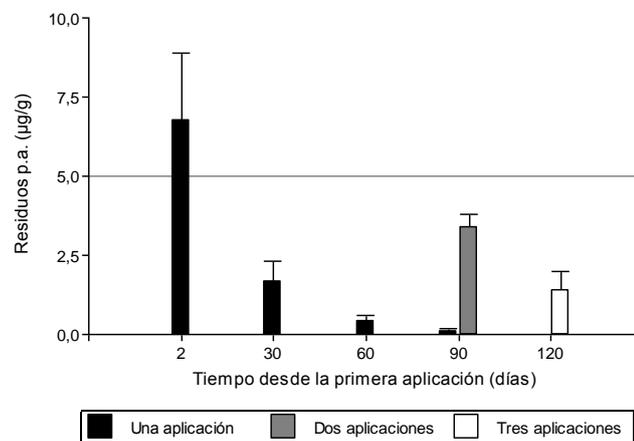


Fig. 6.4. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con el LMR. LMR SENASA= 5 $\mu\text{g/g}$.

Residuos de deltametrina

Analizando los resultados obtenidos en aplicaciones múltiples de deltametrina en granos de soja y maíz almacenados, se evidencia un efecto acumulativo de los residuos debido a los tratamientos repetidos (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones. Ref: ND= no detectado (LD maíz= 0,054 $\mu\text{g/g}$ y LD soja= 0,021 $\mu\text{g/g}$), <LC= menor al límite de cuantificación (LC maíz= 0,108 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,042 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA granos en general= 1 $\mu\text{g/g}$, LMR SENASA soja= 0,02 $\mu\text{g/g}$.

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la primera aplicación (días)	Número de aplicaciones	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
Deltametrina	Deltametrina	2	1 c	8,50 \pm 1,80 b	5,00 \pm 0,67 b
Deltametrina	Deltametrina	30	1 c	1,73 \pm 0,80 cd	3,18 \pm 1,24 c
Deltametrina	Deltametrina	60	1 c	0,89 \pm 0,51 cd	0,96 \pm 0,42 de
Deltametrina	Deltametrina	90	1 c	0,07 \pm 0,04 c	0,16 \pm 0,06 d
Deltametrina	Deltametrina	120	1 c	<LC	<LC o ND
Deltametrina	Deltametrina	90	2 a	15,00 \pm 2,46 a	8,41 \pm 1,90 a
Deltametrina	Deltametrina	120	3 b	4,75 \pm 0,58 b	2,69 \pm 0,60 bc

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en el número de aplicaciones (columna Número de aplicaciones) y en la interacción tiempo desde la aplicación número de aplicaciones en cada matriz.*

Los resultados obtenidos en aplicaciones repetidas del principio activo deltametrina muestran niveles altos de residuos en las muestras analizadas a los dos días desde la aplicación y muy por encima del depósito teórico esperado respecto a la dosis aplicada. Por lo tanto, si bien se analizará el efecto de las aplicaciones repetidas de este principio activo, los niveles de residuos obtenidos no deben tomarse como referencia del comportamiento de este plaguicida en las matrices de grano de soja y maíz almacenadas. Para el principio activo deltametrina se estableció que existe influencia del número de aplicaciones siendo las medias diferentes para 1, 2 y 3 aplicaciones ($p < 0,05$) y además existe un efecto combinado de los días desde la aplicación y el número de aplicaciones.

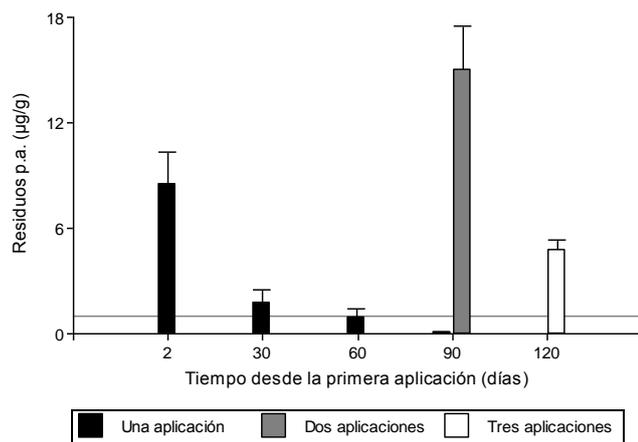


Fig. 6.5. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con el LMR. LMR SENASA granos en general= $1 \mu\text{g/g}$. LMR SENASA soja = $0,02 \mu\text{g/g}$.

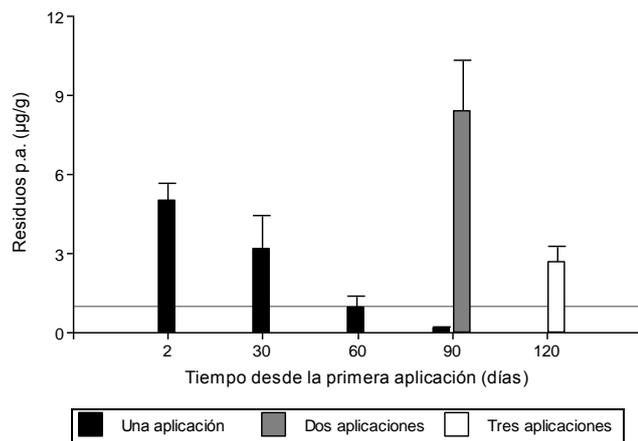


Fig. 6.6. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de deltametrina en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (negro), a los 90 días con dos aplicaciones (gris) y a los 120 días con tres aplicaciones (blanco) y su relación con el LMR. LMR SENASA granos en general= $1 \mu\text{g/g}$. LMR SENASA soja = $0,02 \mu\text{g/g}$.

Residuos de clorpirifós-metil y deltametrina

Las aplicaciones múltiples de la mezcla comercial de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de soja y maíz almacenados, producen un efecto acumulativo de los residuos (Tabla 6.5).

Tabla 6.5. Media y desvío estándar (µg/g) de los residuos de clorpirifós-metil y deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones. Ref: ND= no detectado (Clorpirifós metil: LD maíz= 0,003 µg/g y LD soja= 0,003 µg/g; Deltametrina: LD maíz= 0,054 µg/g y LD soja= 0,021 µg/g), <LC= menor al límite de cuantificación (Clorpirifós-metil: LC maíz= 0,006 µg/g y LC soja= 0,006 µg/g; Deltametrina LC maíz= 0,108 µg/g y LC soja= 0,042 µg/g). LMR SENASA clorpirifós-metil= 5 µg/g, LMR SENASA deltametrina granos en general= 1 µg/g, LMR SENASA deltametrina soja= 0,02 µg/g

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la primera aplicación (días)	Número de aplicaciones	Maíz Residuos (µg/g) Media±D.E.	Soja Residuos (µg/g) Media±D.E.
Clorp+deltam	Clorpirifós	2	1 c	1,98±0,54 b	7,14±1,06 a
Clorp+deltam	Clorpirifós	30	1 c	1,29±0,58 bc	2,32±0,57 c
Clorp+deltam	Clorpirifós	60	1 c	0,67±0,43 cd	1,29±0,25 d
Clorp+deltam	Clorpirifós	90	1 c	0,10±0,05 c	0,36±0,15 c
Clorp+deltam	Clorpirifós	120	1 c	<LC	<LC
Clorp+deltam	Clorpirifós	90	2 a	2,59±0,81 a	3,60±0,51 b
Clorp+deltam	Clorpirifós	120	3 b	2,22 ±0,25 b	1,97±0,37 cd
Clorp+deltam	Deltametrina	2	1 c	4,56±2,22 ab	2,93±0,20 b
Clorp+deltam	Deltametrina	30	1 c	1,84±0,70 c	1,97±0,59 bc
Clorp+deltam	Deltametrina	60	1 c	0,10±0,05 c	0,58±0,35 cd
Clorp+deltam	Deltametrina	90	1 c	ND	0,18±0,10 c
Clorp+deltam	Deltametrina	120	1 c	ND	<LC o ND
Clorp+deltam	Deltametrina	90	2 a	4,48±0,93 a	6,00±1,34 a
Clorp+deltam	Deltametrina	120	3 b	8,12±1,66 b	3,50±1,64 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en el número de aplicaciones (columna Número de aplicaciones) y en la interacción tiempo desde la aplicación número de aplicaciones en cada matriz y principio activo*

Los residuos de clorpirifós-metil se encontraron por debajo del LMR a los 2 días desde la aplicación en granos de maíz y a los 30 días en granos de soja, cuando se realiza una sola aplicación (Fig. 6.7 y 6.8). Los altos niveles de residuos iniciales en granos de soja pueden deberse a una falta de uniformidad en la distribución del plaguicida durante el tratamiento en los ensayos experimentales. Al realizar una segunda aplicación a los 60 días, los residuos de este principio activo en las muestras a los 90 días se encuentran por debajo del LMR establecido por SENASA en 5 µg/g, al igual que ocurre con las muestras a los 120 días a las que se realizaron tres aplicaciones. Sin embargo, si consideramos que el período de carencia para clorpirifós-metil es de 20 a 30 horas desde la aplicación, las aplicaciones múltiples pueden generar residuos en los granos si se tomaran muestras luego de la aplicación en este intervalo de tiempo, por lo tanto no se recomiendan las aplicaciones múltiples de este principio activo.

Los residuos de deltametrina presentan el mismo comportamiento discutido anteriormente por lo tanto no deben tomarse tales valores como representativos del

comportamiento de este principio activo en almacenamiento de granos de soja y maíz. Sin embargo se estableció que existe influencia del número de aplicaciones siendo las medias diferentes para 1, 2 y 3 aplicaciones ($p < 0,05$) y además existe un efecto combinado de los días desde la aplicación y el número de aplicaciones.

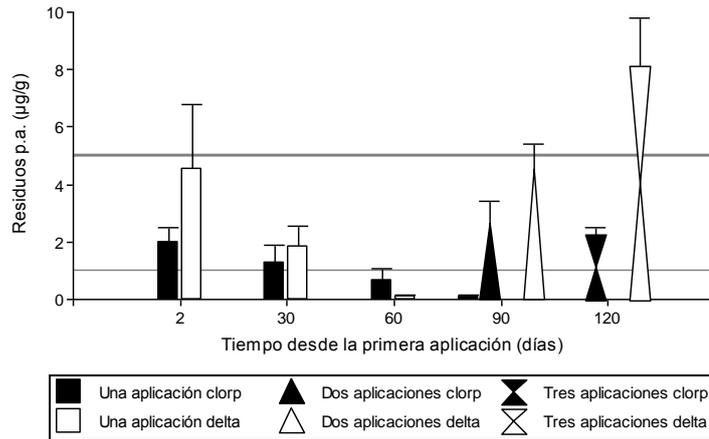


Fig. 6.7. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de clorpirifós-metil (negro) y deltametrina (blanco) en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (barra), a los 90 días con dos aplicaciones (triángulo) y a los 120 días con tres aplicaciones (reloj) y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR SENASA deltametrina= $1 \mu\text{g/g}$ y línea ancha LMR SENASA Clorpirifós-metil= $5 \mu\text{g/g}$.

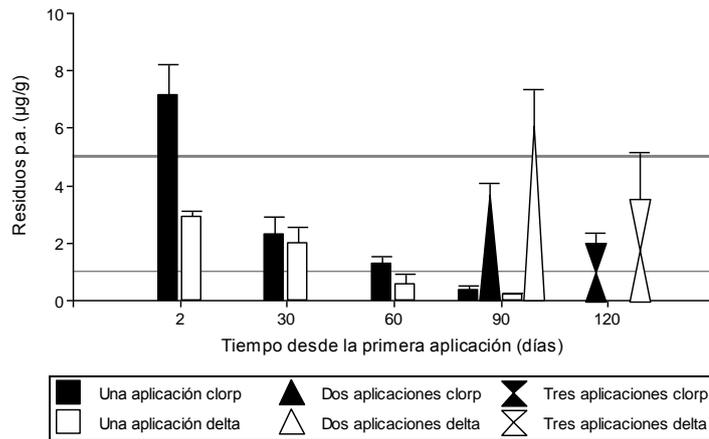


Fig. 6.8. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de clorpirifós-metil (negro) y deltametrina (blanco) en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (barra), a los 90 días con dos aplicaciones (triángulo) y a los 120 días con tres aplicaciones (reloj) y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR SENASA deltametrina= $1 \mu\text{g/g}$ y línea ancha LMR SENASA Clorpirifós-metil= $5 \mu\text{g/g}$.

Residuos de diclorvós y deltametrina

Para ambos principios activos se evidencia un efecto acumulativo sobre el nivel de los residuos debido a las aplicaciones repetidas del formulado de diclorvós+deltametrina, existiendo una influencia significativa del número de aplicaciones sobre la media de residuos calculada ($p < 0,05$), además del efecto combinado de los días desde la aplicación y el número de aplicaciones (Tabla 6.6).

Tabla 6.6. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós y deltametrina en granos de soja y maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación, a los 90 días con dos aplicaciones y a los 120 días con tres aplicaciones. Ref: ND= no detectado (Diclorvós: LD maíz= 0,003 $\mu\text{g/g}$ y LD soja= 0,006 $\mu\text{g/g}$; Deltametrina: LD maíz= 0,054 $\mu\text{g/g}$ LD soja= 0,021 $\mu\text{g/g}$), <LC= menor al límite de cuantificación (Diclorvós: LC maíz= 0,006 $\mu\text{g/g}$ y LC soja= 0,012 $\mu\text{g/g}$, Deltametrina: LC maíz= 0,108 $\mu\text{g/g}$ LC soja= 0,042 $\mu\text{g/g}$). LMR SENASA diclorvós= 5 $\mu\text{g/g}$, LMR SENASA deltametrina= 1 $\mu\text{g/g}$.

Producto aplicado	Principio activo del residuo	Tiempo desde la primera aplicación (días)	Número De aplicaciones	Maíz Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.	Soja Residuos ($\mu\text{g/g}$) Media \pm D.E.
Diclo+deltam	Diclorvós	2	1 c	5,03 \pm 1,29 a	3,95 \pm 0,42 a
Diclo+deltam	Diclorvós	30	1 c	1,07 \pm 0,47 cd	0,74 \pm 0,41 bc
Diclo+deltam	Diclorvós	60	1 c	0,19 \pm 0,08 d	0,35 \pm 0,18 c
Diclo+deltam	Diclorvós	90	1 c	0,01 \pm 0,01 c	0,04 \pm 0,03 b
Diclo+deltam	Diclorvós	120	1 c	<LC	<LC
Diclo+deltam	Diclorvós	90	2 a	2,48 \pm 1,12 b	2,33 \pm 0,68 a
Diclo+deltam	Diclorvós	120	3 b	1,56 \pm 0,22 c	0,98 \pm 0,66 b
Diclo+deltam	Deltametrina	2	1 c	4,46 \pm 0,85 a	3,30 \pm 0,73 b
Diclo+deltam	Deltametrina	30	1 c	0,86 \pm 0,38 c	2,96 \pm 0,37 b
Diclo+deltam	Deltametrina	60	1 c	0,14 \pm 0,06 c	0,37 \pm 0,25 d
Diclo+deltam	Deltametrina	90	1 c	<LC	0,10 \pm 0,03 c
Diclo+deltam	Deltametrina	120	1 c	<LC o ND	<LC o ND
Diclo+deltam	Deltametrina	90	2 a	4,55 \pm 2,28 a	5,29 \pm 1,01 a
Diclo+deltam	Deltametrina	120	3 b	3,47 \pm 1,31 b	2,34 \pm 1,36 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) en el número de aplicaciones (columna Número de aplicaciones) y en la interacción tiempo desde la aplicación número de aplicaciones en cada matriz y principio activo*

Los residuos de diclorvós superaron levemente el LMR en granos de maíz a los 2 días para una sola aplicación, mientras que para el resto de las mediciones en esta matriz y todas las mediciones en soja aún en dobles y triples aplicaciones los niveles de residuos se encontraron por debajo del LMR (Fig. 6.9 y 6.10). Se encontró influencia de los días desde la aplicación*número de aplicaciones en los niveles de residuos de diclorvós siendo diferentes los valores encontrados con 1, 2 y 3 aplicaciones ($p < 0,05$). Respecto a los residuos de deltametrina, si bien no se pueden tomar como verdaderos los valores

obtenidos según lo anteriormente discutivo, existe también un efecto de las aplicaciones múltiples sobre los niveles de residuos.

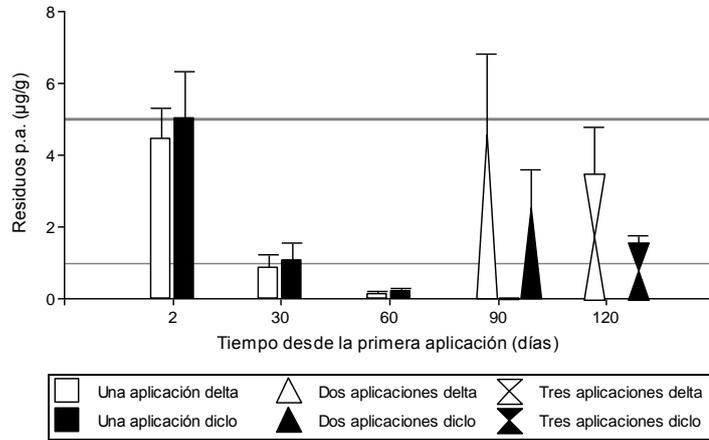


Fig. 6.9. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós (negro) y deltametrina (blanco) en granos de maíz a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (barra), a los 90 días con dos aplicaciones (triángulo) y a los 120 días con tres aplicaciones (reloj) y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR SENASA deltametrina= $1 \mu\text{g/g}$ y línea ancha LMR SENASA Diclorvós= $5 \mu\text{g/g}$.

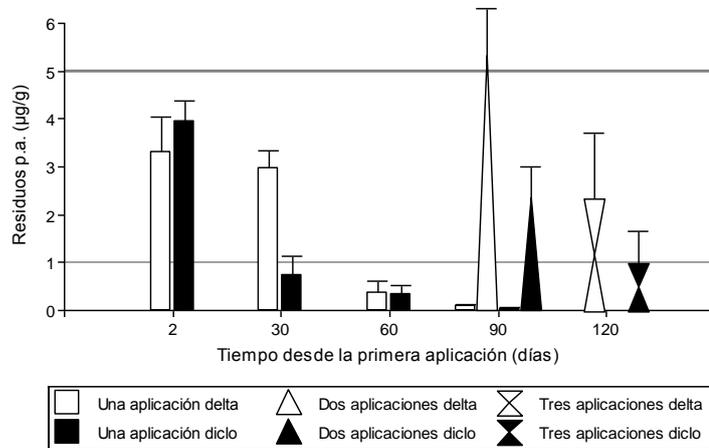


Fig. 6.10. Media y desvío estándar ($\mu\text{g/g}$) de los residuos de diclorvós (negro) y deltametrina (blanco) en granos de soja a los 2, 30, 60, 90 y 120 días desde la aplicación con una aplicación (barra), a los 90 días con dos aplicaciones (triángulo) y a los 120 días con tres aplicaciones (reloj) y su relación con los LMR. Ref: Línea delgada LMR SENASA deltametrina= $1 \mu\text{g/g}$ y línea ancha LMR SENASA Clorpirifós-metil= $5 \mu\text{g/g}$.

Conclusiones

- Los ensayos realizados, formas de aplicación, protocolos de seguridad para el lavado de materiales y manejo de las muestras como así también los controles de calidad realizados se consideran adecuados respecto de evitar la contaminación cruzada.
- No se recomiendan aplicaciones repetidas de los principios activo pirimifós-metil y clorpirifós-metil en granos almacenados de soja y maíz debido a que ocurren un efecto acumulativo de los residuos ocasionando que los mismos superen los LMR establecidos por SENASA para la República Argentina.
- Respecto al principio activo diclorvós, considerando los Límites establecidos y períodos de carencia en nuestro país, podrían realizarse aplicaciones múltiples debido a la alta volatilidad de este principio activo y el corto período de protección, ya que si bien los residuos presentan un efecto acumulativo los niveles de los mismos no superan el valor límite en nuestro país. Sin embargo, considerando que los LMR en otros mercados son menores a los aceptados en nuestro país, no deberían aplicarse en forma repetida y de ser necesario extender el período de protección debería elegirse alguno de los productos que presentan un mayor período de protección.
- Siendo el período de protección de deltametrina sobre granos almacenados de hasta 12 meses para la dosis recomendada no se recomiendan las aplicaciones múltiples debido a un efecto acumulativo de los residuos.

CONCLUSIONES FINALES

Se observó que los protocolos de manejo y procesamiento de las muestras como así también el diseño experimental de los ensayos y la toma de muestras fueron adecuados respecto de evitar la contaminación cruzada. No se han detectado residuos de plaguicidas en las muestras provenientes de testigos sin aplicación de plaguicidas ni de muestras blanco y controles de calidad en los procesos de extracción.

Respecto a las aplicaciones de plaguicidas, se han detectado en algunos casos residuos superiores a los esperados o por encima de los Límites Máximos de Residuos aún siguiendo las prácticas recomendadas, esto puede deberse a una mala distribución del depósito durante las aplicaciones o errores en la medición de las dosis, por lo cuál se refuerza el concepto de respetar las Buenas Prácticas Agrícolas y además ser cuidadosos tanto en las dosis aplicadas como en las técnicas de aplicación.

La técnica de QuEChERS fue validada para todos los analitos en estudio en las matrices de grano de soja y maíz. Sin embargo los resultados obtenidos para deltametrina no responden al comportamiento esperado. Si bien los parámetros de aceptación indican que la técnica es válida para el objetivo del estudio en la determinación de residuos de este principio activo, los resultados de depósito inicial obtenidos de las muestras problema superan entre 10 y 70 veces el nivel esperado de acuerdo a la dosis aplicada por lo que podría inferirse algún problema analítico en la detección, identificación o cuantificación de los residuos.

Para todos los analitos se observó un efecto de la matriz sobre la respuesta, comportamiento esperado ya que se trabajó con matrices complejas, por lo tanto las curvas de calibración en matriz fueron utilizadas para la cuantificación de los niveles de residuos de plaguicidas. El principio activo novalurón presentó un comportamiento diferente al resto ya que mostró una mayor respuesta en solvente que en matriz. Se establecieron valores de Coeficiente de Variación y Coeficientes de determinación lineal (R^2) dentro de los

parámetros de aceptación para todas las curvas de calibración, por lo que se consideran adecuadas para la cuantificación de los residuos en el rango lineal de concentraciones establecido para cada principio activo. Los valores de Recuperación porcentual (R%) se encontraron dentro del rango de aceptación establecido por lo que se acepta la exactitud de los resultados. Los valores de Desviación Estándar Relativa porcentual (RSD%) fueron menores en todos los casos a los CV% calculados mediante la ecuación de Horwitz por lo cual se acepta la precisión de los resultados obtenidos. Los valores de Incertidumbre expandida (U%) y los Límites de Detección (LD) y Cuantificación (LC) fueron adecuados para el objetivo propuesto.

Las aplicaciones de plaguicidas sobre el cultivo de soja en estados reproductivos para el control de chinches producen residuos en los granos por debajo de los LMR, en la mayoría de los casos, cuando se respetan las dosis y momentos de aplicación recomendados, cumpliendo con los conceptos de Buenas Prácticas Agrícolas y considerando los períodos de carencia establecidos.

Se puede inferir aunque sin evidencia estadística un efecto de la dosis de aplicación sobre el nivel de residuos de plaguicidas en los granos y más aún si las aplicaciones se realizan en estados fenológicos avanzados del cultivo, por lo tanto aplicaciones en dosis más altas y más cercanos a la cosecha se traducen en general en un mayor contenido de residuos en los granos cosechados. Se evidencia también, aunque sin fundamento estadístico, que es probable que exista un efecto de las condiciones ambientales de la campaña agrícola sobre los niveles de residuos de plaguicidas ya que los residuos en muestras provenientes de un mismo tratamiento en las diferentes campañas y fechas de siembra han sido variables, sin embargo la influencia de estos factores ha sido más clara en principios activos más persistentes como es el caso de endosulfán. Las condiciones de altas temperaturas y precipitaciones importantes luego de la aplicación podrían actuar como causas mecánicas y físicas de eliminación, por otra parte, condiciones ambientales que permitan el crecimiento óptimo del cultivo podrían afectar los niveles de residuos a través del fenómeno de eliminación aparente y el depósito inicial de endosulfán. De igual forma, aunque sin evidencia estadística, se podría inferir que no existe un efecto marcado de los días transcurridos desde la aplicación sobre los niveles de residuos.

Respecto a la mezcla comercial de clorpirifós-etil y cipermetrina, los residuos de clorpirifós-etil se han detectado en un mayor porcentaje de las muestras analizadas mientras que los residuos de cipermetrina se comportan como menos persistentes. A pesar de haber detectado residuos por encima del LMR para clorpirifós-etil en dos muestras de aplicación de dosis normal, se podría recomendar la aplicación de este formulado comercial ya que se puede inferir que estas variaciones fueron debidas a un error en la dosis de aplicación o distribución del depósito inicial, ya que en la mayoría de los casos siguiendo las indicaciones de uso los residuos se encontraron por debajo del LMR establecido por SENASA. Respecto al efecto de las variables ambientales, puede inferirse que debido a la menor estabilidad y persistencia de estos principios activos respecto al endosulfán, se hayan ocasionado pérdidas importantes de los residuos o bajos depósitos iniciales ante pequeñas variaciones de las condiciones meteorológicas las cuales pueden no verse reflejadas en las variables elegidas para el presente trabajo de tesis. Por lo tanto las aplicaciones de la mezcla de clorpirifós-etil+cipermetrina para el control de chinches en el cultivo de soja, en general, no generan residuos en los granos por encima de los LMR establecidos por SENASA para la República Argentina, sin embargo una correcta técnica de aplicación en lo que se refiere a la dosis y técnica de aplicación del plaguicida es indispensable a fin de lograr una depósito inicial homogéneo y evitar la concentración de residuos y la aparición de los mismos por encima de los LMR aún en dosis normales de aplicación.

Por último, la formulación de imidacloprid+ β -ciflutrina se presenta como la opción más inocua desde el punto de vista de los residuos para el control de estos insectos ya que no se detectaron residuos en ninguna de las muestras analizadas provenientes de ensayos de las campañas 2009/2010, 2010/2011 y 2011/2012.

Las aplicaciones de la mezcla los principios activos clorpirifós-etil y cipermetrina y del principio activo novalurón en el cultivo de maíz para el control de lepidópteros durante los estadios vegetativos del cultivo, no generan residuos en los granos superiores a los LMR establecidos por la reglamentación Argentina respetando las indicaciones de uso de los mismos.

Las aplicaciones de insecticidas en granos almacenados de soja y maíz deben realizarse siempre considerando las recomendaciones de uso. Los niveles de residuos de todos los principios activos estudiados siguen una dinámica de disipación en la cuál a medida que transcurre el tiempo desde la aplicación los niveles de residuos disminuyen. Los porcentajes de desaparición de residuos y las Tasas de Disipación Diarias fueron variables entre las matrices de grano de soja y maíz y los principios activos en estudio. Las aplicaciones de pirimifós-metil y diclorvós en ambas matrices de grano en sus dosis recomendadas para el máximo período de protección, generan en los granos residuos por debajo del LMR establecido por SENASA cumplido el período de espera mínimo para el consumo. Sin embargo, si los granos serán destinados a la exportación los LMR del país destino deberán ser considerados a fin de tomar la decisión de cuál principio activo se ajusta a los parámetros exigidos. Los resultados obtenidos de residuos del principio activo deltametrina no permiten establecer conclusiones respecto al comportamiento de dicho plaguicida en las matrices estudiadas ya que los niveles de depósito inicial fueron muy superiores (10 a 70 veces) a los esperados respecto a la dosis aplicada, como se dijo anteriormente se infieren problemas en las determinaciones analíticas de dicho principio activo ya que considerando la dosis teórica inicial respecto de las dosis aplicadas, no deberían existir problemas de residuos superiores a los LMR en el caso de maíz. En el caso de soja no debe aplicarse este principio activo durante el almacenamiento ya que los límites permitidos en esta matriz son muy inferiores a los de granos almacenados en general.

En la aplicación de la mezcla comercial de clorpirifós-metil+deltametrina, los residuos de clorpirifós-metil en granos de maíz alcanzaron niveles acordes al LMR establecido por SEANASA transcurrido el período de carencia, mientras que en el caso de granos de soja los niveles superaron este valor lo cuál puede deberse al alto nivel de residuos iniciales detectados, por encima del depósito teórico de acuerdo a a dosis aplicada. En este aspecto puede inferirse una inadecuada distribución del producto durante la aplicación. Existe influencia de la dosis de principio activo sobre el nivel de residuos de diclorvós y deltametrina generándose mayor niveles de residuos a mayor dosis aplicada. Sin embargo en el caso de deltametrina no se ha podido establecer un valor cierto de los residuos debido a las limitantes anteriormente descriptas.

No se recomiendan aplicaciones repetidas de insecticidas en granos almacenados de soja y maíz para los principios activos pirimifós, clorpirifós-metil y deltametrina ya que el efecto acumulativo sobre el nivel de residuos es importante. En el caso de diclorvós, considerando siempre el período de carencia establecido, el intervalo mínimo entre aplicaciones y las dosis recomendadas los niveles acumulados de residuos no superan el LMR establecido por SENASA. Sin embargo se debe considerar el destino final de los granos ya que si los mismos estuvieran destinados al mercado de exportación deben analizarse los LMR establecidos por el país de destino. De ser necesario un mayor período de protección se deberán elegir otros productos autorizados para el uso en almacenamiento.

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se acepta la hipótesis planteada ya que algunos de los factores relacionados al manejo de los cultivos y a la aplicación de plaguicidas influyen en la dinámica de disipación y el nivel de residuos de insecticidas en granos de soja y maíz producidos y almacenados en la región central de la República Argentina.

Se observa en los niveles de residuos obtenidos un comportamiento variable dependiendo de la especie, campaña agrícola y fechas de siembra, como así también de factores relacionados a la aplicación de plaguicidas tales como el principio activo en estudio, las dosis, momentos y número de aplicaciones.

El presente trabajo de tesis sirve como punto de partida para la realización de estudios sobre la problemática de los residuos de plaguicidas en granos de cultivos extensivos. A partir de los resultados obtenidos se pretende difundir a todos los actores involucrados en las cadenas comerciales de estos productos a fin de concientizar acerca de la importancia de respetar las Buenas Prácticas Agrícolas en la aplicación de plaguicidas a fin de lograr un nivel más alto de protección de la salud. Se considera importante profundizar en el estudio de los niveles de residuos con principios activos de reciente aparición, banda verde y con menor toxicidad a fin de reemplazar principios activos más tóxicos como los organofosforados y piretroides. Otro aspecto a considerar es la necesidad de realizar monitoreos de ensayos supervisados a campo y en el almacenamiento de granos en condiciones reales de manejo a fin de evaluar el comportamiento de los residuos de plaguicidas.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- AESAN. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. 2013. Legislación. Residuos de plaguicidas. Publicado en Internet, disponible en <http://www.aesan.msc.es>. Activo Noviembre de 2013.
- Ahumada D.A. y Zamudio A.M. 2011. Análisis de residuos de plaguicidas en tomate mediante el uso de QuEChERS y cromatografía líquida ultrarrápida acoplada a espectrometría de masas. *Rev. Colomb. Quím.*, 40 (2): 227-246
- Aktar M.W., Sengupta D. and Chowdhury A. 2009. Impacto of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip. Toxicol.*, 2 (1): 1-12
- Albert L.A. y Rendón-Von Osten J. 1988. Contaminación por compuestos organoclorados en algunos alimentos procedentes de una región de México. *Rev. Saúde Públ.*, 2 (6): 500-506.
- Aldana Madrid M.L., Valdez Hurtado S., Vargas Valdez N.D., Salazar Lopez N.J., Silveira Gramont M.I., Loarca Piña F.G., Rodríguez Olibarria G., Wong Corral F.J., Borboa Flores J. and Burgos Hernandez A. 2008. Insecticide residues in stored grains in Sonora, Mexico: Quantification and Toxicity Testing. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 80: 93-96.
- Álvarez G., Perea C., Rodríguez Girault M.E., Ridolfi A. y Villaamil Lepori E.C. 2009a. Niveles plasmáticos de plaguicidas organoclorados en población adulta expuesta ambientalmente en Argentina. *Acta Toxicol. Argent.*, 17(Sup): 2.
- Álvarez G., Perea C., Rodríguez Girault M.E., Ridolfi A. y Villaamil Lepori E.C. 2009b. Niveles plasmáticos de plaguicidas organoclorados en población infantil expuesta ambientalmente en Argentina. *Acta Toxicol. Argent.*, 17(Sup): 2-3. ISSN 0327-9286.
- Amoah P., Drechsel P., Abaidoo R. C. and Ntow W. J. 2006. Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's Urban Markets. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50: 1-6.
- Amvrazi E.G. 2011. Fate of Pesticide Residues on raw agricultural crops after postharvest storage and food processing to edible portions, Pesticides - Formulations, Effects, Fate, Prof. Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-532-7. Publicado en internet, disponible en: <http://www.intechopen.com/books/pesticidesformulations-effects-fate/fate-of-pesticide-residues-on-raw-agricultural-crops-after-postharvest-storage-andfood-processing-t>. Activo Noviembre de 2013.
- Anastassiades M. and Lehotay S.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "Dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86 (2): 412-431.
- Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D. and 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*, 86 (2): 412-431.
- Anastassiades M., Mastovska K. and Lehotay S.J. 2003b. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015: 163-184.

- Angioni A., Dedola F., Garau A., Sarais G., Cabras P. and Caboni P. 2011. Chlorpyrifos residues levels in fruits and vegetables after field treatment. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 46 (6): 544-549.
- Antonious G.F., Byers M.E. and Snyder J.C. 1998. Residues and fate of endosulfan on field-grown pepper and tomato. *Pesticide Science*, 54 (1): 61-67
- AOAC. 2007. Official method 2007.01. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. Publicado en internet, disponible en http://www.weber.hu/PDFs/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf. Activo Noviembre de 2013.
- Araújo Ribeiro A.C., Freire E., de Carvalho Dores G., Santos Silva Amorim R. and Lourencetti C. 2013. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do rio são lourenço-mt: validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. *Quim. Nova*, 36 (2): 284-290.
- Arora P.K., Jyot G., Singh B., Battu R.S., Singh B. and Aulakh P.S. 2009. Persistence of Imidacloprid on grape leaves, grape berries and soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82 (2): 239-242.
- Arora S. 2009. Analysis of insecticides in okra and brinjal from IPM and non-IPM fields. *Environ Monit Assess.*, 151 (1-4):31 1-5. doi: 10.1007/s10661-008-0272-z
- Arrebola F.J., Egea Gonzalez F.J., Moreno M., Fernandez Gutierrez A., Hernández Torres M.E. and Martinez Vidal J.L. 2001. Evaluation of endosulfan residues in vegetables grown in greenhouses. *Pest Manag Sci.*, 57: 645-652.
- Arregui M.C., Bertolaccini I., D'Angelo C.H., Herzog L.J., Paravano A., Sanchez D., Scotta R. y Sillón M. 2001. Manejo de Agroquímicos en cultivos extensivos. Ed. Universidad Nacional del Litoral. Argentina. 422 pp.
- Arregui M.C., Bertolaccini I., Herzog L.J., Sanchez D. y Scotta R. 2007. Manejo de plagas, enfermedades y malezas en cultivos extensivos. Ed. Universidad Nacional del Litoral. Argentina. 424 pp.
- Arthur F.H., Throne J.E. and Simonaitis R.A. 1991. Chlorpyrifos-Methyl degradation and biological efficacy toward Maize weevils (Coleoptera: *Curculionidae*) on Corn stored at four temperatures and three moisture contents. *Journal of Economic Entomology*, 84 (6): 1926-1932.
- Arthur F.H., Throne J.E. and Simonaitis R.A. 1992. Degradation and biological efficacy of Chlorpyrifos-Methyl on wheat stored at five temperatures and three moisture contents. *Journal of Economic Entomology*, 85 (5): 1994-2002.
- Balinova A., Mladenova R. and Obretenchev D. 2005. Study on the effect of grain storage and processing on Chlorpyrifos-methyl and Pirimiphos-methyl residues in post-harvest treated wheat with regard to baby food safety requirements. *Food Additives and Contaminants*, 23: 391-397.
- Balinova A., Mladenova R. and Shtereva D. 2007. Study on the effect of grain storage and processing on deltamethrin residues in post-harvest treated wheat with regard to baby food safety requirements. *Food Additives and Contaminants*, 24: 896-901
- Ballesteros M.L., González M., Bistoni M.A., Wunderlin D.A. y Miglioranza K.S.B. 2010. Dinámica de los compuestos organoclorados en la reserva provincial Laguna Mar Chiquita (Córdoba, Argentina). *Acta Toxicol. Argent.*, 18(Sup): 2-25.
- Balzarini M., Bruno C. y Arroyo A. 2005. Análisis de Ensayos Agrícolas Multiambientales. Ejemplos en Info-Gen. Ed. ISBN 987-05-0349-7. Córdoba, Argentina. 141 pp.

- Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo, J.A., Robledo C.W. 2008. InfoStat. Manual del Usuario. 333 pp.
- Banerjee T., Banerjee D., Roy S., Banerjee H, and Pal S. 2012. A Comparative Study on the Persistence of Imidacloprid and Beta-Cyfluthrin in Vegetables. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 89: 193–196.
- Battu R.S., Sahoo S.K. and Jyot G. 2009. Persistence of acephate and cypermethrin on cotton leaves, cottonseed, lint and soil. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 82 (1): 124-128.
- Bejarano Gonzalez F., Souza Casadhino J., Weber J.M., Guadarrama Zugasti C., Escamilla Prado E., Beristáin Ruiz B., Acosta M., Cárcamo M.I. y Ramirez Muñoz F. 2008. El endosulfán y sus alternativas en América Latina. Red de acción de plaguicidas y sus alternativas en América Latina. Publicado en Internet, disponible en http://webs.chasque.net/~rapaluy1/endosulfan/Alternativas_endosulfan.pdf. Activo Noviembre de 2013.
- Beuzelin J.M., Akbar W., Mészáros A., Reay-Jones F.P.F. and Reagan T.E. 2010. Field assessment of novaluron for sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae), management in Louisiana sugarcane. *Crop Protection* (Guildford, Surrey), 29(10): 1168-1176.
- Bhattacharjee S.S., Fakhruddin A.N., Chowdhury M.A., Rahman M.A. and Alam M.K. 2012. Monitoring of selected pesticides residue levels in water samples of paddy fields and removal of cypermethrin and chlorpyrifos residues from water using rice bran. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89 (2): 348-353.
- Bhattacharjee A.K. 2013. Persistence behavior of imidacloprid and carbosulfan in mango (*Mangifera indica* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 90 (2): 233-237.
- Blasco C., Font G., Mañes J. and Picó Y. 2005. Screening and evaluation of fruit samples for four pesticide residues. *Journal of AOAC International*, 88 (3): 847-853.
- Bogliani M., Masiá G. y Onorato A. 2005. Aspectos teóricos y prácticos en las aplicaciones de agroquímicos. Instituto de Ingeniería rural, INTA Castelar. En: Primera jornada regional de Fungicidas y tecnología de aplicación del cono sur. 14 y 15 de septiembre de 2005. Bolsa de comercio de Rosario. Santa Fé. 88-97 pp.
- Bolles H.G., Dixon-White H.E., Peterson R.K., Tomerlin J.R., Day E.W. Jr. and Oliver G.R. 1999. U.S. market basket study to determine residues of the insecticide chlorpyrifos. *J Agric Food Chem.*, 47(5): 1817-22.
- Borah S., Dikshit A.K., Lal O.P., Singh R., Sinha S.R. and Srivastava Y.N. 2003. Evaluation of beta-cyfluthrin: protection of cole crops, dietary intake, and consumer risk assessment. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 70(6):11 36-42.
- Brondi S.H.G., De Macedo A.N. , de Souza G.B. and Nogueira A.R.A. 2011. Application of QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of cypermethrin residue in milk. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 46 (8): 671-677.
- Bushway R.J. and Fan Z. 1998. Complementation of GC-AED and ELISA for the determination of diazinon and chlorpyrifos in fruits and vegetables. *J Food Prot.*, 61 (6): 708-711.

- Caboni P., Minello E.V., Cabras M., Angioni A., Sarais G., Dedola F. and Cabras P. 2007. Degradation of pyrethrin residues on stored durum wheat after postharvest treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3): 832-835.
- Cabras P. and Angioni A. 2000. Pesticide Residues in Grapes, Wine, and their processing products. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (4): 967-973.
- Cañas I., Córpora R., De Romedi A., Lucero P., Nassetta M. y Reartes N. 2009. Investigación de plaguicidas organoclorados en una escuela de la Ciudad de Córdoba. *Acta Toxicol. Argent.*, 17(Sup): 5.
- Carmona M. y Kantolic A. 2006. Bases ecofisiológicas de la generación del rendimiento: relación con el efecto de las enfermedades foliares y el uso de fungicidas en el cultivo de soja. Ed. FAUBA. 1° edición. Argentina. 22 pp.
- Carpaneto B., Abadía B. y Bartosik R. 2013. Control integrado de plagas en granos almacenados y subproductos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Provincia de Buenos Aires, República Argentina. Publicado en Internet, disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/control-integrado-de-plagas-en-granos-almacenados-y-subproductos/> Activo Marzo de 2014.
- Carretero F.M., Álvarez G., Rodríguez Girault M.E. y Quiroga P.N. 2009. Bioindicadores de exposición en una población urbana expuesta a Clorpirifos. *Acta Toxicol. Argent.*, 17(Sup): 6.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes). 2009. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. 14° ed. CASAFE (ed.) Argentina.
- Casini, C. y M. Santajuliana. 2008. Control de plagas en granos almacenados. INTA EEA Manfredi. Publicado en Internet, disponible en <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/postcosecha/ControlPlagasGranosAlmacenados.asp> Activo Noviembre de 2013.
- Castilla Pinedo Y., Mercado Martínez I.D. y González Silva G. 2012. Determinación y cuantificación de los niveles de compuestos organoclorados en leche pasteurizada. *Producción + Limpia*, 7 (1): 19-31.
- Cavallo A. 2006. Plaguicidas: qué son y cómo usarlos. SIMA Ed. Córdoba. Argentina. 189 pp.
- Chaudry M., Nelson A. and Perkins E. 1978. Distribution of chlorinated pesticides in soybeans, soybean oil, and its by-products during processing. *Journal AOCS*, 55 (22): 851-853.
- Chauhan R. and Kumari B. 2011. Reduction of endosulfan residues in brinjal fruits during processing. *Sci. Revs. Chem. Commun.*, 1(1): 42-48.
- Chauhan R., Rolania K. and Kumari B. 2013. Terminal Residues of β -Cyfluthrin in Cotton. *International Journal of Agricultural Science and Technology (IJAST)*, 1 (1): 11-15.
- Chen C., Qian Y., Liu X., Tao C., Liang Y. and Li Y. 2012. Risk assessment of chlorpyrifos on rice and cabbage in China. *Regul Toxicol Pharmacol.*, 62 (1): 125-30.
- Cheremisinoff N.P. and Rosenfeld P.E. 2011. Pesticides residues in food. En: Handbook of pollution prevention and cleaner production: Best practices in the agrochemical industry. USA. 269-279 pp.
- Chowdhury M.A.Z., Bhattacharjee S., Fakhruddin A. N. M., Nazrul Islam M. and Khorshed Alam M. 2013. Determination of Cypermethrin, Chlorpyrifos and Diazinon residues in tomato and reduction of Cypermethrin residues in Tomato using Rice bran. *World Journal of Agricultural Research*, 1 (2): 30-35.

- Codex alimentarius*. 1993. CAC/GL 40-1993. Directrices sobre buenas prácticas de laboratorio en el análisis de residuos de plaguicidas. Publicado en Internet, disponible en www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../cxg_040s.pdf Activo
Noviembre de 2013.
- Codex alimentarius*. 1993. CAC/GL 41/1993. Análisis de residuos de plaguicidas: parte del producto agrícola a la que se aplican los límites máximos del Codex para residuos y que se analiza. Publicado en Internet, disponible en www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXG_033s.pdf Activo
Noviembre de 2013.
- Codex alimentarius*. 1999. CAC/GL 33-1999. Métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR. Publicado en Internet, disponible en www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXG_033s.pdf Activo
Noviembre de 2013.
- Codex Alimentarius*. 2005. CAC/GL 56/2005. Directrices para el uso de la espectrometría de Masas (EM) en la identificación, confirmación y determinación cuantitativa de residuos. Publicado en Internet, disponible en <http://www.codexalimentarius.org/normas-oficiales/lista-de-las-normas/es/> Activo
Noviembre de 2013.
- Codex Alimentarius*. 2009. CAC/GL 72/2009. Directrices sobre la terminología analítica. Publicado en Internet, disponible en <http://www.codexalimentarius.org/normas-oficiales/lista-de-las-normas/es/> Activo
Noviembre de 2013.
- Codex Alimentarius*. 2013. Normas alimentarias FAO/OMS. Publicado en Internet, disponible en www.codexalimentarius.net. Activo
Noviembre de 2013.
- Código Alimentario Argentino. Ley N° 18284. Publicado en Internet disponible en <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/marco2.php> Activo
Noviembre de 2013.
- Cogburn R.R. and Simonaitis R.A. 1975. Dichlorvos for control of stored-product insects in port warehouses: Low-volume aerosols and commodity residues. *Journal of Economic Entomology*, 68 (3): 361-365.
- Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. 2013. Publicado en Internet, disponible en <http://chm.pops.int/>. Activo
Noviembre de 2013.
- Correa C.M.D., Olivera J.V. e Tomisielo V.L. 2001. Avaliação de resíduos de endossulfan em matriz de vagem e soja para comparação de dois sistemas de aplicação do produto formulado. *Rev Inst. Adolfo Lutz*, 60 (2): 135-139.
- Coscollá R. 1993. Residuos de plaguicidas en alimentos vegetales. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. 205 pp.
- Cunha S.C., Lehotay S.J., Mastovska K., Fernandes J.O. and Oliveira M.B.P.P. 2010. Sample preparation approaches for the analysis of pesticide residues in olives and olive oils. Capítulo 70. En: *Olives and olive oil in health and disease prevention*. 635-666 pp. ISBN: 978-12-374420-3.
- Daraghmeh A., Shraim A., Abulhaj S., Sansour R. and Ng J.C. 2007. Imidacloprid residues in fruits, vegetables and water samples from Palestine. *Environmental Geochemistry and Health*, 29 (1): 45-50.
- Das P., Pal R. and Chowdhury A. 2007. Dissipation of Novaluron in Chili and Brinjal. *Journal of Entomology*, 4 (2): 163-166.

- Das P., Pal, R. and Chowdhury A. 2008. Influence of biotic-abiotic factors on the degradation of Novaluron in tropical soil. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 5 (3): 425-429.
- Deivendran A., Kumari B. and Yadav G. S. 2006. Dissipation of Endosulfan and Dichlorvos residues In/On cauliflower curds. *Environmental Monitoring and Assessment*, 116 (1-3): 307-313.
- Devine G., Eza D., Ogusuku E. y Furlong M.J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 25 (1): 74-100.
- Dikshit A. K., Misra S. S. and Lakshman Lal. 1985. Persistence of chlorpyrifos residues in potatoes and the effect of processing. *Potato Research*, 28 (4): 461-467.
- Documento SANCO N°10684/2009. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed.
- Donnarumma L., Pulcini P., Pochi D., Rosati S., Lusco L. and Conte E. 2011. Preliminary study on persistence in soil and residues in maize of imidacloprid. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 46 (6); 469-472.
- Dow AgroSciences. 2013. Hoja de seguridad de Clorpirifós-metil. Publicado en Internet, disponible en http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDAS/dh_012a/0901b8038012a66b.pdf?filepath=/013-54206.pdf&fromPage=GetDoc Activo Noviembre de 2013.
- Duhan A., Duhan S. and Kumari B. 2011. Behaviour of endosulfan in cabbage (*Brassica oleracea L.*), *Toxicological and Environmental Chemistry*, 93 (10): 1960-1970.
- El-Behissy E.Y., King R.D., Ahmed M.M. and Youssef A.M. 2001. fate of postharvest-applied Dichlorvos in stores and processed dates. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 1239-1245.
- Elms K.D., Kerr J.D. and Champ B.R. 1972. Breakdown of malathion and dichlorvos mixtures applied to wheat. *Journal of Stored Products Research*, 8 (1): 55-63.
- EPA. 2002. United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision for Endosulfan EPA 738-R-02-013. Publicado en internet, disponible en http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/endosulfan_red.pdf Activo Noviembre de 2013.
- EPA. 2012. LMR de plaguicidas en USA. Publicado en Internet, disponible en <http://www.epa.gov/opp00001/regulating/tolerances-commodity.pdf> Activo Noviembre de 2013.
- EU. 2013. EU pesticides database. LMR. Publicado en internet, disponible en http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/?event=substance.selection&ch=1 Activo Noviembre de 2013.
- Fantke P. 2013. Variability of pesticide dissipation half-lives in plants. *Environ. Sci. Technol.*, 47: 3548-3562.
- FAO. 2009. FAO plant Production and protection. Paper 197 (2 nd edition): Manual on the Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the estimation of maximum residue levels in food and feed. Publicado en internet, disponible en http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMP_R/FAO_manual2nded_Oct07.pdf Activo Noviembre de 2013.
- FAO. 1990. Food and Agriculture organization of the United Nations. Guidelines on Producing Pesticide Residues Data from Supervised Trials. Rome.
- FAO. 1992. Towards integrated commodity and pest management in grain storage. Semple R.L., Hicks P.A., Lozare J.V. y Castermans A. (Ed). Publicado en internet,

- disponible en <http://www.fao.org/docrep/x5048e/x5048E00.htm#Contents>. Activo Marzo de 2014.
- FAO. 2013a. Food and Agriculture organization of the United Nations. Límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas. Publicado en Internet, disponible en <http://www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.htm> Activo Noviembre de 2013.
- FAO. 2013b. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Manual de manejo poscosecha de granos a nivel rural. Ciro Arias (Ed.). Publicado en Internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027S00.htm#Contents>. Activo Marzo de 2014.
- Farhath S. and Shobha S. 2012. Pesticide residues in selected fruits/vegetables of nalgonda District of andhra pradesh. *J.Res. ANGRAU*, 40(3): 64-66.
- Fehr W.R. and Caviness C.E. 1977. Stages of soybean development. *Special report* 80: 1 Iowa State University, Ames, Iowa.
- Fenik J., Tankiewicz M. and Biziuk M. 2011. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (6): 814-826.
- Fleurat-Lessard F., Chaurand M., Marchegay G. and Abecassis J. 2007. Effects of processing on the distribution of pirimiphos-methyl residues in milling fractions of durum wheat. *Journal of Stored Products Research*, 43 (4): 384-395.
- Franchi S., Enrich N., Campelo E. y Mandl B.. 2010. Estimación de la curva de disipación del endosulfán aplicado en cultivos de morrón en invernáculos de Salto. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Oriental del Uruguay. Publicado en Internet, disponible en http://www.mgap.gub.uy/DGSSAA/Proyectos/Documentos/FIN/Endosulfan_ev_im_p.pdf Activo Junio de 2010.
- Frehse H. and Hans-Friedrich W. 1994. The behaviour of pesticides residues in fruits and vegetables: Evaluation by decine curves. En: III Seminario Internacional sobre residuos de plaguicidas. Almería. España. Publicado en internet, disponible en <http://www.dipalme.org/Servicios/IEA/PublicIEA.nsf/novedades/C12568F5004575E8C125690D0067ADF6> Activo Noviembre de 2013.
- Fujita M., Yajima T., Iijima K. and Sato K. 2012. Comparison of the variability in the levels of pesticide residue observed in Japanese cabbage and grape units. *J. Agric. Food Chem.*, 60 (6): 1516-1521.
- Gamon M. 2013. Plan nacional de vigilancia de residuos de plaguicidas en España. Publicado en Internet, disponible en [http://www.dipalme.org/Servicios/Anexos/anexosiea.nsf/VAnexos/IEA-RP96-c1/\\$File/RP96-c1.pdf](http://www.dipalme.org/Servicios/Anexos/anexosiea.nsf/VAnexos/IEA-RP96-c1/$File/RP96-c1.pdf) Activo Noviembre de 2013.
- Garrido Frenich A., Martínez Vidal J.L., Egea González F.J. and Arrebola Liebanas F.J. 2006. Quality Criteria in Pesticide Analysis. En: *Methods in Biotechnology*, Vol. 19: Pesticide Protocols. Martínez Vidal J.L. y Garrido Frenich A. (Ed). New Jersey, USA, 219-230 pp.
- Gil M.A., Aschkar G.A., Pozzo Ardizzi M.C., Pellejero G. y Abrameto M.. 2005. Evaluación de residuos de plaguicidas en aguas del Río Negro en sitios estratégicos para la captación de agua potable. *Revista Pilquen Sección Agronomía*, Año VII (7): 1-9.

- Giorda L. y Baigorri H. 1997. *El cultivo de soja en Argentina*. INTA Centro Regional Córdoba. EEA Marcos Juárez y EEA Manfredi. Editar (Ed), San Juan, Argentina. 448 pp.
- Giri N., Blum W.E.H., Sieghardt M., Lesueur C. and Mentler A. 2012. A preliminary study of the content and distribution of pesticide residues in soil samples from the Kathmandu valley, Nepal. *Spanish Journal of Soil Science*, 2 (3): 20-31.
- González Curbelo M.Á., Hernández Borges J., Borges Miquel T.M. and Rodríguez Delgado M.Á. 2012. Determination of pesticides and their metabolites in processed cereal samples. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 29 (1):104-116.
- Gonzalez M., Miglioranza K.S.B., Aizpún J.E., Isla F.I. and Aranzazu Peña. 2010. Assessing pesticide leaching and desorption in soils with different agricultural activities from Argentina (Pampa and Patagonia). *Chemosphere*, 81: 351-358.
- Gupta S. and Gajbhiye V.T. 2002. Persistence and leaching of beta-cyfluthrin in alluvial soil of India. *Pest Management Science*, 58 (12): 1259-1265.
- Gupta S.S., Gajbhiye V.T., Sharma R.K. and Gupta R.K. 2011. Dissipation of cypermethrin, chlorpyrifos, and profenofos in tomato fruits and soil following application of pre-mix formulations. *Environ monit assess.*, 174 (1-4): 337-345.
- Hajslova J. and Zrostlíkova J. 2003. Review: Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *Journal of Chromatography A*, 1000: 181-197.
- Harcz P., De Temmerman L., De Voghel S., Waegeneers N., Wilmart O., Vromman V., Schmit J.F., Moons E., Van Peteghem C., De Saeger S., Schneider Y.J., Larondelle Y. and Pussemier L. 2007. Contaminants in organically and conventionally produced winter wheat (*Triticum aestivum*) in Belgium. *Food Addit Contam.*, 24(7): 713-720.
- Hernández-Borges J., Cabrera Cabrera J., Rodríguez-Delgado M.A., Hernández-Suárez E.M. and Galán Saúco V. 2009. Analysis of pesticide residues in bananas harvested in the Canary Islands (Spain). *Food Chemistry* 113 (1): 313–319.
- Herrman S.S. and Poulsen M.E. 2008. Determination of pesticides residues in cereals by GC-ITD (QuEChERS method). Validation Report 2. CRL for cereals and feeding stuff. National Food Institute. Technical University of Denmark. Publicado en internet, disponible en: [http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/cf/\(2\)%20QuEChERS%20Validation%20report%20IT83%20%20udg%202008NEW.pdf](http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/cf/(2)%20QuEChERS%20Validation%20report%20IT83%20%20udg%202008NEW.pdf) Activo Marzo de 2014.
- Herrman S.S. and Poulsen M.E. 2009. Determination of pesticides residues in cereals by GC-MS/MS (QuEChERS method). Validation Report 5. CRL for cereals and feeding stuff. National Food Institute. Technical University of Denmark. Publicado en internet, disponible en: <http://www.eurl-pesticides.eu/>. Activo Noviembre de 2013.
- Hill A.R.C. and Reynolds S.L. 1999. Guidelines for in-house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124: 953-958.
- Hjorth K., Poulsen M.E. and Christensen H.B. 2010. Determination of pesticide residues in cereals by GC-MS/MS and LC-MS/MS (QuEChERS method). Validation Report 6. CRL for cereals and feeding stuff. National Food Institute. Technical University of Denmark. Publicado en internet, disponible en: <http://www.eurl-pesticides.eu/>. Activo Noviembre de 2013.

- Holland P., Hamilton D., Ohlim B. and Skidmore M. 1994. Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *Pure and Appl. Chem* 66 (2): 335-356.
- Horwitz W. 1982. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, 54 (1): 67-76.
- Iannone N. y Leiva D. 1994. Daños, toma de decisiones y control cultural de chinches en soja. INTA Pergamino. Carpeta de Producción Vegetal. TOMO XIII ISSN 0326-2354.
- INDEC. 2013. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de la República Argentina. Sector Agropecuario.
- Iqbal M. F., Maqbool U., Asi M. R. and Aslam S. 2007. Determination of pesticide residues in brinjal fruit at supervised trial. *J. Anim. Pl. Sci.*, 17(1-2): 21-23.
- INTA. 2013. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Córdoba, República Argentina. Agrometeorología Manfredi. Boletines meteorológicos. Publicado en Internet, disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/informacion-meteorologica-mensual-de-la-e.e.a.-manfredi> Activo Marzo de 2014.
- IRAM 23003-5. 1992. Residuos de plaguicidas: muestreo de cereales, oleaginosas y sus subproductos. Instituto Argentino de Normalización.
- Ishaaga I. 2002. Novaluron (Rimon) a novel, IGR for controlling agricultural pests mechanism and importance in IPM programs. *Revista de protección vegetal*, (Cuba) 17 (3):214.
- Izquierdo P., Allara M., Torres G., García A. y Piñero M. 2004. Residuos de plaguicidas organoclorados en fórmulas infantiles. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 14 (2): 147-152.
- Jergentz S., Mugni H., Bonetto C. and Schulz R. 2005. Assessment of insecticide contamination in runoff and stream water of small agricultural streams in the main soybean area of Argentina. *Chemosphere*, 61: 817-826.
- Ji-Hyung H., Jong-Sung L., Cho Rong L., Kook-Tak H., Yu-Ri L. and Kyu-Seung L. 2011. Study of pesticides residue allowed standard of Methoxyfenozide and Novaluron on *Aster scaber* during cultivation stage. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 15 (1); 8-14.
- JMPR. 2003. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2003. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/y5221e/y5221e0n.htm#bm23> Activo Marzo de 2014.
- JMPR. 2006. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2006. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/010/a1127e/a1127e00.HTM> y <http://www.fao.org/docrep/010/a1125e/a1125e00.HTM> Activo Marzo de 2014.
- JMPR. 2007. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2007. Publicado en internet, disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1556e/a1556e00.pdf> Activo Marzo de 2014.
- JMPR. 2008. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2008. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/011/i0450e/i0450e00.HTM> Activo Marzo de 2014.
- JMPR. 2009. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2009. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/012/i1277e/i1277e00.htm> Activo Marzo de 2014.

- JMPR. 2010. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2010. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/013/i1949e/i1949e.pdf> Activo Marzo de 2014.
- JMPR. 2012. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food 2012. Publicado en internet, disponible en <http://www.fao.org/docrep/017/i3111e/i3111e.pdf> Activo Noviembre de 2013.
- Jyot G., Mandal K., Battu R. S. and Singh B. 2013. Estimation of chlorpyrifos and cypermethrin residues in chilli (*Capsicum annuum* L.) by gas-liquid chromatography-*Environmental Monitoring and Assessment*, 185 (7): 5703-5714.
- Kannan K., Tanabe S., Giesy J.P. and Tatsukawa R. 1997. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in foodstuffs from Asian and Oceanic Countries. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 152: 1-55.
- Kapoor U., Srivastava M.K., Srivastava A.K., Patel D.K., Garg V. and Srivastava L.P. 2013. Analysis of imidacloprid residues in fruits, vegetables, cereals, fruit juices, and baby foods, and daily intake estimation in and around Lucknow, India. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32: 723-727. doi: 10.1002/etc.2104
- Kaushik G., Satya S. and Naik S.N. 2009. Food processing a tool to pesticide residue dissipation-A review. *Food research international*, 42: 26-40.
- Kegley S.E., Hill B.R., Orme S. and Choi A.H. 2013. Base de datos de plaguicidas PAN, Pesticide Action Network, América del Norte (San Francisco, CA, 2011) Publicado en Internet, disponible en <http://www.pesticideinfo.org> Activo Noviembre de 2013.
- Kulczycki C., Navarro R., Turaglio E., Becerra V. y Sosa A. 2012. Cinética de degradación y persistencia de clorpirifós en mandarinas y naranjas del Noreste Argentino (NEA). *Revista RIA*, 38 (3): 282-288.
- Kumar Pradeep, Singh S.P., Ahmad A.H. and Rao V.D.P. 2008. Determination of chlorpyrifos residues in buffalo meat samples using high performance liquid chromatography. *International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health*, 1 (2): 189-199.
- Kumari B., Madan V.K., Kumari R. And Kathpal T.S. 2002. Monitoring of seasonal vegetables for pesticide residues. *Environmental Monitoring and Assessment*, 74: 263-270.
- Kyung-Won C., Jae-Hun P., Ji-Won K., Ji-Yeong Y., Hye-Ree M. and Kyu-Seung L. 2013. Establishment of Pre-Harvest Residue Limit (PHRL) of Methoxyfenozide and Novaluron on Peaches. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 17 (1), 6-12.
- Lalah J.O. and Wandiga S.O. 2002. The effect of boiling on the removal of persistent malathion residues from stored grains. *Journal of Stored Products Research*, 38: 1-10.
- Lehotay, 2006. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Approach for Determining Pesticide Residues. En: *Methods in Biotechnology*, Vol. 19: Pesticide Protocols. Martinez Vidal J.L. and Garrido Frenich A. (Ed). New Jersey, USA, 239-262 pp.
- Lehotay S.J., Ae Son K., Kwon H., Koesukiwat U., Fu W., Mastovska K., Hoh E. and Leepipatpiboon N. 2010. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticides residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1217: 2548-2560
- Lenardón A., Maitre de Hevia M.I. y de Carbone E.S. 1994. Organochlorine pesticides in Argentinian butter. *Sci. Total Environ.*, 144: 273-277.

- Lenardon A., Lorenzatti E., Maitre M. y Enrique S. 2000. Plaguicidas organoclorados en leche materna en Santa Fé, Argentina. *Acta Toxicológica Argentina*, 8 (1): 2-4.
- Lin H.M. , Gerrard J.A. and Shaw I.C. 2005. Stability of the insecticide cypermethrin during tomato processing and implications for endocrine activity. *Food Additives and Contaminants*, 22 (1): 15-22.
- Loewy R.M., Monza L.B., Kirs B.E. and Savini M.C. 2011. Pesticide distribution in an agricultural environment in Argentina. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 46 (8): 662-670.
- Lorenzatti E., Maitre M. y Lenardon A. 2003. Evaluación de la contaminación con plaguicidas en productos lácteos. *Revista FAVE*, 2 (1): 71-78.
- Lorenzatti E., Maitre M., Argelia L., Lajmanovich R., Peltzer P. and Anglada M. 2004a. Pesticide residues in immature soybeans of Argentina croplands. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13 (7): 675-678.
- Lorenzatti E., Althaus R., Lajmanovich R., and Peltzer P. 2004b. Residues of endosulfan in soy plants in Argentina croplands. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13 (2): 89-92.
- Lorenzatti E., de la Sierra P., Marino F. y Lenardón A. 2006. Acumulación y persistencia del insecticida endosulfán en soja, como posible factor de contaminación ambiental y alimentaria. *Revista FABICIB*, 10: 107-111.
- Lorenzatti, E. 2005. Estudio de residuos de endosulfán y glifosato en la producción y procesado de soja transgénica (*glycine max L.*). Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España. 223 pp.
- Lorenzatti E., Negro C.L., de la Sierra P., Marino F. y Lenardón A. 2008. Plaguicidas en el aire. Estudio preliminar en la Ciudad de Santa Fé. *Revista FABICIB*, 12:129-135.
- Lucero P., Nassetta M. y De Romedi A. 2008. Evaluación de la exposición ambiental a plaguicidas orgánicos persistentes en dos barrios de la provincia de Córdoba. *Acta Toxicol. Arg.*, 16 (2): 41-46.
- Lucini L. and Molinari G.P. 2011. Residues of pirimiphos-methyl in cereals and processed fractions following post harvest spray application. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 46: 1-7.
- March G.J. 2011. Plaguicidas, salud y ambiente. En: Ciencia y tecnología de los cultivos industriales. Programa Nacional de Cultivos Industriales. Ed. INTA. 1 (1): 6-10.
- Marino F., de la Sierra P., Lorenzatti E., Maitre M.I., Enrique S. y Lenardón A. 2011. Técnica multiresiduos aplicada a la determinación de plaguicidas en meconio por cromatografía gaseosa. *Revista FABICIB*, 15: 131-137.
- Martínez M.J., Ricca A., Silva M., Strada J., Imwinkelried J. and Fava, F.D. 2009. Insecticide residues in soybean grains. Beijing, China. En Actas E1 014.
- Martínez M.J., Ricca A., Casini C., Silva M., Strada J., Rojas D. y Santajuliana M. 2010. Residuos de insecticidas en postcosecha de granos de maíz. IX Congreso Nacional de Maíz y Simposio nacional de sorgo. Rosario, Argentina. 225 pp.
- Martínez M.J., Ricca A., Strada J., Silva M., Rojas D., Santajuliana M., Casini C. and Piatti F. 2011. Studies of Pesticide residues in harvest and postharvest grains conducted in Experimental field trials at INTA. 3rd Latin American Pesticide Residue Workshop. Food and environment. Montevideo, Uruguay. En Actas PB37.
- Martínez Vidal J.L., Egea González F. J., Martínez Galera M. and Castro Cano M. L. 1998. Diminution of Chlorpyrifos and Chlorpyrifos Oxon in tomatoes and green beans grown in greenhouses. *J. Agric. Food Chem.*, 46 (4): 1440-1444.

- Mastovska K., Dorweiler K.J., Lehotay S.J., Wegscheid J.S. and Szpylka K.A. 2010. Pesticides multiresidue analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 5959-5972.
- Matthews, G.A. 1987. Métodos para la aplicación de pesticidas. (Versión en español) Ed. Continental. México. pp. 29-245. 365 pp. ISBN 968-26-0725-6
- MGAP, 2013. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Oriental del Uruguay. Publicado en Internet, disponible en <http://www.mgap.gub.uy/DGSSAA/Normativa/NORMATIVA.htm> Activo Noviembre de 2013.
- Milanez T.V., Nakano V.E., Kussumi T.A., Rocha S.B. e Toledo H.B. 2007. Determinação de fenitrotiona em farinha de trigo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 66 (2): 108-112.
- MinAgri. 2013. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca y de la República Argentina. Publicado en Internet, disponible en <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php> Activo Noviembre de 2013.
- Miyahara M. and Saito Y. 1993. Pesticides removal efficiencies of soybean oil refining processes. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 731-734.
- Miyahara M. and Saito Y. 1994. Effects of the processing steps in tofu production on pesticides residues. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 369-373.
- Mohapatra S., Deepa M., Lekha S., Nethravathi B., Radhika B. and Gourishanker S. 2012. Residue dynamics of spirotetramat and imidacloprid in/on mango and soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89 (4): 862-867.
- Morton R., Brayon J.G., Desmarchelier J.M., Dilli S., Haddad P.R. and Sharp G.J. 2001. Stastical analysis of decay of organophosphorus and pyrethroid insecticides and carbaryl on paddy rice, maize, sunflowers and field peas. *Journal of Stored Products Research*, 37: 277-285.
- Mukherjee I., Kumar A. and Kumar A. 2012. Persistence behavior of combination mix crop protection agents in/on Eggplant Fruits. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88 (3): 338-343.
- Notijenck, 2013. El boletín de novedades de Jenck. Análisis GC-MS/MS de pesticidas residuales en espinaca en modo SCAN/MRM. Publicado en Internet, disponible <http://notijenck.com.ar/analisis-gc-msms-de-pesticidas-residuales-en-espinaca-en-modo-scanrm> Activo Marzo de 2014.
- Novo R., Cavallo A., Cragolini C., Nóbile R., Bracamonte E., Conles M., Ruosi G. Y Viglianco A. 2011. *Protección Vegetal*. 4º edición. Ed. SIMA. Córdoba. Argentina. 492 pp.
- Ntow W.J., Ameyibor J., Kelderman P., Drechsel P. and Gijzen H.J. 2007. Dissipation of endosulfan in field-grown Tomato (*Lycopersicon esculentum*) and cropped soil at Akumadan, Ghana. *J. Agric Food Chem.*, 55: 10864-10871.
- Ogah C.O. and Coker H.B. 2012. Quantification of organophosphate and carbamate pesticide residues in Maize. *J App Pharm Sci.*, 2 (9): 093-097.
- Padovani L. and capri E. 2005. Chlorpyrifos-methyl dissipation in a small adjacent water body following application to citrus. *Chemosphere*, 58: 1219-1229.
- Patyal S.K., Lakhanpal A.K., Nath A. and Sharma C. 2004. Effect of processing on endosulfan residues in apple. *J. Food Sci. Technol.*, 41 (3): 316-319.
- Pengue, W. 2001. Expansión de la soja en Argentina. Globalización, desarrollo agropecuario e ingeniería genética: un modelo para armar. Publicado en Internet, disponible en

- [http://www.biodiversidadla.org/Principal/Secciones/Documentos/Transgenicos/Expansion de la soja en Argentina. Globalizacion Desarrollo Agropecuario e Ingeniería Genética Un modelo para armar](http://www.biodiversidadla.org/Principal/Secciones/Documentos/Transgenicos/Expansion%20de%20la%20soja%20en%20Argentina.%20Globalizacion%20Desarrollo%20Agropecuario%20e%20Ingenieria%20Genetica%20Un%20modelo%20para%20armar) Activo Noviembre de 2013.
- Peralta, R. 2008. Pautas para el manejo de cortadoras y cogollera en maíz. 4° Encuentro Nacional de monitoreo y control. Publicación N°4: Manejo sanitario de Soja y Maíz. Córdoba. 10-21 pp.
- Perez M.A., Navarro H. y Miranda E. 2013. Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgo en México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* (Número especial sobre plaguicidas), 29: 45-64.
- Pierre F. y Betancourt P. 2007. Residuos de plaguicidas organoclorados y órganofosforados en el cultivo de cebolla en la depresión de Quibor, Venezuela. *Revista Bioagro* 19 (2): 69-78.
- Pimentel Trevizan L.R. and Casadei de Baptista G. 2000. Resíduos de deltametrina em grãos de trigo e em seus produtos processados, determinados por cromatografia gasosa. *Scientia Agricola*, 57 (2): 199-203.
- Pimentel Trevizan L.R. and Casadei de Baptista G. 2001. Avaliação da degradação/persistência de resíduos de deltametrina em grãos de milho, milho pipoca e produtos derivados. *Rev. Bras. Toxicol.*, 14: 5-11.
- Pinzón M. I., Londoño A., Blach D., Gutiérrez J.A. y Rojas A.M. 2011. Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados POR gc- μ ECD en frutos de PIÑA (*Ananas comosus* L.) variedad Golden MD2 en el departamento del Quindío. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(2): 4-8.
- Piñero González M., Izquierdo Córser P., Allará Cagnasso M. y García Urdaneta A. 2007. Residuos de plaguicidas organoclorados en 4 tipos de aceites vegetales. *Archivos latinoamericanos de nutrición ALAN*, 57 (4): 397-401.
- Porcel de Peralta M., Scagnetti J., Grigolato R., Sylvestre J., Kleinsorge E. y Simoniello, M.F. 2011. Evaluación del daño oxidativo al ADN y efecto de la susceptibilidad genética en una población laboral y ambientalmente expuesta a mezclas de plaguicidas. *Revista FABICIB*, 15: 119-129.
- Puigrós Jove J.M. 1989. Estudios que realiza la industria para el desarrollo de un producto fitosanitario. Actas del III Seminario Internacional sobre residuos de plaguicidas. Almería. España. Disponible en internet, publicado en: [http://www.dipalme.org/Servicios/Anexos/anexosiea.nsf/VAnexos/IEA-PRP-c3/\\$File/PRP-c3.pdf](http://www.dipalme.org/Servicios/Anexos/anexosiea.nsf/VAnexos/IEA-PRP-c3/$File/PRP-c3.pdf) Activo Noviembre de 2013.
- Putnam R.A., Nelson J.O. and Clark J.M. 2003. The persistence and degradation of chlorothalonil and chlorpyrifos in a cranberry bog. *J Agric Food Chem.*, 51 (1): 170-176.
- Randhawa M.A., Muhammad Anjum F., Ahmed A. and Saqib Randhawa M. 2007. Field incurred chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol residues in fresh and processed vegetables. *Food Chemistry*, 103: 1016–1023.
- Razi-ul-Hussnain R., Abbassi N.A. and Shafiq-ur-Rehman R. 2002. A quantitative analysis of residual organochlorine insecticide (Endosulfan) from brinjal (*Solanum melongena*). *Pakistan Journal of Arid Agriculture*, 5 (1): 29-33.
- Ricca A., Martinez M.J., Silva M., Tomasoni M., Strada J., Imwinkelried J., Fava F.D. and Ivancovich A. 2009. Evaluation of pesticide residues in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] and its relationship with the Maximum Residues Limits (MRL's). 2nd Latin American Pesticide Residue Workshop. Food and environment. Santa Fé, Argentina. 160 pp.

- Ricca A., Rojas D., Sancho A., Martinez M.J., Santajuliana M., Casini C., Strada J., Piatti F. and Silva M. 2011a. QuEChERS methodology for analyzing pesticide residues in Wheat. 3rd Latin American Pesticide Residue Workshop. Food and environment. Montevideo, Uruguay. En Actas PA49.
- Ricca A.P., Rojas D.E., Sancho A.M., Martinez M.J., Santajuliana M., Casini C., Piatti F., Strada J. y Silva M.P. 2011b. Metodología QuEChERS para el análisis de residuos de pesticidas en Maíz. XIII CONGRESO CYTAL® - AATA Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenos Aires, Argentina.
- Ricca, A.P. and Martinez M.J. 2009. Harvest and post-harvest factors influencing the presence of pesticide residues in soy, wheat and corn. II Latin American Pesticide Residue Workshop. Santa Fe, Argentina. 37pp.
- Ripley B.D., Ritcey G.M., Harris C.R., Denommé M.A. and Brown P.D. 2001. Pyrethroid insecticide residues on vegetable crops. *Pest Manag Sci.*, 57 (8): 683-687.
- Ritchie S. and Hanway J.J. 1982. How a corn plants develops. *Technol. Spec. Report* 48 Iowa State University.
- Romeh A.A., Mekky T.M., Ramadan R.A. and Hendawi M.Y. 2009. Dissipation of profenofos, imidacloprid and penconazole in tomato fruits and products. *Bull. Environmental Contam. Toxicol.*, 83: 812-817.
- Rubinson K.A. and Rubinson J.F. 2001. Análisis instrumental. Pearson educación S.A. Madrid, España. Traducción Larrauri Rós L. 872 pp. Publicado en Internet, disponible en <http://es.scribd.com/doc/29025298/Analisis-Instrumental-Judith-F-Rubinson> Activo Noviembre de 2013.
- Ruiz A.E., Wierna N. y Bovi Mitre G. 2008. Plaguicidas organoclorados en leche cruda comercializada en Jujuy (Argentina). *Rev. Toxicol.*, 25: 61-66.
- Sadlo S. 2000. Quantitative Relationship of Application Rate and Pesticide Residues in Greenhouse Tomatoes. *Journal of AOAC International* 83 (1): 214-219.
- Sahoo S.K., Chahil G.S., Mandal K., Battu R.S. and Singh B. 2012. Estimation of β -cyfluthrin and imidacloprid in okra fruits and soil by chromatography techniques. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 47 (1): 42-50.
- Samriti, Chauhan R. and Kumari B. 2011. Persistence and effect of processing on reduction of Chlorpyrifos residues in Okra fruits. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87 (2): 198-201.
- SENASA. 2002. Resolución 138/2002. Servicio nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Requisitos que deberán cumplir los laboratorios que soliciten autorización para ingresar en la Red de Laboratorios del SENASA. Manuales de Calidad y de Procedimientos.
- SENASA 2013. Secretaría Nacional de Sanidad Agropecuaria. Protección Vegetal, Agroquímicos. Publicado en Internet, disponible en <http://www.senasa.gov.ar>. Activo Septiembre 2013.
- Sgarbiero E., Trevizan L.R.P. and C. de Baptista G. 2003. Pirimiphos-Methyl residues in Corn and Popcorn grains and some of their processed products and the insecticide action on the Control of *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology*, 32 (4):707-711.
- Sheikh S.A., Nizamani S.M., Jamali A.A., Panhwar A.A., Channa M.J. and Mirani B.N. 2012. Removal of Pesticide Residues from Okra Vegetable through Traditional Processing. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 8: 79-84. ISSN: 1814-8085.

- Shires S.W. and Bennet D. 1985. Contamination and effects in freshwater ditches resulting from an aerial application of cypermethrin. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 9 (2): 145–158.
- Sigma Aldrich, 2013. Publicado en internet, disponible en <http://www.sigmaaldrich.com/argentina.html>. Activo Noviembre de 2013.
- SIIA. 2013. Sistema Integrado de Información Agropecuaria. Agricultura. Series históricas. Publicado en Internet, disponible en <http://www.siaa.gov.ar>. Activo Noviembre de 2013.
- Singh S. and Chawla R.P. 1980. Comparative persistence of residues of pirimiphos-methyl on stored wheat, maize and paddy. *Bulletin of Grain Technology*, 18 (3): 181-187.
- Singh S.B., Mukherjee I., Maisnam J., Kumar P., Gopal M. and Kulshrestha G. 2009. Determination of pesticide residues in integrated pest management and nonintegrated pest management samples of apple (*Malus pumila Mill.*). *J Agric Food Chem.*, 57(23):11277-83.
- Skrbic B. 2007. Organochlorine and organophosphate pesticide residues in wheat varieties from Serbia. *Food Addit Contam.*, 24 (7): 695-703.
- Solomon K.R., Giesy J.P., Kendall R.J., Best L.B., Coats J.R., Dixon K.R., Hooper M.J., Kenaga E.E. and McMurry S.T. 2001. Chlorpyrifos: ecotoxicological risk assessment for birds and mammals in Corn agroecosystems. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 7 (3):497-632.
- Sosa M. A. y Gamundi J. C. 2007. Control de hemípteros fitófagos en el cultivo de soja. En: TRUMPER E.V. y EDELSTEIN J.D. (eds). Chinchas fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Ediciones INTA, Manfredi. 169-189 pp.
- Strada J., Ricca A., Conles M., Silva M., Rojas D., Casini C., Piatti F. y Martínez M.J. 2012a. Evaluación de residuos de plaguicidas en granos de maíz (*Zea mays L.*) y trigo (*Triticum aestivum L.*) posterior a la aplicación en el almacenamiento y en el campo. *Interciencia*, 37 (6): 412-417.
- Strada J., Rojas D., Ricca A., Aguilar R., Bruno C., Conles M., Balzarini M., Piatti F. y Martínez M.J. 2012b. Niveles de residuos de plaguicidas aplicados en campo y almacenamiento en granos de soja. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina. 530 pp.
- Strada J., Ricca A., Rojas D. y Martínez M.J. Disipación de pirimifós metil y diclorvos en granos de maíz almacenados. 2013a. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CyTAI) 2013. Rosario, Argentina.
- Strada J., Ricca A., Rojas D., Aguilar R. and Martínez M.J. Pirimiphos-methyl dissipation in storage maize grains (*Zea mays L.*). 2013b. 4th Latin American Pesticide Residue Workshop (LAPRW). Bogotá, Colombia. En abstracts A104.
- Sutherland T.D., Horne I., Weir K.M., Russell R. and Oakeshott J.G. 2004. Toxicity and residues of endosulfan isomers. *Rev Environ Contam Toxicol.*, 183: 99-113
- Toledano R., Escribano J., Camara M., Navarro S. y Barba A. 1992. Residuos de plaguicidas en productos agrícolas. Campaña 1992. Murcia. España. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19: 664-671
- Trossero S.M., Trossero N.R., Scagnetti J., Portillo P. y Kleinsorge E.C. 2009. Plaguicidas en leche materna y su potencial efecto disruptor endocrino en gestantes del cordón hortícola de Santa Fe (Argentina) (Informe Preliminar). *Revista FABICIB*, 13: 97-103.

- Uygun U., Senoz B. and Koksel H. 2008. Dissipation of organophosphorus pesticides in wheat during pasta processing. *Food Chemistry*, 109 (2): 355-360.
- USDA. 2013. LMR database. Publicado en Internet, disponible en <http://www.mrlatabase.com/> Activo Noviembre de 2013.
- Vallone S. 2003. *El Libro de la soja*. Enfermedades de Soja. Satorre ed. Bs.As. Argentina. Cap 11. 123 pp.
- Villaamil Lepori E.C., Bovi Mitre G. y Nassetta M. 2013. Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, (Número especial sobre plaguicidas) 29: 25-43.
- Villaamil Lepori E.C., Rodríguez Girault M.E., Ridolfi A., Álvarez G., Mirson D., Ravenna A., Ochoa C. y González D. 2003. Residuos de plaguicidas organoclorados en productos lácteos infantiles y su aporte a la ingesta diaria admisible. *Acta Toxicol. Argent.*, 11: 81-82.
- Wauchope R.D., Young J.R., Chalfant R.B., Marti L.R. and Summer H.R. 1991. Deposition, mobility and persistence of sprinkler-irrigation-applied Chlorpyrifos on corn foliage and in soil. *Pesticide Science*, 32 (2): 235-243.
- Westcott N.D. and Reichle R.A. 1987. Persistence of deltamethrin and cypermethrin on wheat and sweetclover. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 22 (1): 91-101.
- White N.D.G., Jayas D.S. and Demiank C.J. 1997. Degradation and biological impact of Chlorpyrifos-methyl on stored wheat and Pirimiphos-methyl on stored maize in western Canada. *Journal of Stored Products Research*, 33 (2): 125-135.
- Wikipedia, 2013. Cromatografía gaseosa. Publicado en internet, disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Cromatografo_de_gases_diagrama.png Activo noviembre de 2013.
- Wilkowska A. and Biziuk M. 2011. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS Methodology. *Food Chemistry* 125: 803–812.
- Wirthgen B. and Raffke W. 1979. Use of dichlorvos in flour mills. *Nahrung*, 23 (4): 417-423.
- Yagüe A. 1989. Los residuos agrícolas y la exportación, una preocupación nacional. Actas del 1º seminario Internacional sobre residuos de plaguicidas 29 y 30 de noviembre de 1989. Almería. España. Publicado en Internet, disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2245779>. Activo Noviembre 2013.
- Yeboah P.O., Semanhyia C.B. and Melfah P.T. 1992. Bioavailability and biological activity of bound residues of radiolabelled pirimiphos-methyl in maize grains. *J Environ Sci Health B*, 27 (4): 377-386.
- Zabik M.J., El-Hadidi M.F., Cash J.N., Zabik M.E. and Jones A.L. 2000. Reduction of azinphos-methyl, chlorpyrifos, esfenvalerate, and methomyl residues in processed apples. *J Agric Food Chem.*, 48 (9): 199-203.
- Zayed S.M., Farghaly M. and El-Maghraby S. 2003. Fate of ¹⁴C-chlorpyrifos in stored soybeans and its toxicological potential to mice. *Food Chem Toxicol.*, 41 (6): 767-772.
- Zayed S.M.A.D., Farghaly M., Mahdy F. and Soliman S.M. 2007. Fate of the organophosphorus insecticide dichlorvos in stored beans. *Journal of Stored Products Research*, 43 (4): 474-479.
- Zhang Z.Y., Zhang C.Z., Liu X.J. and Hong X.Y. 2006. Dynamics of pesticide residues in the autumn Chinese cabbage (*Brassica chinensis L.*) grown in open fields. *Pest Management Science*, 62 (4): 350-355.

Zhang X., Shen Y., Yu X.Y. and Liu X.J. 2012. Dissipation of chlorpyrifos and residue analysis in rice, soil and water under paddy field conditions. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 78 (2) 76-80.

ANEXO 1

Resumen de las condiciones meteorológicas durante el desarrollo de los ensayos experimentales de aplicación de plaguicidas en el cultivo de soja

Anexo 1.1. Resumen de las condiciones meteorológicas (precipitaciones y temperaturas acumuladas) durante la realización de los ensayos experimentales de aplicación de insecticidas a campo en el cultivo de soja para tres campañas agrícolas y dos fechas de siembra en cada campaña.

Campaña	Fecha de siembra	Precipitaciones acumuladas en el ciclo del cultivo (mm)	Precipitaciones acumuladas de R3 a cosecha (mm)	Temperaturas acumuladas de R3 a cosecha (°C)	Precipitaciones acumuladas de R5 a cosecha (mm)	Temperaturas acumuladas de R5 a cosecha (°C)
2009/2010	1	695,5	349	1897,75	223	1416,85
	2	496,5	138,5	1148,92	99,5	932,22
2010/2011	1	505	234	1663,5	151	1192,63
	2	481	165	1582,73	118	1240,66
2011/2012	1	524,5	374,5	2464,88	334,5	2092,48
	2	411,5	38	1219,4	28	1009,1

Fuente: INTA, 2013.

Anexo 1.2. Resumen de las condiciones meteorológicas (radiación, temperaturas mínimas, máximas y medias, humedad relativa, evapotranspiración y precipitaciones) para la campaña 2009/2010 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.

Campaña	Fecha de siembra	Momento de aplicación	Día	Radiación (MJ.m-2)	Temp. Mínima (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Media (°C)	Humedad relativa (%)	Eto	Precip. (mm)
2009/2010	1	R3	13/01/2010	27,8	8,1	29,3	18,7	64	5,9	
			14/01/2010	26,8	10,5	33,5	22	59	6,1	
			15/01/2010	16,9	13	31,4	22,2	SD	3,8	
			16/01/2010	27,2	14,3	32,1	23,2	51	6,3	
		R5	04/02/2010	18,5	18,9	27	23	92	4,2	
			05/02/2010	7,9	19	26	22,5	94	1,8	
			06/02/2010	7,5	18,6	28,3	23,5	91	1,7	5
			07/02/2010	20,6	21,2	29,5	25,4	94	4,8	
	2	R3	05/03/2010	24	14,9	29,3	22,3	85	5,4	
			06/03/2010	20,8	17,1	30,4	23,7	86	4,8	
			07/03/2010	22,7	17,6	30,5	24,1	83	5,3	
			08/03/2010	22,7	18,6	30	23,5	82	5,3	
		R5	15/03/2010	21,3	10,2	27,5	18,6	74	4,5	
			16/03/2010	19,3	11,5	27,8	19,5	81	4,1	
			17/03/2010	20,1	19,1	31,2	24,5	83	4,7	
			18/03/2010	12,1	18,7	30	23,8	88	2,8	4

Fuente: INTA, 2013.

Anexo 1.3. Resumen de las condiciones meteorológicas (radiación, temperaturas mínimas, máximas y medias, humedad relativa, evapotranspiración y precipitaciones) para la campaña 2010/2011 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.

Campaña	Fecha de siembra	Momento de aplicación	Día	Radiación (MJ,m-2)	Temp. Mínima (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Media (°C)	Humedad relativa (%)	Eto	Precip. (mm)
2010/2011	1	R3	09/02/2011	25,9	13,4	26	19,8	84	5,4	
			10/02/2011	24,7	13,7	25,7	19,5	82	5,1	
			11/02/2011	14	13,9	25,3	19,4	81	2,7	
			12/02/2011	26,5	13,1	29,1	21	79	5,8	
		R5	04/03/2011	23,1	14,5	29,6	22,21	76	5,2	
			05/03/2011	20,2	16,9	29,5	22,79	74	4,6	
			06/03/2011	20,3	15,8	30,1	23,07	73	4,6	
			07/03/2011	22,1	17	30,8	22,85	80	5,1	
	2	R3	04/03/2011	23,1	14,5	29,6	22,21	76	5,2	
			05/03/2011	20,2	16,9	29,5	22,79	74	4,6	
			06/03/2011	20,3	15,8	30,1	23,07	73	4,6	
			07/03/2011	22,1	17	30,8	22,85	80	5,1	
		R5	21/03/2011	19,8	10,6	30,7	20,46	66	4,4	
			22/03/2011	20,2	14,4	32,8	23,56	72	4,7	
			23/03/2011	7,9	14,8	22,7	17,54	90	1,6	14
			24/03/2011	14,8	13,9	21,9	17,24	85	3	20

Fuente: INTA, 2013.

Anexo 1.4. Resumen de las condiciones meteorológicas (radiación, temperaturas mínimas, máximas y medias, humedad relativa, evapotranspiración y precipitaciones) para la campaña 2011/2012 en dos fechas de siembra desde el día de la aplicación en los estados fenológicos R3 y R5 en el cultivo de soja y tres días posteriores a la aplicación.

Campaña	Fecha de siembra	Momento de aplicación	Día	Radiación (MJ,m-2)	Temp. Mínima (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Media (°C)	Humedad relativa (%)	Eto	Precip. (mm)
2011/2012	1	R3	18/01/2012	11,9	17,2	28,9	23,3	73	3,1	
			19/01/2012	23,2	19,6	33,6	24,9	67	5,5	
			20/01/2012	29,1	16,4	35,0	26,3	64,5	6,8	
			21/01/2012	18,1	18,5	28,6	22,2	72	4,1	
		R5	03/02/2012	26,6	17,8	31,4	24,6	76,5	6,2	
			04/02/2012	20,1	19,8	34,8	27,3	75,5	5,0	4,5
			05/02/2012	17,1	19,3	31,5	25,4	82	4,1	
			06/02/2012	13,1	22,8	32,4	27,6	84,5	3,2	
	2	R3	23/03/2012	19,4	9,10	23,5	16,0	76	3,9	
			24/03/2012	19,4	11,3	26,2	18,0	70	4,1	
			25/03/2012	12,6	11,3	27,9	18,5	73	2,7	8,0
			26/03/2012	17,1	9,9	24,8	16,1	69,5	3,5	
		R5	04/04/2012	16,3	9,9	27	17,3	71	3,4	
			05/04/2012	18,6	8,9	30,6	19,2	68	4	
06/04/2012			17	11,9	30,3	21,2	75	3,8		
07/04/2012			11,9	15,8	30,9	22,7	71	2,7	5	

Fuente: INTA, 2013.

ANEXO 2

Imágenes de los ensayos experimentales realizados



Ensayos experimentales en el cultivo de soja



Ensayos experimentales en el cultivo de maíz



Trilla mecánica



Materiales utilizados en ensayos de almacenamiento de granos