

Determinación de plaguicidas en agua de riego en cultivos arroceros, granos de arroz y subproductos

Munitz, Martín S.^{1,2}, Medina, María B.^{1,2}, Raviol, Fabricio¹, Subovich, Gladys¹, Novoa, Martín¹, Williman, Celia¹, Parma, Fernando¹

Autores:¹Facultad de Ciencias de la Alimentación - Laboratorio de Investigación de Residuos de Plaguicidas en Alimentos - Universidad Nacional de Entre Ríos Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

ARK: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/ub6rftxi7>

Contacto: martin.munitz@uner.edu.ar

Resumen

Los tratamientos con agroquímicos a los que es sometido el arroz, pueden proveerle una importante carga residual de fitosanitarios, así como la contaminación de las fuentes de agua de riego. Los plaguicidas estudiados fueron cyproconazole, epoxiconazole, kresoxim-metil, propiconazole, azoxystrobin y deltametrina. Los objetivos del presente trabajo fueron: el desarrollo y validación de metodologías analíticas tendientes a la determinación cuantitativa de los plaguicidas mencionados en arroz y agua de riego, por cromatografía gaseosa y su confirmación por espectrometría de masas; determinar la ocurrencia de los mismos en muestras de arroz y agua obtenidos de supermercados y campos arroceros, respectivamente; evaluar el proceso de molienda de arroz sobre los plaguicidas; y estudiar el efecto de 3 métodos de cocción sobre el contenido de los contaminantes. Las metodologías validadas son adecuadas para las determinaciones de niveles traza de residuos. Se encontraron muestras de agua y de arroz contaminadas con los plaguicidas. El proceso de molienda demostró que en el arroz pulido permanece de 2 a 35 % de los analitos, por lo que se estudiaron métodos de cocción para asegurar la reducción. La cocción con remojo previo logró reducir de 45 a 86 % de la contaminación.

Palabras clave: arroz; plaguicidas; agua de riego; molienda; cocción

Objetivos propuestos y cumplidos

Los objetivos del presente trabajo fueron: el desarrollo y validación de metodologías analíticas tendientes a la determinación cuantitativa de los plaguicidas mencionados en arroz y agua de riego, por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas; determinar la ocurrencia de los mismos en muestras de arroz y agua obtenidos de supermercados y campos arroceros, respectivamente; evaluar el proceso de molienda de arroz sobre los plaguicidas; y estudiar el efecto de 3 métodos de cocción sobre el contenido de los contaminantes.

Marco teórico

De acuerdo al Codex Alimentarius, se define al arroz como los granos enteros o partidos de la especie *Oryza sativa* L. (Codex alimentarius, 1995). El arroz es una planta herbácea anual que se cultiva en condiciones casi permanentes de inundación. El arroz se clasifica como un cereal. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2004), el arroz proporciona el 20% del suministro de energía alimentaria del mundo. Es también una buena fuente de tiamina, riboflavina, niacina y fibra alimentaria (Fedearroz, 2012).

Argentina participa del 1,3% de las exportaciones mundiales de arroz con cáscara o arroz “paddy”. El principal exportador es Estados Unidos (59% del total comercializado a nivel mundial). Paralelamente, participa del 3,5% de las ventas mundiales de arroz descascarillado. Las exportaciones argentinas de arroz semiblanqueado o blanqueado representan sólo el 1% de las ventas mundiales, donde el principal comercializador es India, con un 40%, seguido por Tailandia (20%) y Vietnam (7%). Las principales áreas de producción de arroz en Argentina son Corrientes y Entre Ríos, con el 45 % y el 37 % de la producción total, respectivamente. Solo el 27 % de la cosecha total de arroz se comercializa en Argentina, y el otro 73% se exporta, principalmente a Brasil (Clarín, 2016; Moreno, 2016; 2017).

La obtención del arroz pulido consiste en eliminar la cáscara del arroz, mediante unos rodillos de caucho (descortezador) que giran a diferentes velocidades en sentidos opuestos. Éstos se alimentan con arroz con cáscara a una velocidad controlada. De esta manera se obtienen dos corrientes, por un lado, la cáscara y por el otro, el arroz integral. A partir de esta última corriente y por medio de un proceso denominado molienda, en donde intervienen fuerzas de abrasión y/o fricción, se consigue el arroz blanco (Buggenhout y col., 2013).

El arroz, como otros cultivos, normalmente se ve afectado por insectos, hongos y otras plagas. Para reducir los daños económicos asociados a estas plagas, el uso de pesticidas es una práctica común en el campo. Sin embargo, estos compuestos químicos podrían permanecer en los cereales incluso después de su almacenamiento y procesamiento. La tendencia de los consumidores al consumo de productos naturales u orgánicos ha promovido a legislaciones internacionales a reducir los límites de pesticidas permitidos. Organizaciones como el Codex Alimentarius (Codex Alimentarius, 2013), SENASA (SENASA, 2010) y la Comisión Europea (EC, 2005) establecen los niveles máximos de residuos (LMR) para cada plaguicida y producto.

Por otro lado, según Pimentel (1995) y Sabik y col. (2000) aproximadamente el 99.9% de los pesticidas aplicados alcanzan diferentes objetivos ambientales como las aguas subterráneas y superficiales. La contaminación del suelo y el agua por estos compuestos depende de numerosas variables, como el tipo y la concentración de pesticida utilizado. El transporte desde el campo hasta el agua está directamente relacionado con sus propiedades fisicoquímicas: solubilidad en agua, Kow, presión de vapor, etc., y las condiciones ambientales (Sabik y col., 2000; Carazo-Rojas y col., 2018). Esta contaminación de los cuerpos de agua podría causar un riesgo para la vida acuática y la salud humana (Van Toan y col., 2013; Vaezi y col., 2018; Ippolito y Fait, 2019). La mayor concentración de pesticidas que generan contaminación se alcanza después de su tiempo de aplicación, debido al drenaje superficial / escorrentía del agua. Además, las pérdidas significativas de pesticidas utilizados en los arrozales parecen ocurrir después de las lluvias (Watanabe y col., 2007; Anyusheva y col., 2012).

Sin embargo, el agua subterránea que se usa para irrigar los arrozales también puede contener pesticidas, lo que aumenta la contaminación (Affum y col., 2018). Algunas legislaciones establecieron estándares de calidad ambiental para pesticidas en aguas superficiales. Por ejemplo, el límite máximo de residuos (LMR) permitido para plaguicidas comúnmente utilizados en arrozales en Argentina es 0,1 µg/l (EC, 2006).

Los pesticidas más comunes utilizados en los arrozales argentinos durante las dos últimas temporadas de cosecha fueron deltametrina, penconazole, kresoxim-metil, cyproxonazole, epoxiconazole y

azoxystrobin. Esta información se verificó con la recomendación establecida por la Cámara de Sanidad Agrícola y Fertilizantes (CASAFE, 2017).

Varias técnicas de extracción y equipos de cromatografía (cromatografía de gases o cromatografía líquida, solos o acoplados a espectrometría de masas), se utilizan comúnmente para la determinación de pesticidas. La metodología QuEChERS propuesta por Anastassiades y col (2003), y sus modificaciones (González-Curbelo y col., 2015), han sido utilizados para la determinación de pesticidas en arroz por varios autores (Nguyen y col 2007, 2008; Koesukwiwat y col 2008; Chung y Chan 2010; Mastovska y col 2010; Hou y col 2013; Grande-Martinez y col. 2015, 2016).

La extracción en fase sólida (SPE) se usa normalmente para el análisis de pesticidas en muestras de agua, pero es una técnica costosa y laboriosa, y los costos de los cartuchos son bastante caros (Elfman y col., 2011; Metcalfe y col., 2019; Zaidon y col., 2019) Wang y col. (2018) determinaron los pesticidas organoclorados en aguas superficiales con GC-MS / MS utilizando magnetoliposomas como absorbentes. Pareja y col. (2011) propusieron un método de inyección directa LC-MS / MS para pesticidas en agua de arroz, evitando los tratamientos de muestra típicos. Basado en la misma idea, proponemos un método de microextracción en fase sólida (SPME) para reducir los costos de extracción y mejorar la sensibilidad.

Metodología

Se detallan a continuación los materiales y equipamiento considerados más relevantes en el desarrollo de las técnicas analíticas:

Materiales

- Estándares certificados de: *azoxystrobin*, *penconazole*, *deltametrina*, *kresoxim-metil*, *epoxiconazole* y *cyproconazole* (Sigma-Aldrich).
- Agua grado 1 (agua calidad cromatográfica ultra pura).
- Hidróxido de sodio y ácido acético, calidad p.a. (Biopack).
- Metanol calidad cromatográfica (Sintorgan) para preparar las soluciones estándar stock de 1000 mg/l de los diferentes plaguicidas.
- Hexano calidad cromatográfica (Merck).
- Acetonitrilo calidad cromatográfica (Merck).
- Filtros de nylon de 0,45 y 0,2 μm .
- Fibras de SPME: PDMS de 100 μm (polidimetilsiloxano, apolar) y CWX-DVB de 65 μm (carbowax-divinilbenceno, polar). Ambas suministradas por Supelco.
- Cloruro de sodio y sulfato de sodio anhidro (Biopack).
- Hidrogencitrato de sodio sesquihidratado, citrato de sodio dihidratado (Sigma Aldrich).
- C18 y PSA (Agilent Technologies).

Equipamiento

- Cromatógrafo gaseoso Hewlett Packard Modelo 6890 Serie II, con sistema de inyección capilar "split/splitless", equipado con Inyector automático Hewlett Packard Modelo 6890 y Chem station o estación de trabajo HP. Versión A.03.34 con Detector de microcaptura de electrones (μECD). Columna Agilent HP - 5MS 0,25 mm x 30 m x 0,25 μm de diámetro interno (i.d.).
- Cromatógrafo gaseoso Hewlett Packard GC 6890, equipado con dos sistemas de inyectores: Inyector de Vaporización con Temperatura Programada (PTV) y puerto de inyección modo "split/splitless". Muestreador automático HP 7683, columna capilar HP5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Detector Selectivo de Masa (MSD) HP 5973. ChemStation o estación de trabajo HP. Biblioteca NIST y RTLPEst.

- Equipo E. Pure – Barnstead, utilizado para la obtención de agua grado 1.
- Balanza analítica Ohaus, “Freezer” Electrolux, Centrífugas Gelec 130-D y Gelec G-142-D de 13.000 y 5.000 rpm.
- Concentrador a vacío RapidVap ®, Labconco.

Plan de Muestreo

Plan de muestreo para arroz en supermercados

Las muestras fueron tomadas de acuerdo a la Directiva de la Comisión Europea N° 2002/63/EC (EC, 2002). La misma establece que el tamaño de cada muestra debe ser de 1 kg de granos de arroz, por lo que cada muestra estuvo representada por un paquete de arroz.

Se tomaron 100 muestras de distintas marcas de arroz provenientes de supermercados de la región. Las mismas fueron conservadas en su paquete original en el freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$), hasta su posterior procesamiento y análisis.

Plan de muestreo para agua de riego en campos arroceros

Las muestras fueron recolectadas acorde a las recomendaciones del “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters” (APHA 1998). Un total de 2 litros de agua fue tomado en botellas de vidrio color caramelo. Las muestras se mantuvieron a 4°C durante el transporte al laboratorio. Posteriormente, fueron filtradas a través de una membrana de nylon de $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro para separar los sólidos suspendidos, y luego se conservaron en el freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$), hasta su posterior análisis.

Plan de muestreo para arroz en molinos arroceros

Las muestras fueron tomadas por el personal del establecimiento. Se tomaron muestras de arroz cáscara, integral y pulido provenientes de 100 lotes. Los mismos correspondían a una temporada de cosecha.

Con el objetivo de lograr una muestra homogénea, se tomaron 200 – 300 g de cada muestra durante una jornada de trabajo, con una frecuencia de muestreo de 1 hora. La cantidad total de cada muestra fue de 1600 – 2400 g. Las muestras fueron identificadas, rotuladas y transportadas en cadena de frío al Laboratorio y conservadas en freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$) hasta su procesamiento para su análisis.

Metodologías analíticas

Determinación de plaguicidas en arroz

Los plaguicidas en muestras de arroz fueron extraídos mediante una modificación del método QuE-ChERS [Quick (rápido), Easy (fácil), Cheap (económico), Effective (eficaz), Rugged (sólido) y Safe (seguro)]. El método original fue desarrollado para muestras con elevada humedad ($> 75 \%$). La adición de agua se propone para cereales y otros productos con humedades menores al 25% (Diez y col. 2006; Kolberg y col. 2011).

El arroz (1kg) fue procesado en un molino para granos durante 2 minutos, obteniendo una muestra pulverizada homogénea. Una porción de 10 g fue pesado en un tubo de centrifuga y se le adicionaron 10 ml de agua. Luego, se adicionaron 10 ml de acetonitrilo para lograr la extracción. Se agitó en vórtex durante 1 minuto. Posteriormente, se adicionaron 1 g de cloruro de sodio, 4 g de sulfato de sodio anhidro, 0,5 g de hidrogenocitrato de sodio sesquihidratado y 1 g de citrato de sodio dihidratado. Se agitó en vórtex por 1 minuto y se centrifugó por 5 minutos a 4000 rpm, hasta lograr la separación de fases. Se trasvasó la fase superior a un tubo de centrifuga conteniendo 1,5 g de sulfato de sodio anhidro, 0,25 g de PSA y 0,25 g de C18. Se agitó manualmente por 1 minuto y se centrifugó 5 minutos a 4000 rpm. Posteriormente, se

evaporó el sobrenadante a sequedad bajo condiciones de vacío, y se reconstituyó con 2 ml de hexano.

El puerto de inyección del equipo se mantuvo a 250 °C. Se utilizó helio como gas carrier. El flujo se mantuvo constante en 1 ml/min. La temperatura del horno se estableció de la siguiente manera: 80 °C (0,2 min), y luego se incrementó a 40 °C/min hasta 195 °C, seguido por una rampa de 12 °C/min hasta 280 °C. La rampa final se fijó en 5 °C/min hasta 290 °C (se mantiene 8 minutos). La temperatura del detector fue de 290 °C.

Determinación de plaguicidas en agua

Para estos análisis se utilizó la microextracción en fase sólida (SPME) como metodología extractiva. Para la selección del método más apropiado se tuvieron en cuenta las propiedades físicas y químicas de cada analito, su concentración estimada en las muestras, la naturaleza de la matriz, la forma en que el analito se presenta en la misma, y la compatibilidad de los medios de solubilización y extracción con el sistema cromatográfico.

Las variables extractivas analizadas para la puesta a punto de la metodología incluyeron, en primer lugar, el modo de extracción por inmersión directa (ID) o por espacio de cabeza (HS).

Definido el modo de extracción, se estudió el pH al cual se debieron ajustar las soluciones para lograr la mayor extracción de los analitos provenientes de la matriz por el solvente, el cual se varió entre 5 y 9. Además, se estudiaron 3 polímeros diferentes: Polidimetilxilosano (PDMS) de 100 µm, Poliacrilato (PA) de 85 µm y Carbowax/Divinilbenceno (CW/DVB) de 65 µm.

La velocidad de agitación para la extracción, se varió desde 0 hasta 250 rpm, el tiempo de extracción de la fibra en la solución conteniendo los analitos en estudio, se modificó entre 5 y 720 min.

El agregado de sal durante el proceso extractivo, mejora muchas veces la extracción de los analitos (Tsoukali y col. 2005; Fytianos y col. 2006; Chai y Tan 2009; Munitz y col. 2017), sin embargo, produce también un mayor deterioro de las fibras, por lo que no se incluyó en este estudio por el alto costo de las fibras (Viñas y col. 2009).

Por otro lado, se optimizaron las condiciones cromatográficas. Para ello se evaluaron diferentes temperaturas de desorción en el puerto de inyección entre 230 y 260°C; el tiempo de desorción necesario para lograr que no quede analito remanente en la fibra, y se ajustaron las rampas de temperatura del horno para una correcta separación de los analitos de interés.

Finalmente, se empleó una fibra de PDMS de 100 µm para todos los analitos. Las soluciones preparadas se colocaron en viales de 8 ml junto con un imán. Cada vial se colocó sobre un agitador magnético con sistema aislante para mantener la temperatura de la muestra. Se realizó la agitación a 200 rpm para todos los analitos. En el portafibra que se encontraba sobre el vial se introdujo la fibra de PDMS, se expuso el polímero durante 15 min y luego se retrajo, quedando lista para introducirla en el cromatógrafo gaseoso. La sala de trabajo estuvo climatizada, a 25±1°C.

La temperatura del inyector se programó en 250°C. El tiempo de desorción, necesario para asegurar que todo el analito absorbido en la fibra sea desorbido en el puerto de inyección, fue de 5 min. La temperatura del detector se fijó en 290°C. El flujo por columna fue de 1 ml/min, y la rampa del horno se programó de la siguiente manera: 80°C durante 6,2 min, luego la temperatura ascendió a 40°C/min hasta 195°C, a 12°C/min hasta 280°C, a 5°C/min hasta 290°C y se mantuvo 8 min.

Confirmación de resultados

Para la confirmación de los resultados se utilizó un cromatógrafo gaseoso Agilent 6890 N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973 (GC/MS). Las condiciones del horno fueron las mismas que se utilizaron en el GC-µECD. La ionización se produce por Impacto Electrónico (EI) a 70 eV. Las temperaturas de la fuente de iones y del cuadrupolo fueron fijadas en 230 y 150 °C, respectivamente. La confirmación de los pesticidas se llevó a cabo según las recomendaciones de la Guía Europea SANTE (EC, 2017).

Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos se realizó mediante software: Statgraphics Centurión XV, versión 15.2.06 y OriginPro versión 90E.

Los resultados de los triplicados obtenidos de las diferentes matrices fueron analizados a fin de establecer los parámetros estadísticos, se efectuó el análisis unidimensional en el que se determinaron los valores medios, intervalos de confianza para un 95 % y normalidad de los datos.

Cocción de arroz

Los diferentes tipos de cocciones se realizaron por cuadruplicado. Los mismos se describen a continuación:

1. Método tradicional de cocción: la cocción tradicional de arroz consiste en colocar una parte de arroz con dos partes de agua. Se calienta el agua por un minuto y luego se adiciona el arroz. Una vez que comienza a hervir la mezcla de arroz con agua, se controla el tiempo indicado en el rótulo del paquete de arroz (10 minutos). La temperatura a la cual comenzó la cocción fue de 91 ± 1 °C.
2. Método con exceso de agua: la cocción con exceso de agua consistió en cocinar una parte de arroz con 6 partes de agua. Una vez que el agua dentro del recipiente de cocción alcanzó el punto de ebullición, se agregó el arroz. Al comenzar el hervor se controló el tiempo necesario de cocción indicado en el envase (10 minutos).
3. Método con remojo: consistió en colocar el cereal en un recipiente, junto con 2 partes de agua por cada parte de arroz. La etapa de remojo duró 10 hs. Luego se retiró el agua de remojo y se cocinó con exceso de agua.

Para llevar a cabo este estudio, se realizó una aplicación de pesticidas al arroz comprado en el supermercado. Para esto se abrió el paquete de arroz y se colocó el mismo, uniformemente distribuido, en bandejas plásticas. A continuación, se aplicó mediante un aspersor, 25 ml de una solución acuosa de los siguientes pesticidas: azoxystrobin, deltametrina, kresoxim-metil, cyproconazole, epoxiconazole y penconazole, con una concentración de 10 ppm. El enrase de la solución a 25 ml se realizó con agua de red, la misma que se utilizó para las diferentes cocciones. La temperatura del agua tanto para la preparación de la solución, como para la cocción fue de 21 ± 1 °C.

Cada muestra se constituyó pesando $50,00 \pm 0,01$ g de arroz. Luego de la aplicación de los pesticidas, se tomaron 4 muestras como testigo para evaluar la concentración inicial de los plaguicidas. Antes de realizar las diferentes cocciones se dejó secar el arroz al cual se le había aplicado la solución de pesticidas, a temperatura ambiente durante 2 días.

Teniendo en cuenta que el tiempo de exposición a una determinada temperatura puede influir en la destrucción de los pesticidas, las tres cocciones se realizaron durante 10 minutos, que es el tiempo recomendado en el envase.

Resultados y conclusiones

A) Metodología para la determinación de plaguicidas en agua de riego

Como se mencionó en el ítem de Metodología, para la selección de los parámetros adecuados de extracción, se probaron diferentes valores de pH, fibras, tiempos y velocidades de extracción, tiempos y temperaturas de desorción. En las Figuras 1 - 3 y en la Tabla 1, se pueden observar los resultados obtenidos:

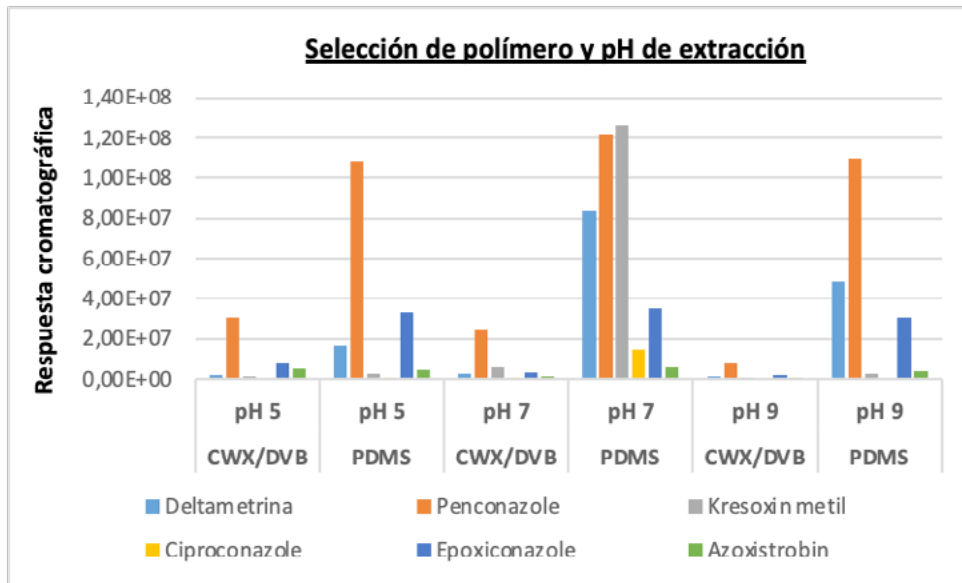


Figura 1: Selección del polímero de recubrimiento y del pH de extracción para soluciones de estándar de 0,01 ppm

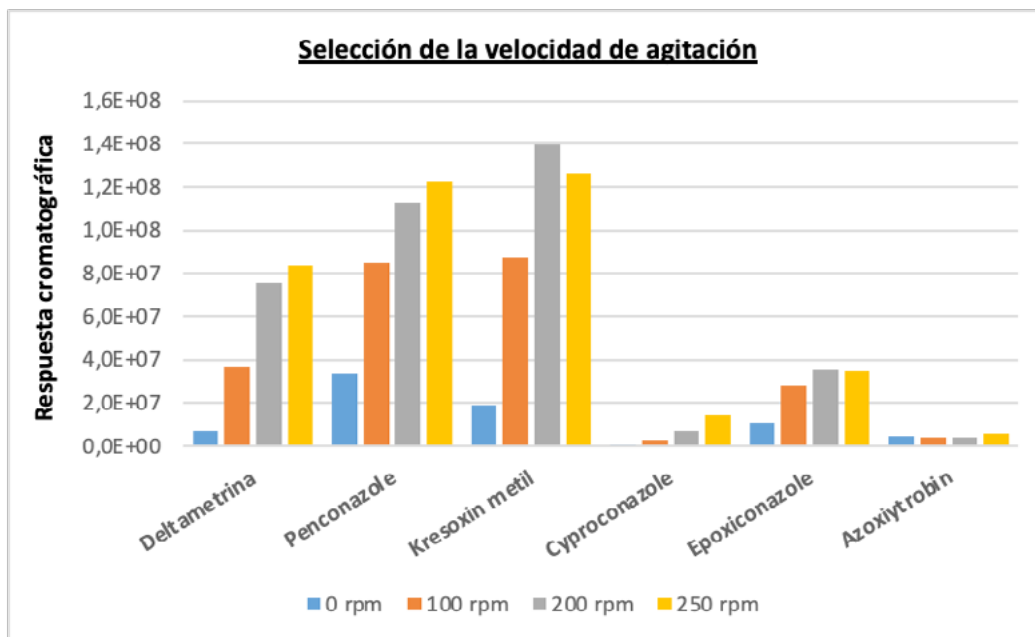


Figura 2: Selección de la velocidad de agitación para soluciones de estándar de 0,01 ppm.

Los tiempos de desorción ensayados, luego de pruebas preliminares, fueron de 4; 5; y 6 minutos. Los resultados pueden observarse en la Tabla 1:

Tabla 1: Comparación de respuestas cromatográficas promedio para diferentes tiempos de desorción (n=3.)

| Pesticidas | Tiempo (minutos) | | |
|-----------------------|------------------|-----------|-----------|
| | 4 | 5 | 6 |
| <i>Deltametrina</i> | 55285141 | 95353528 | 71113405 |
| <i>Penconazole</i> | 116985178 | 121220043 | 125241409 |
| <i>Kresoxin metil</i> | 134131865 | 148491200 | 147727159 |
| <i>Ciproconazole</i> | 29865393 | 39385491 | 38968200 |
| <i>Epoxiconazole</i> | 90578030 | 102894151 | 106146816 |
| <i>Azoxystrobin</i> | 3285890 | 3258820 | 3560991 |

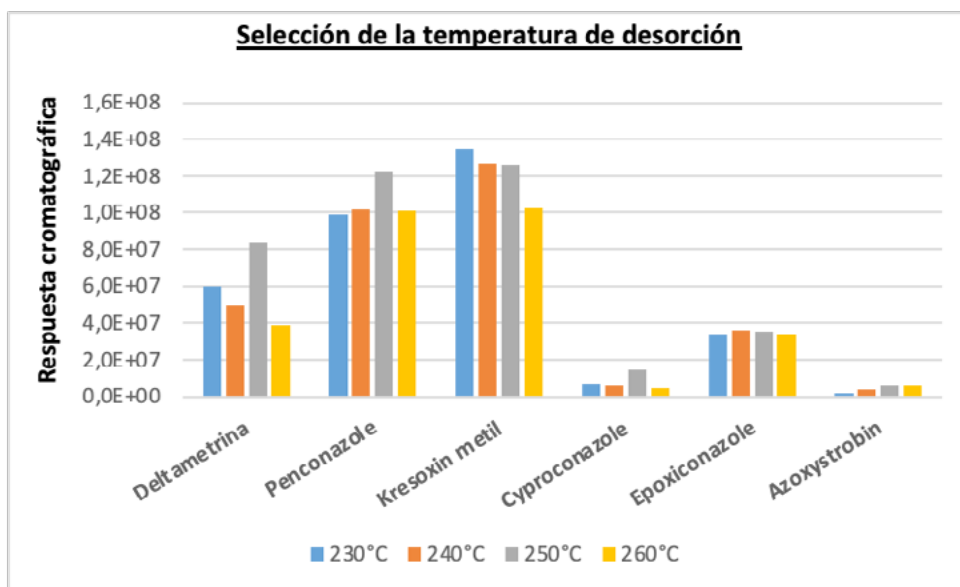


Figura 3: Selección de la temperatura de desorción para soluciones de estándar de 0,01 ppm.

Puede apreciarse que la fibra de PDMS combinado con un pH de extracción igual a 7, permitió obtener los mejores resultados para los 6 analitos en estudio. Por este motivo, esta fue la combinación de polímero y pH seleccionados para la extracción.

Trabajar sin agitación produjo las respuestas cromatográficas más bajas. Se observa que al incrementar la velocidad de agitación las respuestas cromatográficas fueron cada vez mayores. Sin embargo, no hay diferencias significativas entre el proceso de agitación a 200 y 250 rpm. Por ello se adoptó 200 rpm de velocidad de agitación para la extracción de estos analitos. Velocidades más altas podrían provocar que el agitador dañe la fibra.

Los tiempos de desorción se optimizaron de manera de lograr que no queden cantidades residuales en la fibra. Por los motivos antes expuestos, se toman como tiempos de desorción, en la metodología analítica propuesta, 5 minutos para todos los compuestos.

En el caso de deltametrina, penconazole y cyproconazole, las mejores respuestas cromatográficas se obtuvieron a 250 °C. A mayor temperatura probablemente ocurrió la degradación térmica de los compuestos. Por otro lado, para kresoxim-metil, epoxiconazole y azoxystrobin, no hay diferencias significa-

tivas entre 240 y 250 °C. La temperatura de 230 °C arrojó la mejor respuesta para kresoxim-metil, pero debido a que la diferencia con las otras temperaturas es pequeña, y priorizando el desarrollo de una única metodología multiresiduo, se adoptó como temperatura de desorción para todos los analitos, 250°C.

Una vez que la técnica fue puesta a punto, se procedió a su validación de acuerdo a los lineamientos establecidos por la Guía Europea SANTE (EC, 2017).

Para la construcción de las curvas de calibración se prepararon soluciones de estándares en el rango de concentración de 0,0005 a 0,01 ppm (n = 9; α = 0,05). El método presenta una adecuada linealidad en los rangos estudiados de cada analito, con valores de R² superiores a 0,9945 en todos los casos. La selectividad del método se evaluó observando que no había picos de interferencias en los tiempos de retención de cada analito, en un cromatograma de muestra de agua sin adición de los compuestos. En la Figura 4 puede apreciarse, a modo de ejemplo, la curva de linealidad para deltametrina:

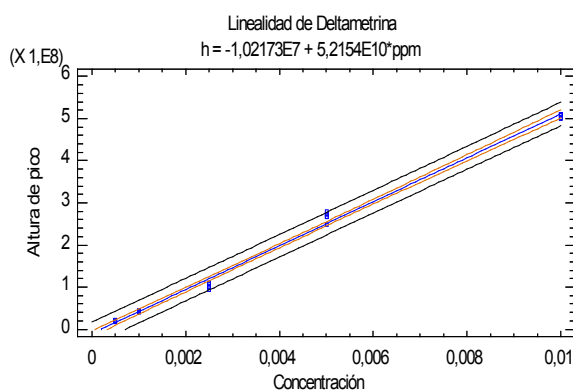


Figura 4: Curva de calibración para agua adicionada con deltametrina (n=9; μ=0,05). R²=0,9977.

En la Tabla 2 pueden observarse los valores de precisión, porcentaje de recuperación, ambos a tres niveles de concentración, los límites de detección (LOD) y los límites de cuantificación (LOQ), para cada compuesto.

Tabla 2: Características del método cromatográfico validado en agua.

| Analito | LOD (µg/l) | LOQ (µg/l) | Precisión (RSD%) | | | Recuperación (%) ± RSD% | | |
|----------------|------------|------------|------------------|----------|-----------|-------------------------|-------------|-------------|
| | | | 0,5 µg/l | 2,5 µg/l | 10,0 µg/l | 0,5 µg/l | 2,5 µg/l | 1,0 µg/l |
| Azoxystrobin | 0,03 | 0,05 | 5,2 | 1,1 | 5,2 | 102,4 ± 4,5 | 104,2 ± 1,1 | 99,5 ± 0,7 |
| Cyproconazole | 0,03 | 0,05 | 2,9 | 5,2 | 2,1 | 91,4 ± 3,1 | 102,5 ± 1,8 | 100,5 ± 1,5 |
| Deltametrina | 0,02 | 0,05 | 5,3 | 5,0 | 3,0 | 99,1 ± 1,5 | 101,0 ± 1,1 | 98,5 ± 1,4 |
| Epoxiconazole | 0,02 | 0,05 | 5,1 | 3,8 | 3,0 | 102,9 ± 0,9 | 90,5 ± 1,2 | 101,4 ± 0,9 |
| Kresoxim-metil | 0,02 | 0,03 | 7,0 | 1,3 | 3,4 | 98,4 ± 1,3 | 99,2 ± 1,2 | 100,1 ± 0,4 |
| Penconazole | 0,01 | 0,02 | 3,7 | 4,6 | 2,5 | 99,8 ± 1,0 | 100,4 ± 0,1 | 99,3 ± 0,1 |

B) Metodología para la determinación de plaguicidas en arroz

Previo a la aplicación de la metodología QuEChERS, se realizó una selección de solventes de extracción y reconstitución. Para la extracción se compararon acetonitrilo y hexano; mientras que para la reconstitución del residuo sólido obtenido luego de la evaporación se evaluaron metanol, acetonitrilo y hexano. La extracción con metanol se descartó por cuestiones prácticas ya que el volumen extraído y el tiempo de evaporación eran muy altos, dificultando las tareas rutinarias de un laboratorio de investigación. En la Tabla 3 se observan los resultados obtenidos para muestras de arroz adicionadas con 0,5 ppm de los 6 plaguicidas es estudio:

Tabla 3: Comparación de respuestas cromatográficas promedio para diferentes solventes de extracción y reconstitución (n=3.)

| Solvente | | Pesticidas | | | | | |
|--------------|----------------|--------------|--------------|----------------|-------------|---------------|-------------|
| Extracción | Reconstitución | Azoxystrobin | Deltametrina | Kresoxim metil | Penconazole | Cyproconazole | Epoconazole |
| Hexano | Acetonitrilo | ND | 42519062 | 44923268 | 1964206 | ND | 38287 |
| Acetonitrilo | Metanol | 32430531 | 27698391 | 107682462 | 114190901 | 553168 | 64551426 |
| Acetonitrilo | Hexano | 43082615 | 46852831 | 116102093 | 119716964 | 801238 | 63265163 |
| Acetonitrilo | Acetonitrilo | 36315981 | 23240269 | 105351124 | 115001225 | 1179773 | 56625382 |
| Hexano | Hexano | ND | 56022586 | 68275534 | 5308287 | ND | 1458378 |
| Hexano | Metanol | ND | 52050235 | 42046790 | 4736410 | ND | 1269015 |

ND = no detectado

En la misma puede observarse que en general la extracción con acetonitrilo permite obtener las mejores respuestas cromatográficas, independientemente del solvente que se utilice en la reconstitución. La excepción es la deltametrina, para la cual el hexano muestra mayor extracción. Sin embargo, teniendo en cuenta que el objetivo es lograr unificar la técnica de determinación de los plaguicidas comúnmente empleados en arroz, se optó por una solución de compromiso sacrificando sensibilidad de la deltametrina y seleccionando acetonitrilo como solvente de extracción. Además, la utilización de hexano no permitió la extracción de azoxystrobin de las muestras de arroz.

Por otro lado, en relación con el solvente de reconstitución, los resultados fueron analizados mediante un test de comparación de medias utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XV, observando que no existen diferencias estadísticamente significativas para un 99% de confianza entre los resultados utilizando metanol, acetonitrilo o hexano, para epoxiconazole, cyproconazole, kresoxim-metil y penconazole. Sin embargo, existen diferencias significativas para azoxystrobin y deltametrina, obteniendo el mejor resultado con la utilización de hexano.

Una vez que la técnica fue puesta a punto, se procedió a su validación de acuerdo a los lineamientos establecidos por la Guía Europea SANTE (EC, 2017).

Para la construcción de las curvas de calibración se prepararon soluciones de estándares y de matriz adicionada en el rango de concentración de 0,005 a 2 ppm (n = 9; $\alpha = 0,05$). Las Figuras 5 y 6 muestran un ejemplo de dichas curvas para soluciones de estándares y arroz adicionado con deltametrina:

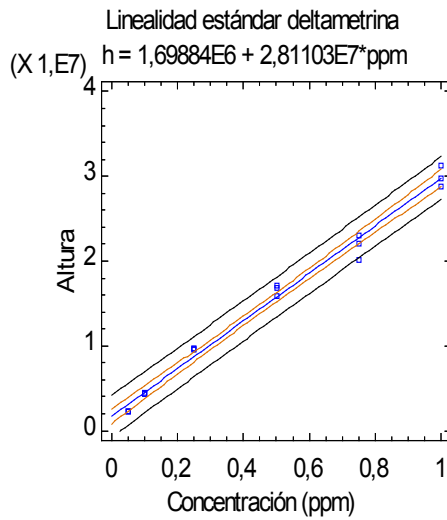


Figura 5: Curva de calibración para estándar de deltametrina (n=9; $\alpha=0,05$). $R^2=0,9945$.

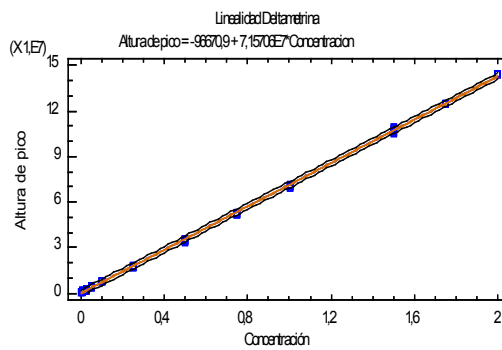


Figura 6: Curva de calibración para matriz adicionada con deltametrina (n=9; $\alpha=0,05$). $R^2=0,9998$.

A los efectos de evaluar la existencia o no de efecto matriz, para determinar la metodología de calibración para muestras reales, como son las muestras de arroz provenientes de molinos arroceros y supermercados, fue necesario efectuar la comparación de los resultados de las rectas de regresión. El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion XV comparando las curvas de regresión, a partir de los resultados obtenidos para soluciones de estándares y soluciones de arroz adicionadas. Se presenta la Figura 7, a modo de ejemplo, donde puede observarse la comparación de las curvas de regresión para deltametrina:

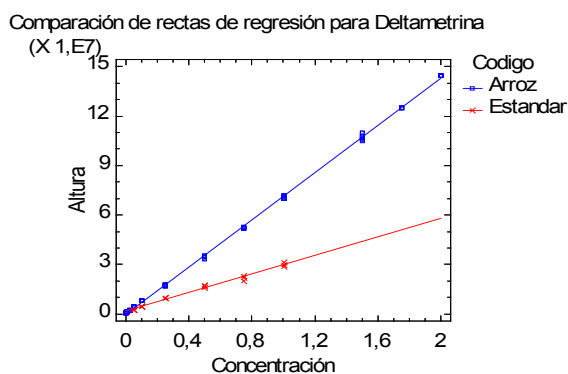


Figura 7: Comparación rectas de regresión de soluciones estándar y matriz adicionada para deltametrina (n=9; $\alpha=0,05$)

Debido a que los P-valor de la comparación entre las pendientes y las ordenadas al origen de ambas rectas son menores que 0,01, existen diferencias altamente significativas entre las pendientes y las ordenadas al origen, para las distintas curvas de arroz adicionado y soluciones de estándares, con un nivel de confianza del 99%. De estos resultados se decidió que para determinar las concentraciones de los plaguicidas en estudio, se realizaran periódicamente nuevas curvas de calibración con la matriz adicionada.

El método presenta una adecuada linealidad en los rangos estudiados de cada analito, con valores de R^2 superiores a 0,9998 en todos los casos. La selectividad del método se evaluó observando que no había picos de interferencias en los tiempos de retención de cada analito, en un cromatograma de muestra de arroz sin adición de los compuestos.

En la Tabla 4 pueden observarse el resto de los parámetros estudiados para la validación de la metodología.

Tabla 4: Características del método cromatográfico validado en arroz

| Análito | LOD (µg/kg) | LOQ (µg/kg) | Determinación por GC-µECD | | | | | | MS parámetros de confirmación | | MRL (mg/kg) | | |
|----------------|-------------|-------------|---------------------------|-------------|-----------|-------------------------|-------------|-------------|-------------------------------|------------------|-------------|--------|-------|
| | | | Precisión (RSD%) | | | Recuperación (%) ± RSD% | | | Ion Cuantificador | Ion Cualificador | EC | SENASA | CODEX |
| | | | 0,1 mg kg-1 | 0,5 mg kg-1 | 1 mg kg-1 | 0,05 mg kg-1 | 0,5 mg kg-1 | 1,5 mg kg-1 | | | | | |
| Azoxystrobin | 0,27 | 0,90 | 8,1 | 3,3 | 3,2 | 101,5±4,5 | 99,8±1,0 | 99,8±0,6 | 344 | 329 - 388 | 5,00 | 1,00 | 5,00 |
| Cyproconazole | 0,26 | 0,88 | 6,6 | 4,9 | 3,9 | 100,3±0,7 | 101,4±1,4 | 100,0±0,4 | 222 | 139 - 224 | 0,10 | - | - |
| Deltametrina | 0,25 | 0,84 | 4,4 | 1,5 | 1,0 | 107,8±1,5 | 100,2±1,3 | 100,8±0,2 | 181 | 174 - 253 | 1,00 | 1,00 | 2,00 |
| Epoxiconazole | 0,22 | 0,72 | 3,1 | 1,4 | 2,4 | 99,3±2,6 | 100,5±0,4 | 100,8±0,3 | 111 | 192 - 138 | 0,10 | 0,01 | - |
| Kresoxim-metil | 0,22 | 0,73 | 7,5 | 3,6 | 1,5 | 101,3±1,2 | 99,7±0,3 | 99,8±0,1 | 116 | 131 - 206 | 0,01 | 0,05 | - |
| Penconazole | 0,23 | 0,77 | 6,5 | 4,2 | 0,6 | 98,9±1,1 | 99,6±0,2 | 100,2±0,1 | 159 | 248 - 192 | 0,05 | - | - |

Estos valores de LOD y LOQ se encuentran muy por debajo de los LMR permitidos por la Unión Europea o SENASA, lo que indica la aplicabilidad del método analítico propuesto para este fin. Se debe resaltar que estos límites pueden no ser adecuados para aquellos lotes que se exporten a otros destinos.

Se puede concluir que la metodología adoptada es precisa y exacta, con adecuada resolución, y bajos LOD y LOQ comparados con los límites máximos de residuos permitidos en los distintos países importadores.

C) Análisis de agua de riego de cultivos arroceros: determinación de plaguicidas

Se analizaron 100 muestras de agua utilizada para el riego de arroz, en campos arroceros. Los muestreos se efectuaron según lo indicado en el ítem metodología.

El análisis de cada muestra se llevó a cabo por triplicado, y los resultados pueden observarse en la Tabla 5:

Tabla 5: Concentración máxima, mínima y promedio de los pesticidas en muestras de agua ($\mu\text{g}/\text{l}$). Número de muestras positivas.

| | Azoxystrobin | Cyproconazole | Deltametrina | Epoxiconazole | Kresoxim metil | Penconazole |
|---------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-------------|
| Máximo | 4,26 | 3,23 | 2,73 | 2,74 | 2,63 | 2,45 |
| Promedio | 1,60 | 1,36 | 1,31 | 1,32 | 1,16 | 1,27 |
| Mínimo | 0,53 | 0,51 | 0,51 | 0,54 | 0,77 | 0,52 |
| Muestras positivas (>LOQ) | 46 | 46 | 50 | 48 | 50 | 47 |
| Muestras positivas (>LOD) | 59 | 62 | 63 | 65 | 59 | 58 |

Los resultados por encima de los LOD varían entre 58 y 65 % para penconazole y epoxiconazole, respectivamente. No se detectaron pesticidas en 14 muestras.

Si bien, según los resultados el epoxiconazole es el plaguicida con mayor presencia, teniendo en cuenta aquellas muestras en las que los resultados pueden cuantificarse (> LOQ), se puede apreciar que entre el 46 y 50% de las muestras de agua presentaron todos los plaguicidas estudiados. La presencia de estos compuestos en el agua podría generar contaminación de los cursos de agua o el suelo, por lo que es necesario tomar medidas preventivas.

Teniendo en cuenta el límite máximo de residuo (LMR) permitido para pesticidas en agua, que es de $0,1 \mu\text{g}/\text{l}$ (EC, 2006), la concentración de cada compuesto en las muestras excedió dicho valor. Las concentraciones superaron el LMR entre 11,6 y 43,6 veces. Estos compuestos son los mismos que se encontraron en muestras de arroz colectadas en supermercados.

Pareja y col. (2011) estudiaron 59 muestras de agua de riego de campos arroceros en Uruguay y España, obteniendo 51,5 % de muestras positivas. Estos autores encontraron solamente presencia de ben-sulfuron metil, tricyclazole, carbendazim, imidacloprid, tebuconazole y quinclorac, en concentraciones que variaron entre $0,08$ y $7,20 \mu\text{g}/\text{l}$, aproximadamente 1 a 70 veces los LMR establecidos por la Unión

Europea (EC, 2006). Azoxystrobin, cyproconazole, epoxiconazole, kresoxim-metil y propiconazole no fueron encontrados; y deltametrina no se estudió. Los autores explicaron que los plaguicidas encontrados fueron aquellos ampliamente utilizados en los cultivos de arroz de Uruguay y España.

D) Análisis de muestras de arroz: determinación de plaguicidas

Para el estudio de ocurrencia, se efectuaron muestreos de arroz envasado, disponibles en góndolas de supermercados. Las mismas fueron procesadas y se determinaron los niveles residuales de los diferentes plaguicidas en cuestión (azoxystrobin, deltametrina, kresoxim-metil, cyproconazole, epoxiconazole y penconazole).

Se analizaron 100 muestras comerciales de arroz de diferentes marcas provenientes de supermercados. En todos los casos los muestreos se efectuaron según lo indicado en Metodología. El análisis de cada muestra se llevó a cabo por triplicado.

Las concentraciones máximas y el valor promedio, correspondiente a los pesticidas encontradas en las 100 muestras comerciales de arroz analizadas se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6: Concentración máxima y promedio de los pesticidas en muestras de arroz ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Número de muestras positivas.

| | Azoxystrobin | Cyproconazole | Deltametrina | Epoxiconazole | Kresoxim-metil | Penconazole |
|---|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|-------------|
| Máximo | 19,21 | 72,39 | 39,21 | 20,19 | 4,58 | 17,28 |
| Promedio | 4,71 | 40,35 | 11,51 | 15,42 | 1,69 | 10,25 |
| N° de muestras positivas por rango de concentraciones | | | | | | |
| <1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 |
| >1 y <5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 40 | 0 | 22 | 0 | 28 | 0 |
| >5 y <20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 27 | 5 | 50 | 38 | 0 | 29 |
| >20 y <100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ | 0 | 78 | 12 | 2 | 0 | 0 |
| Total | 68 | 83 | 84 | 40 | 36 | 29 |

El número de muestras positivas y la incidencia de ocurrencia se pueden observar en la misma tabla. El porcentaje de resultados positivos varía de 29 a 84% para penconazole y deltametrina, respectivamente.

Las concentraciones de residuos variaron de 0,97 a 19,21 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 16,33 a 72,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2,58 a 39,21 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 5,21 a 20,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0,77 a 4,58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 5,45 a 17,28 $\mu\text{g}/\text{kg}$, para azoxystrobin, cyproconazole, deltametrina, epoxiconazole, kresoxim-metil y penconazole, respectivamente. Estos resultados no exceden el LMR establecido por la Comisión Europea (EC, 2005) y SENASA (2010). La única excepción fue el epoxiconazole con respecto a los límites de SENASA, con 36 muestras que presentaron una concentración de este pesticida por encima del LMR.

Chen y col. (2009) estudiaron siete pesticidas organofosforados en 2250 muestras de arroz, encontrando que solo el 9,33 % de las muestras evaluadas contenían al menos uno de ellos; 0,56 % contenían dos pesticidas al mismo tiempo; 0,20 % presentaron tres pesticidas; y sólo el 0,04 % de las muestras presentaron 4 pesticidas, simultáneamente. Las concentraciones encontradas oscilaron entre 0,011 – 1,756

mg/kg. Otake y col. (2009) evaluaron 10 pesticidas en 54 muestras comerciales de arroz, detectando solo un pesticida en una muestra. Nguyen y col. (2008) analizaron 1040 muestras de arroz cáscara y el 5,86 % de ellas fueron positivas para al menos un pesticida. Las concentraciones oscilaron entre 0,04 y 7,40 mg/kg. Sólo el 1,15 % tenía más de 2 pesticidas simultáneamente. Estos autores hallaron una cantidad menor de resultados positivos que los determinados en el presente trabajo. Lo mismo fue observado por Nguyen y col. (2007) quienes evaluaron 93 variedades de arroz doméstico comercialmente disponible en Corea, encontrando solo fenobucarb en 1 muestra de arroz.

En la presente investigación, se encontró co-ocurrencia de al menos 2 plaguicidas en 94 muestras. Todos los compuestos analizados fueron hallados en 6 de las muestras, simultáneamente.

E) Efecto del procesamiento de arroz en el contenido de plaguicidas

Para el estudio de la incidencia del proceso de molienda de arroz en el contenido los plaguicidas en estudio, se muestrearon 100 lotes, obteniendo arroz cáscara, integral y pulido en un molino arrocero de la región. Las mismas fueron procesadas y se determinaron los niveles residuales de los diferentes analitos. En todos los casos los muestreos se efectuaron según lo indicado el Ítem Metodología.

El análisis de cada muestra se llevó a cabo por triplicado. Los resultados se detallan en la Tabla 7:

Tabla 7: Porcentaje de reducción de la concentración de pesticidas por etapa. Reducción Total y Persistencia (%).

| | Reducción por etapa (%) | | Reducción Total (%) | Persistencia (%) |
|-----------------------|-------------------------|----------------|---------------------|------------------|
| | AC - AI | AI - AP | | |
| Azoxystrobin | 22,45 - 94,07% | 20,91 - 88,28% | 87,69 y 97,33% | 2,67 - 12,31% |
| Cyproconazole | 34,11 - 66,63% | 30,19 - 65,06% | 86,59 y 64,92% | 13,41 - 35,08% |
| Deltametrina | 71,73 - 93,63% | 41,20 - 84,16% | 83,60 y 98,74% | 1,26 - 16,40% |
| Epoxiconazole | 44,07 - 66,71% | 37,90 - 78,40% | 66,05 y 91,21% | 8,79 - 33,95% |
| Kresoxim-metil | 77,67 - 91,16% | 37,25 - 81,48% | 90,52 y 96,72% | 3,28 - 9,48% |
| Penconazole | 38,38 - 67,52% | 5,26 - 78,17% | 64,31 y 90,81% | 9,19 - 35,69% |

AC = Arroz Cáscara

AI = Arroz Integral

AP = Arroz Pulido

Respecto a los contenidos máximos de residuos en arroz pulido, los niveles fueron de 80,06 µg/kg, 69,58 µg/kg, 12,73 µg/kg, 2,83 µg/kg, 1,12 µg/kg y 5,95 µg/kg de cyproconazole, epoxiconazole, azoxystrobin, deltametrina, kresoxim metil y penconazole, respectivamente, no superando los Límites Máximos permitidos por la Unión Europea y el SENASA.

Es relevante considerar la posibilidad de que en trabajos posteriores se evalúe la cantidad de pesticidas remanentes en la cáscara y el salvado, a fin de determinar las variables del proceso incidentes en la distribución y/o persistencia de los residuos.

F) Estudio del método de cocción de arroz sobre el contenido de plaguicidas

Luego de evaluar el contenido de los plaguicidas en muestras de arroz provenientes del mercado y de molinos arroceros, se estudiaron 3 métodos de cocción comúnmente utilizados por los consumidores de este cereal.

El objetivo de estos ensayos fue determinar que método de cocción sería el más adecuado para lograr obtener el menor contenido de plaguicidas en el arroz cocido. Como se mencionó en el ítem Metodología, los métodos empleados fueron: tradicional, con exceso de agua, y con remojo previo.

En la Tabla 8 pueden observarse los porcentajes de reducción del contenido de pesticidas en arroz cocido, dependiendo del método de cocción utilizado. En las Figuras 8 - 10 se detallan además, los porcentajes de pesticidas remanentes en el arroz cocido y en el agua de cocción y remojo:

Tabla 8: Reducción del contenido inicial de plaguicidas en arroz cocido según el método de cocción empleado.

| | Método Tradicional | Método por Exceso de agua | Método con remojo |
|----------------|--------------------|---------------------------|-------------------|
| Azoxystrobin | 58 % | 70 % | 88 % |
| Deltametrina | 46 % | 33 % | 86 % |
| Kresoxim-metil | 22 % | 49 % | 80 % |
| Cyproconazole | 23 % | 41 % | 45 % |
| Epoxiconazole | 41 % | 49 % | 74 % |
| Penconazole | 21 % | 39 % | 70 % |

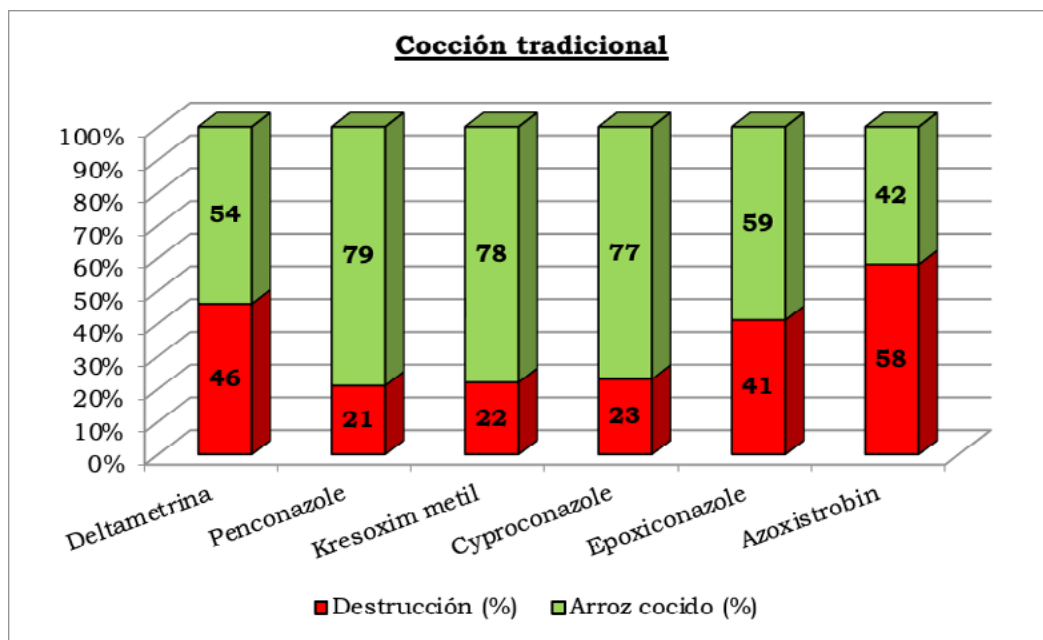


Figura 8: Distribución de pesticidas durante la cocción tradicional.

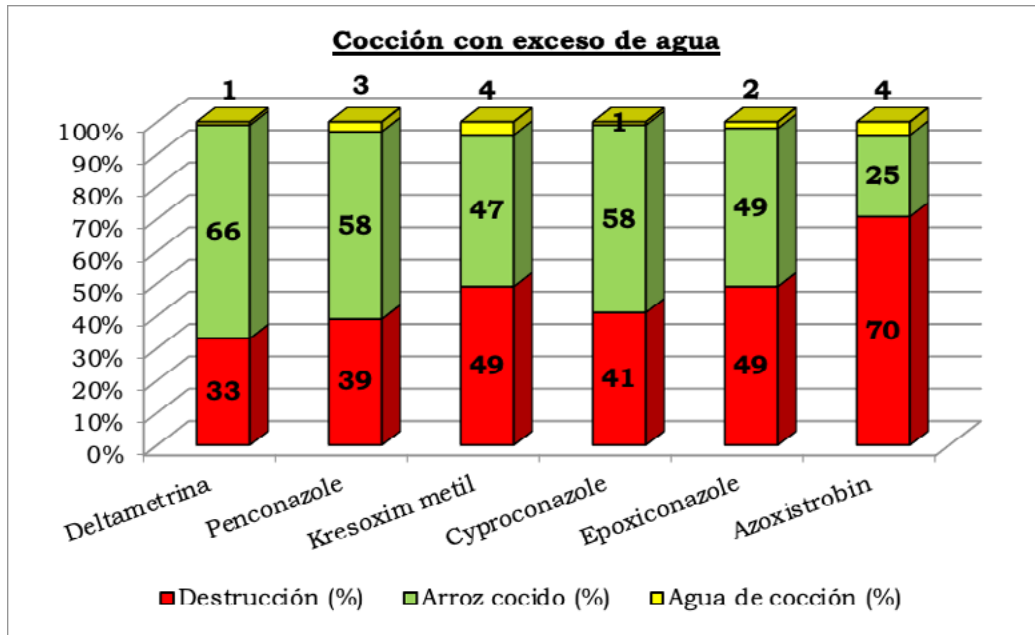


Figura 9: Distribución de pesticidas durante la cocción con exceso de agua.

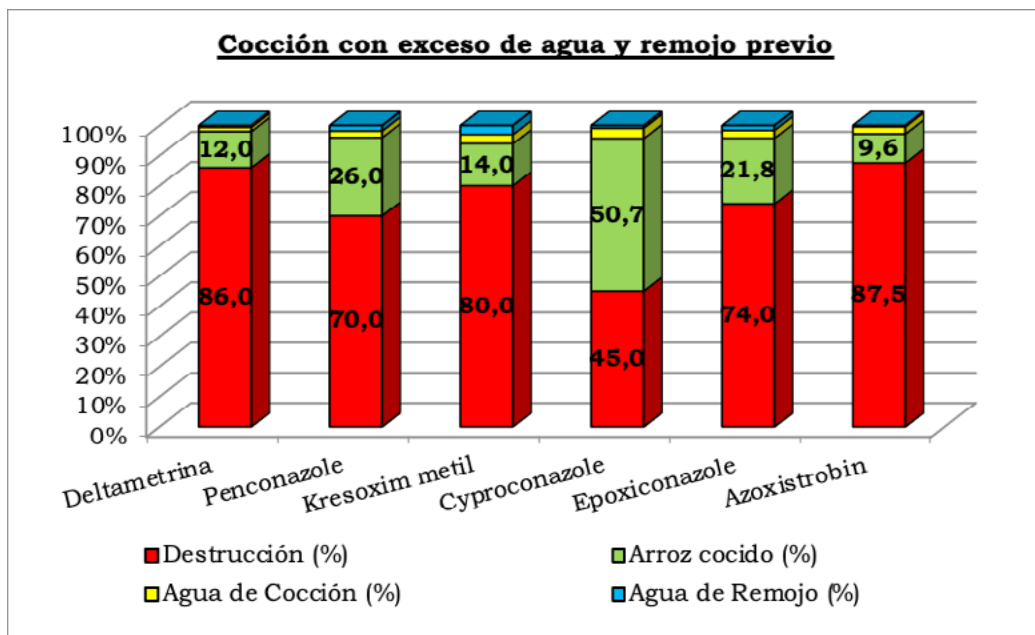


Figura 10: Distribución de pesticidas durante la cocción con remojo previo.

Puede concluirse que el método de cocción influyó de igual manera para los seis plaguicidas estudiados. El mayor porcentaje de reducción se presentó con el método de cocción por remojo, alcanzando reducciones superiores al 70 % para todos los compuestos a excepción del cyproconazole que tuvo una reducción del 45 %. Se puede observar también que el agua de remojo ayuda a remover una pequeña cantidad de pesticidas (0,4 a 3,0 %).

Conclusiones

Se concluye que las metodologías analíticas validadas son selectivas y sensibles, con adecuada precisión y exactitud, y con límites de detección y cuantificación suficientemente bajos para la determinación de niveles traza de los 6 plaguicidas analizados en agua y arroz.

Se estudiaron 100 muestras de agua de riego de arroz, recolectadas en arrozales de la provincia de Entre Ríos. La frecuencia de ocurrencia fue del 86%, y se encontró más de un pesticida en cada muestra. Todas las concentraciones estaban por encima del LMR establecido para agua, y son motivo de preocupación porque no es adecuado para el consumo humano. La concentración de pesticidas en el agua fue mayor a 0,1 µg/l, lo que muestra la sensibilidad del método propuesto. Se deben estudiar otros pesticidas en el agua debido a la agricultura intensiva cerca de los campos de arroz que podrían contaminarlo y afectar la salud humana.

Posteriormente, se analizaron 100 muestras de arroz comercializadas en diferentes supermercados, aplicando la metodología desarrollada y validada. La frecuencia de ocurrencia de pesticidas fue mayor que las muestras reportadas previamente; y se observó la co-ocurrencia de algunos de ellos en la misma muestra. Las concentraciones de pesticidas en el arroz no excedieron el LMR establecido en Europa y Argentina, con la excepción de 36 muestras que presentaron residuos de epoxiconazole, mayores que el LMR establecido en Argentina.

Los compuestos hallados en el agua de riego fueron los mismos que se detectaron en las muestras de arroz. Esto podría suceder debido a malas prácticas agrícolas o la falta de control del tiempo transcurrido entre la aplicación de pesticidas y la cosecha, por lo que deben revisarse para evitar el riesgo humano por el consumo de agua o arroz, y la contaminación ambiental.

El proceso de molienda de arroz disminuye el contenido inicial de los plaguicidas contenidos en el arroz cáscara.

Para determinar cuánto de estos residuos son consumidos por la población, se realizó el estudio del efecto del método de cocción en el contenido de plaguicidas, evaluando la cantidad de pesticidas que se transfieren al arroz cocido. Se pudo observar que la reducción del método con remojo previo supera el 70 % para todos los compuestos a excepción del cyproconazole donde la reducción es del 45 %.

Bibliografía

- AFFUM, A. O., Acquah, S. O., Osae, S. D. y Kwaansa-Ansah, E. E. (2018). Distribution and risk assessment of banned and other current-use pesticides in surface and groundwaters consumed in an agricultural catchment dominated by cocoa crops in the Ankobra Basin, Ghana. *Science of the Total Environment*, 633, 630-640. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.129
- ANASTASSIADES, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D. y 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. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412-431.
- ANYUSHEVA, M., Lamers, M., La, N., Nguyen, V. V. y Streck, T. (2012). Fate of pesticides in combined paddy rice-fish farming systems in northern Vietnam. *Journal of Environmental Quality*, 41, 515-525. doi:10.2134/jeq2011.0066
- APHA - American Public Health Association. (1998). En L. S. Clesceri, A. E. Greenberg y A. D. Eaton (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Water and Waste-water*, 20th ed. Washington, DC, American Public Health Association.
- BUGGENHOUT, J., Brijis, K., Celus, I. y Delcour, J. A. (2013). The breakage susceptibility of raw and parboiled rice: A review. *Journal of Food Engineering*, 117, 304-315.
- CARAZO-ROJAS, E., Pérez-Rojas, G., Pérez-Villanueva, M., Chinchilla-Soto, C., Chin-Pampillo, J., S., Aguilar-Mora, P., Alpizar-Marín, M., Masis-Mora, M., Rodríguez-Rodríguez, C., E. y Vryzas, Z. (2018). Pesticidi-

- de monitoring and ecotoxicological risk assessment in surface water bodies and sediments of a tropical agro-ecosystem. *Environmental Pollution*, 241, 800-809. doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.020.
- CASAFE. (2017). *Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina*. Ed. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Decimoctava edición.
- CHAI, M. K. y Tan, G. H. (2009). Validation of a headspace solid-phase microextraction procedure with gas chromatography-electron capture detection of pesticide residues in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 117, 561-567.
- CHEN, C., Li, Y., Chen, M., Chen, Z. y Qian, Y. (2009). Organophosphorus pesticide residues in milled rice (*Oryza sativa*) on the Chinese market and dietary risk assessment. *Food Additives and Contaminants Part A*, 26(3), 340-347.
- CHUNG, S. W. C. y Chan, B. T. P. (2010). Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry in analysis of ultra-trace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate residues in a total diet study involving diversified food types. *Journal of Chromatography A*, 1217, 4815-4824.
- CLARÍN. (2016). En el Litoral, la siembra de arroz ingresa en la recta final. https://www.clarin.com/rural/litoral-siembra-arroz-ingresa-final_0_SJR7vk41x.html/
- CODEX Alimentarius (1995). *Codex Standard for rice*. Codex Stan 198-1995. Código Alimentario Argentino. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_IX.pdf
- CODEX ALIMENTARIUS. (2013). *Pesticide residues in food and feed*. Codex pesticides residues in food online database. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities-detail/en/?c_id=158
- DÍEZ, C., Traag, W. A., Zommer, P., Marinero, P. y Atienza, J. (2006). Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples. *Journal of Chromatography A*, 1131, 11–23.
- EC (2002). Commission Directive 2002/63/EC of 11 July 2002 establishing Community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin. *Official Journal of the European Union*, L187, 32.
- EC (2005). Regulation (EC) N° 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. *Official Journal of the European Union*, L70, 1-16.
- EC. (2006). Directive 2006/118/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on the protection of groundwater against pollution and deterioration. *Official Journal of the European Union*, L372/19.
- EC. (2017). Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed*, SANTE/11813/2017.
- Elfman, L., Tooke, N. E. y Patring, J. D. M. (2011). Detection of pesticides used in rice cultivation in streams on the island of Leyte in the Philippines. *Agricultural Water Management*, 101(1), 81-87. doi.org/10.1016/j.agwat.2011.09.005.
- FAO (2004). *El arroz y la nutrición humana*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. www.fao.org/rice2004/es/f-sheet/hoja3.pdf
- FEDEARROZ (2012). <http://www.fedearroz.com.co/new/bondades.php>
- FYTIANOS, K., Raikos, N., Theodoridis, G., Velinova, Z. y Tsoukali, H. (2006). Solid phase microextraction applied to the analysis of organophosphorus insecticides in fruits. *Chemosphere*, 65, 2090-2095.
- GONZÁLEZ-CURBELO, M. A., Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J. y Rodríguez-Delgado, M. A. (2015). Evolution and applications of the QuEChERS method. *Trends on Analytical Chemistry*, 71, 169-185.

- GRANDE-MARTÍNEZ, A., Arrebola, F. J., Díaz Moreno, L., Martínez Vidal, J. L. y Garrido-Frenich, A. (2015). Development and Validation of a Multiresidue Method for the Determination of Pesticides in Dry Samples (Rice and Wheat Flour) Using Liquid Chromatography/Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. *Journal of AOAC International*, 98(5), 1186-1198.
- GRANDE-MARTÍNEZ, A., Arrebola-Liébanas, F. J., Martínez-Vidal, J. L., Hernández-Torres, M. E. y Garrido-Frenich, A. (2016). Optimization and Validation of a Multiresidue Pesticide Method in Rice and Wheat Flour by Modified QuEChERS and GC-MS/MS. *Food Analytical Methodology*, 9, 548-563.
- HOU, X., Han, M., Dai, X., Yang, X. y Yi, S. (2013). A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 138, 1198-1205.
- IPPOLITO, A. y Fait, G. (2019). Pesticides in surface waters: from edge-of-field to global modelling. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 36, 78-84. doi.org/10.1016/j.cosust.2018.10.023
- KOESUKWIWAT, U., Sanguankaew, K. y Leepipatpiboon, N. (2008). Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 626(1),10-20.
- KOLBERG, D. I., Prestes, O. D., Adaime, M. B. y Zanella, R. (2011). Development of a fast multiresidue method for the determination of pesticides in dry samples (wheat grains, flour and bran) using QuEChERS based method and GC-MS. *Food Chemistry*, 125, 1436-1442.
- MASTOVSKA, K., Dorweiler, K. J., Lehotay, S. J., Wegscheid, J. S. y Szpylka, K. A. (2010). Pesticide Multiresidue Analysis in Cereal Grains Using Modified QuEChERS Method Combined with Automated Direct Sample Introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS Techniques. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58(10), 5959-5972.
- METCALFE, C. D., Helm, P., Paterson, G., Kaltenecker, G., Murray, C., Nowierski, M. y Sultana, T. (2019). Pesticides related to land use in watersheds of the Great Lakes basin. *Science of the Total Environment*, 648, 681-692. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.169.
- MORENO P. (2016). *Cadena del arroz. Informe de Coyuntura. Ministerio de Agroindustria*. https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_alimentos_y_bebidas/archivos/160600_Informe_ARROZ.pdf
- MORENO P. (2017). *Consejo Federal Agropecuario, reunión comisión regional NEA 2017. Cadena: Arroz. Ministerio de Agroindustria*. https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/cfa/comisiones2017/regionales/nea/2da//000000_Cadena%20de%20Valor%20del%20Arroz.pdf
- MUNITZ, M. S., Medina, M. B. y Montti, M. I. T. (2017). Development and validation of an SPME-GC method for a degradation kinetics study of propiconazole I, propiconazole II and tebuconazole in blueberries in Concordia, the main production area of Argentina. *Food Additives and Contaminants Part A*, 34(5), 793-799. doi.org/10.1080/19440049.2017.1301682
- NGUYEN, T. D., Lee, B. S., Lee, B. R., Lee, D. M. y Lee, G-H. (2007). A multiresidue method for the determination of 109 pesticides in rice using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) sample preparation method and gas chromatography/mass spectrometry with temperature control and vacuum concentration. *Rapid Communication on Mass Spectrometry*, 21, 3115–3122.
- NGUYEN, T. D., Han, E. M., Seo, M. S., Kim, S. R., Yun, M. Y., Lee, D. M. y Lee, G-H. (2008). A multi-residue method for the determination of 203 pesticides in rice paddies using gas chromatography/mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 619(1), 67-74.
- OTAKE, T., Aoyagi, Y. y Yarita, T. (2009). Multiresidue analysis and monitoring of pesticides in rice by pressurized liquid extraction. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 44(5), 423-427.
- PAREJA, L., Martínez-Bueno, M. J., Cesio, V., Heinzen, H. y Fernández-Alba, A. R. (2011). Trace analysis of pesticides in paddy field water by direct injection using liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218, 4790-4798. doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.044.

- PIMENEL, D. (1995). Amounts of Pesticides Reaching Target Pests: Environmental Impacts and Ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 8(1), 17-29. doi.org/10.1007/BF02286399
- SABIK, H., Jeannot, R. y Rondeau, B. (2000). Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A*, 885, 1-2, 217-236. doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01084-5.
- SENASA (2010). Resolución-934-2010-SENASA - Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-934-2010-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria/>
- TSOUKALI, H., Theodoridis, G., Raikos, N. y Grigoratou, I. (2005). Solid phase microextraction gas chromatographic analysis of organophosphorus pesticides in biological samples. *Journal of Chromatography B*, 822, 194-200.
- VAEZI, A., Fakhim, H., Javidnia, J., Khodavaisy, S., Abtahian, Z., Vojoodi, M., Nourbakhsh, F. y Badali, H. (2018). Pesticide behavior in paddy fields and development of azole-resistant *Aspergillus fumigatus*: Should we be concerned? *Journal de Mycologie Médicale*, 28(1), 59-64. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.12.007>
- VAN TOAN, P., Sebesvari, Z., Bläsing, M., Rosendahl, I. y Renaud, F. G. (2013). Pesticide management and their residues in sediments and surface and drinking water in the Mekong Delta, Vietnam. *Science of the Total Environment*, 452-453, 28-39. dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.026.
- VIÑAS, P., Campillo, N., Martínez-Castillo, N. y Hernández-Córdoba, M. (2009). Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 140-146.
- WANG, H., Qu, B., Liu, H., Ding, J. y Ren, N. (2018). Analysis of organochlorine pesticides in surface water of the Songhua River using magnetoliposomes as adsorbents coupled with GC-MS/MS detection. *Science of the Total Environment*, 618, 70-79. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.046
- WATANABE, H., Nguyen, M. H. T., Souphasay, K., Vu, S. H., Phong, T. K., Tournebize, J. y Ishihara, S. (2007). Effect of water management practice on pesticide behavior in paddy water. *Agricultural Water Management*, 88(1-3), 132-140. doi.org/10.1016/j.agwat.2006.10.009.
- ZAIDON, S. Z., Ho, Y. B., Hamsan, H., Hashim, Z., Saari, N. y Praveena, S. M. (2019). Improved QuEChERS and solid phase extraction for multi-residue analysis of pesticides in paddy soil and water using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 145, 614-621. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.025>

Publicaciones con referato

- María Belén Medina, Martín Sebastián Munitz & Silvia Liliana Resnik; (2019) Pesticides in randomly collected rice commercialised in Entre Ríos, Argentina, *Food Additives & Contaminants: Part B*, 12:4, 252-258, <https://doi.org/10.1080/19393210.2019.1617791>

PRESENTACIONES A CONGRESOS NACIONALES

- María B. Medina, Martín S. Munitz; Silvia L. Resnik; María I. Montti; Celia Williman y Martín Novoa; DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE AZOXYSTROBIN Y TEBUCONAZOLE EN ARROZ PULIDO E INTEGRAL. En III CONGRESO ARGENTINO DE ESPECTROMETRÍA DE MASA, Sociedad Argentina de Espectrometría de Masa. Rosario, Argentina. 2016.
- Medina M. B.; Munitz M. S.; Resnik, S. L.; Subovich G.; Wasserman A. P.; Novoa M. Influencia de tres métodos de cocción de arroz sobre el contenido de kresoxim - metil y cyproconazole. Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha, octubre 2017, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

- Medina M. B.; Munitz M. S.; Resnik, S. L.; Visciglio S. B.; Barreiro M. C.; Alberini I. Determinación de epoxiconazole y deltametrina en arroz cáscara, pulido e integral Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha, octubre 2017, Concordia, Entre Ríos, Argentina.
- Novoa, M.; Montti, M.; Williman; Munitz, M.; Medina, M.; Alberini I.; Visciglio, S.; Raviol, F.; Subovich, G.; Parma, F. Determinación de Plaguicidas y Diatomeas en Sedimentos del Embalse de Salto Grande. III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. Santa Fe, Argentina. 31 de Julio al 3 de Agosto de 2017.
- Montti, M.; Williman; Munitz, M.; Medina, M.; Alberini I.; Novoa, M.; Visciglio, S.; Raviol, F.; Subovich, G.; Parma, Remoción de Plaguicidas en Agua Mediante Procesos de Coagulación – Floculación. III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. Santa Fe, Argentina. 31 de Julio al 3 de Agosto de 2017.
- M. Novoa, F. Raviol, I. Alberini, C. Williman, M. Munitz, B. Medina, G. Subovich & M. I. Montti. Caracterización de la calidad de agua del Río Uruguay: Microalgas (diatomeas como bioindicadores), parámetros fisicoquímicos y plaguicidas. JORNADAS SOBRE BIODIVERSIDAD EN EL CORREDOR DEL RÍO URUGUAY, 10 y 11 de octubre de 2018 Paysandú, Uruguay.
- Novoa M.1, Raviol F.1, Williman C.1, Alberini I.1, Munitz M.1, Medina M.1, Subovich G.1, Parma F.; Montti, M. CO42 Calidad de agua del río Uruguay en la región de Salto Grande. VII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental, octubre 2018, San Luis, Argentina
- Medina, María Belén ha participado en el XXXII CONGRESO ARGENTINO DE QUÍMICA celebrado en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, del 12 al 15 de marzo de 2019, en calidad de: Presentador de Trabajo [01-013] VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE NIVELES RESIDUALES DE PESTICIDAS EN AGUA DE RIEGO DE CULTIVOS ARROCEROS
- Medina, María Belén ha participado como asistente en el XXI Congreso latinoamericano y del caribe de ciencia y tecnología de alimentos. XVII Congreso argentino de ciencia y tecnología de alimentos, 2019. UCA, Buenos Aires, Argentina.

Premios

- MARÍA BELÉN MEDINA ha ganado el tercer premio en la categoría POSTER, por su trabajo “Determinación de epoxiconazole y deltametrina en arroz cáscara, pulido e integral”. Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. IX Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Poscosecha, octubre 2017, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

Cursos

- Parma, F. Formación de auditores internos-norma ISO 19011:2011 enfocada en la norma IRAM 301:2005 (ISO/IEC 17025:25). OAA
- Munitz, M. y Medina, M. “Reología de materiales: parámetros de caracterización” (2017) Concordia, E.R, Argentina (UNER)
- Munitz, M. y Medina, M. “Estadística aplicada a laboratorios ambientales” (2018). Comisión técnica mixta de Salto Grande

Acciones de extensión

- Participación en la “Semana nacional de la Ciencia y la tecnología, edición 2019” MINCYT
- Participación en las “Jornadas abiertas a las Ciencias” 2019 FCAL-UNER
- Convocatoria de extensión 2019: Alimentando la fotografía, Dir. Ing. Fabricio RAVIOL
- Taller de tango salón, milonga y vals “Santa Milonguita”- cara a cara/ojos cerrados/corazón a corazón, Dir. Dr. Martin NOVOA

PID 8089

Denominación del Proyecto

Determinación de plaguicidas en agua de riego en cultivos arroceros, granos de arroz y subproductos

Director

Munitz, Martín Sebastián

Unidad de Ejecución

Universidad Nacional de Entre Ríos

Dependencia

Facultad de Ciencias de la Alimentación

Contacto

munitzm@fcal.uner.edu.ar

Cátedra, área o disciplina científica:

Área Química, Laboratorio de Investigación de Residuos en Alimentos

Integrantes del proyecto

Medina, María Belén; Williman, Celia; Novoa, Martín David; Subovich, Gladys Ester; Raviol, Fabricio Hernán; Parma, Fernando Andrés
Becarias: Wasserman, Alejandra Pamela

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

08/11/2016 y 07/11/2019

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. 333/21 (15/12/2021)