UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

APLICACIÓN DEL MÉTODO LSE-SPE-HPLC PARA LA DETECCIÓN DE METILTIOTRIAZINAS EN FRUTOS Y VEGETALES FRESCOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

VICTORIA JESÚS ESPINOSA

DIRECTORA:

DRA. EDITH MIRANDA CRUZ

ASESORAS:

DRA. LILÍ RODRÍGUEZ BLANCO
DRA. ANGÉLICA ALEJANDRA OCHOA FLORES

"Estudio en la duda. Acción en la fe"

Villahermosa, Tabasco. Enero de 2019

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Asunto: Autorización de Impresión de Trabajo Recepcional.
Fecha: 16 de enero de 2019.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E.

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo a usted, con base en el artículo 86 del Reglamento de Titulación vigente en esta Universidad, que la Dirección a mi cargo **autoriza** a la **C. Victoria Jesús Espinosa**, matrícula **102C14002**, egresado(a) del Programa Educativo de **Ingeniero en Alimentos** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su Trabajo Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis,** Titulado: **"Aplicación del método LSE-SPE-HPLC para la detección de Metiltiotriazinas en frutos y vegetales frescos".**

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Ph.D. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA
DIRECTOR

C.c.p.- Expediente Alumno.
Archivo.
Ph.D.RACG/MC.AMA

Km 25, Carret. Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 358-15-85 y 142-9150
Correos electrónicos: dirección.daca@ujat.mx, daca.direccion@gmail.com

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

CARTA DE AUTORIZACIÓN

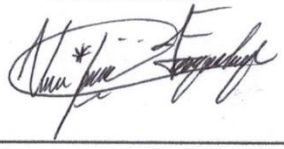
La que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la Modalidad de tesis, denominado "**Aplicación del método LSE-SPE-HPLC para la detección de metiltiotriazinas en frutos y vegetales frescos**", de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco del Trabajo Recepcional antes mencionado, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro. Autorización que se hace de manera enunciativa más no limitada para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la Tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, en el mes de enero de dos mil diecinueve.

AUTORIZÓ



VICTORIA JESÚS ESPINOSA
TESISTA

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

DEDICATORIA

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo, siempre guiándome a salir adelante. A mis tías Lidia, Rosita y Juanita por ser parte importante en mi formación moral y siempre mostrarme su amor y cariño para conmigo y mi hermano. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Dedico este trabajo especialmente a mi abuelita Victoria García García (q.e.p.d.), porque sin ella no sería la persona de principios y valores que soy hoy en día, por ser como mi primer madre que nunca me abandono, siempre estando conmigo en todo momento demostrando su gran amor incondicional.

Victoria Jesús Espinosa.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

El presente trabajo de tesis ha sido realizado con los recursos otorgados al Proyecto *"Evaluación de residuos de plaguicidas triazinicos en vegetales frescos expendidos en las principales cadenas de supermercados en Tabasco",* con clave UJAT-2011-C07-12, bajo la responsabilidad de la Dra. Edith Miranda Cruz, y financiado por la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, a través del Programa de Fomento a la Investigación y Consolidación de Cuerpos Académicos (PFICA).

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi hermano Daniel y César por ser parte de mi vida y representar la unidad familiar, por apoyarme y hacerme reflexionar en esos momentos de dificultad, por alegrarme la vida y mantenernos juntos a pesar de las circunstancias.

A mi familia por estar conmigo en las buenas y en las malas, nunca dejarme sola y alentarme a seguir adelante, darme fuerzas, ánimos, confianza y coraje para no rendirme en el transcurso de la carrera. A Ema por ser un muro de apoyo incondicional para mí y por ser un ejemplo de estudio y superación personal.

A mis dos grandes amigas Guadalupe y Janet por esa hermosa amistad que comenzó en las aulas de clases y que aún perdura a pesar de los caminos tomados en nuestras vidas.

A los profesores. Dra. Edith por haberme dado la confianza el apoyo esfuerzo en la realización de este trabajo de tesis, por ser paciente y comprensiva en todo en transcurso del trabajo realizado. A los integrantes del comité Maestras: Dora, Judith, Lourdes y Mayanín, no sólo por todos los consejos aportados en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria y haberme brindado los cimientos para desarrollarme profesionalmente y seguir cultivando mis valores. Al Maestro Álvaro y colaboradores por su gran ayuda y paciencia en todos los trámites correspondientes a la titulación.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en especial la División de Ciencias Agropecuarias, por haberme brindado tantas oportunidades y enriquecerme en conocimiento.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

RESUMEN

El aumento de la población en los últimos años ha incrementado considerablemente, de esta manera la búsqueda de alternativas en la producción agrícola para aumentar el abastecimiento de alimentos de origen vegetal, ha recurrido al uso intensivo de plaguicidas para el control de malezas y aumento en la producción de diversos cultivos vegetales. Sin embargo, el uso inadecuado de los plaguicidas, específicamente los herbicidas triazínicos que son el tema del estudio, pueden provocar daños al ambiente y en el ser humano debido a la presencia de residuos químicos en los alimentos frescos.

Las metiltiotriazinas estudiadas Ametrina (Am), Prometrina (Pm) y Terbutrina (Tb) en la mayoría de los países desarrollados está prohibido o restringido su uso, y por ello en la actualidad existen pocos registros de estudio de la presencia de sus residuos en los alimentos, aun cuando estos herbicidas ocupan el segundo lugar en su uso para el control de malezas. Sin embargo, en México aún está autorizado su uso en diversos cultivos, por ello en el presente estudio se evaluó la reproducibilidad y precisión del Método LSE-SPE-HPLC propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009) para determinar el contenido de residuos de algunas metiltiotriazinas en muestras de frutos y vegetales frescos (caña de azúcar, maíz, naranja, papa, piña, apio, plátano, tomate, cebolla y pimiento) procedentes de tres diferentes supermercados, con el fin de verificar el cumplimiento de los LMR permitidos por norma.

La metodología propuesta consistió en una etapa de extracción LSE seguida de una limpieza y preconcentración mediante SPE. Como solución extractante se utilizó diclorometano/acetona/n-hexano (1:1:1 v/v). Para la cuantificación y detección de las metiltiotriazinas se empleó la técnica de HPLC. El método de muestreo que se utilizó para este tipo de alimentos se tomó del Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para Determinación de Residuos de Plaguicidas (SENASICA, 2012).

En la determinación de la reproductibilidad y precisión del método de extracción, las muestras se doparon con soluciones estándar de las metiltiotriazinas estudiadas a una concentración de 0.01 ppm. Los cromatogramas obtenidos mostraron la ausencia de sustancias interferentes, por lo cual no fue necesaria la modificación de la metodología de LSE-SPE. Los porcentajes de recuperación de los analitos estudiados fueron superiores al

95% con un coeficiente de variación entre el 15-20% para la mayoría de las muestras; los valores del %RSD fueron inferiores al de rechazo (%RDS=2.50). Por lo tanto, este método fue empleado para el análisis de residuos de metiltiotriazinas en las muestras de estudio.

Los niveles de concentración de Am, Pm y Tb encontrados en algunas de las muestras de frutas y vegetales frescos estudiados son inferiores a los valores de LMR establecidos por diversas organizaciones gubernamentales, nacionales e internacionales, quienes rigen el uso adecuado de los plaguicidas en el sector agroalimentario (Normas oficiales mexicanas, SENASA, SENASICA, COFEPRIS, CICOPLAFEST, EPA, Codex Alimentarius). Aunque también se encontraron residuos o trazas en algunas muestras donde su uso no está autorizado.

En México se han realizado diversos estudios de los valores de LMR de los plaguicidas endosulfán sulfato, clorpirifos, DDT, organoclorados, ureas, etc. que de las triazinas; aun cuando la alta ingesta de los residuos triazínicos causan daños en la salud humana, ya que están considerados como disruptores endocrinos. Es importante señalar que los valores de LMR permitidos en México para las triazinas estudiadas son más altos que los establecidos en otros países, como es el caso de la Legislación española y europea, así como de la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos). En el presente estudio, los valores de LMR para las metiltiotriazinas estudiadas se encuentran en el margen de 0.05 a 0.25 ppm en la mayoría de las frutas y vegetales frescos estudiados.

Cabe destacar que, el método propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009) fue apto para determinar residuos de metiltiotriazinas en un intervalo de concentración superiores a 0.005 ppm para las frutas y vegetales frescos estudiados (caña de azúcar, maíz, naranja, papa, piña, apio, plátano, tomate, cebolla y pimiento). Los datos obtenidos demuestran que se debe tener especial importancia de la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos con el fin de ofrecer alimentos seguros a la población.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN……vii

ÍNDICE DE CUADROS……. xi

ÍNDICE DE FIGURAS……..xii

ABREVIATURAS……...xiv

I. INTRODUCCIÓN 1

II. MARCO TEÓRICO 3

2.1. Importancia de las frutas y hortalizas en la alimentación 3

2.2. Alimentos sanos e inocuos 4

2.3. Origen y uso de los plaguicidas 6

2.4. Clasificación de los plaguicidas 7

2.4.1. Los plaguicidas denominados herbicidas 8

2.4.2. Herbicidas triazínicos 10

2.5. Efectos de los herbicidas en la salud humana 14

2.6. Contaminación de alimentos por plaguicidas 16

2.7. Límite Máximo de Residuos para Plaguicidas (LMR) 19

2.8. Determinación analítica de herbicidas en alimentos 20

III. HIPÓTESIS 23

IV. OBJETIVOS 23

4.1. Objetivo general 23

4.2. Objetivos específicos 23

V. MATERIALES Y MÉTODOS 24

5.1. Selección de supermercados 24

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

5.2. Selección de frutas y hortalizas 24
5.3. Metiltiotriazinas (herbicidas) estudiadas 24
5.4. Toma de Muestras 24
5.4.1. Etiquetado y almacenamiento de muestras: 25
5.5. Preparación de la muestra 25
5.6. Extracción de metiltiotriazinas en frutos y vegetales frescos y determinación analítica. 26
5.7. Reactivos y materiales 27
5.8. Determinación de metiltiotriazinas y LMR 28
VI. RESULTADOS 29
6.1. Selección de las muestras de frutas y vegetales frescos estudiados. 29
6.2. Precisión y Reproducibilidad del método de extracción LSE-SPE-HPLC 31
6.3. Detección y/o cuantificación de residuos de triazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados. 33
6.4. Frecuencia relativa de la presencia de residuos de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados. 36
6.5. Comparación entre los valores de metiltiotriazinas encontrados y los LMR establecidos a nivel nacional y de otros países. 39
VII. CONCLUSIONES 43
VIII. ANEXOS 44
IX. LITERATURA CITADA 45

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ÍNDICE DE CUADROS

Título	Página
Cuadro 1. Clasificación de los plaguicidas por los organismos que controlan.	8
Cuadro 2. Grupos de herbicidas según su modo de acción.	9
Cuadro 3. Herbicidas del grupo de las triazinas más usados y principales aplicaciones.	12
Cuadro 4. Frutas y Hortalizas seleccionadas para la determinación de herbicidas triazínicos.	29
Cuadro 5. Mes correspondiente al primer y segundo muestreo de las frutas y vegetales seleccionados para la cuantificación de metiltiotriazinas.	30
Cuadro 6. Identificación de muestras para la determinación de residuos de metiltiotriazinas por HPLC en tres supermercados.	30
Cuadro 7. Valores del % RSD en las muestras dopadas con metiltiotriazinas.	33
Cuadro 8. Contenido de metiltiotriazinas en muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de tres supermercados (S1, S2 y S3).	34
Cuadro 9. Comparación de los residuos de metiltiotriazinas encontrados en las muestras de estudio con los valores de LMR reportados por CICOPLAFEST.	40
Cuadro 10. Límite máximo residual de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales reportados por Estados Unidos (EPA), Unión Europea (UE), Reino Unido y Japón.	41

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ÍNDICE DE FIGURAS

Título	Página
Figura 1. Fórmula general de las triazinas simétricas y no simétricas.	11
Figura 2. Estructura química de las triazinas.	12
Figura 3. Estructura química de las metiltiotriazinas.	13
Figura 4. Residuos de plaguicidas en sistemas bióticos y abióticos y su ingreso en la cadena trófica.	18
Figura 5. Esquema de preparación de muestras.	26
Figura 6. Cromatograma de una muestra de plátano enriquecida con patrones estándar de los analitos estudiados a una concentración de 0.01 ppm.	31
Figura 7. Porcentaje de recuperación de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados (CA = caña de azúcar, MA = maíz (elote), NA = Naranja, PA = Papa; PI = piña, AP = apio; PT = plátano, TO = tomate, CE = cebolla, PM = pimiento). Para n=3, muestras dopadas con una solución estándar de 0.01 ppm de Am, Pm y Tb.	32
Figura 8. Intervalo del contenido máximo (ppm) de metiltiotriazinas encontrados en las frutas y vegetales frescos estudiados. Para N=18 por cada muestra considerando los tres supermercados y dos épocas de muestreo. (CA: caña de azúcar, MA: maíz (elote), NA: naranja, PA: papa, PI: piña, AP: apio, PT: plátano, TO: tomate, PM: pimiento y CE: cebolla).	35
Figura 9. Frecuencia relativa porcentual del contenido de Am, Pm y Tb presentes en el total de muestras de frutas y vegetales frescos estudiados en los tres supermercados y dos épocas de muestreos. N=60.	37

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Figura 10. Frecuencia relativa del contenido de metiltiotriazinas en las muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de cada supermercado S1, S2 y S3 considerando ambos muestreos y niveles de concentración en el intervalo de 0.005-0.15 ppm. N=20. NC: no cuantificable, nd: no detectada. 38

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ABREVIATURAS

ACN: Acetonitrilo
Am: Ametrina
Az: Atrazina
BPA: Buenas Prácticas Agrícolas
BPM: Buenas Prácticas de Manufactura
CDE: Compuestos Disruptores Endocrinos
CICLOPLAFEST: Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas. Catálogo Oficial de Plaguicidas. México.
CIN: Conferencia Internacional de la Nutrición
CNRPYC: Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes
COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios
COP: Compuestos Orgánicos Persistentes
DDT: Diclorodifeniltricloroetano
EMA: Entidad Mexicana de Acreditación
ETA: Enfermedades de Transmisión Alimentaria
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
GC-FTD: Cromatografía de Gases con Detectores de Fotometría
° C: Grados centígrados
HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Precisión
LC: Cromatografía de Líquidos
LC-MS: Cromatografía líquida-Espectrometría de Masas
LD_{50}: Dosis Letal que provoca la muerte del 50% (una mitad) de un grupo de animales de prueba.
LSE: Extracción Sólido - Líquido
LMPR: Límite Máximo de Residuos Plaguicidas
LMR: Límite Máximo de Residuos
MeOH: Metanol
mg/kg: Miligramos por Kilogramos
mg/L: Miligramo por Litro
mg: Miligramos
ml/min: Mililitros por Minutos
ml: Mililitro
mm: Milímetros
µl: Microlitro
MS: Espectrometría de Masas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ABREVIATURAS (Continuación)

MSPD: Dispersión de la Matriz en Fase Sólida
nm: Nanómetros
OMS: Organización Mundial de la Salud
PA: Pico del Área en espectrómetría
pH: Potencial de iones H^+
Pm: Prometrina
ppm: Partes por millón
RSD: Desviación Estándar Relativa
SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SENASICA: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
LSE: Extracción Sólido - Líquido
SPE: Extracción en Fase Sólida
Tb: Terbutrina
TLC: Cromatografía en Capa Fina
UV: Detector Ultravioleta

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

I. INTRODUCCIÓN

Dentro de los grupos de alimentos, las frutas y hortalizas son fundamentales en la alimentación; por ello la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) recomiendan que todas las personas deberían consumir mayor cantidad de frutas y hortalizas con el fin de evitar diversas enfermedades como la diabetes (FAO, 2006). Los alimentos frescos e inocuos, como las frutas y hortalizas, son importantes para una buena nutrición, y por ello se requiere de un control y buen manejo de los mismos desde su cultivo hasta su consumo (FAO, 2016).

Los alimentos son una fuente importante de agentes contaminantes de origen químico (plaguicidas, antibióticos, aditivos), físico (residuos de vidrio, madera, partículas de polvo, metales), y biológico (virus, parásitos y bacterias), a los cuales el ser humano no es inmune. Cuando los alimentos contienen niveles altos de agentes contaminantes conllevan riesgos importantes para la salud de los consumidores (OMS, 2015). El origen de la contaminación de alimentos es diverso, extendiéndose a los sistemas de producción, procesamiento, distribución y comercialización (Varela y Martínez, 2006).

Uno de los principales riesgos alimentarios se centra en los residuos de origen químico como los plaguicidas, antibióticos, hormonas metales pesados, compuestos bifenilicos, dioxinas, cianuros y uso inadecuado de aditivos alimentarios; además de los alimentos genéticamente modificados (OGM); o bien agentes no convencionales que producen enfermedades e implican riesgos para la salud (Varela y Martínez, 2006; FAO/OMS, 2003*).*

Los plaguicidas que comprenden un amplio grupo de compuestos químicos heterogéneos son utilizados en las prácticas agrícolas para el control de plagas y malezas en los cultivos, con el fin de incrementar la productividad agrícola y satisfacer las necesidades básicas de la humanidad (Ohaco et al. 2010). Sin embargo, el uso inadecuado de los plaguicidas afecta tanto al ambiente como a la salud de los consumidores y, eventualmente, en las exportaciones de alimentos hacia países con regulaciones estrictas y mecanismos de verificación eficientes pueden tener un impacto negativo (Albert, 2005a).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Entre los distintos grupos de plaguicidas usados en el control de malezas (malas hierbas) en los cultivos agrícolas destacan los herbicidas, como es el caso de las triazinas que son ampliamente empleadas por los agricultores de Estados Unidos y México; tanto en las etapas de preemergencia como post-emergencia en distintos cultivos, como la caña de azúcar, maíz, piña, plátano, naranjo, avena, cebada, espárrago, lenteja, papa, sorgo, zanahoria, chícharo, tomate, trigo entre otros (Flores, 2000). Sin embargo, el uso no adecuado de estas sustancias y las malas prácticas agrícolas y de poscosecha conllevan a la presencia de residuos de estas sustancias en las frutas, cereales y/o hortalizas.

Por lo anterior, diversos autores han propuesto la utilización de nuevas técnicas analíticas para el análisis de residuos de este tipo de herbicidas. La selectividad y sensibilidad de diversas técnicas son excelentes, y las hace muy adecuadas para la detección de residuos a concentraciones muy bajas (Hernández et al. 2001; Sancho, Pozo y Hernández, 2004; Kuster, López de Alda y Barceló, 2006; Fraile et al. 2009).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Importancia de las frutas y hortalizas en la alimentación

Hoy en día, ha ocurrido un cambio en la relación existente entre la nutrición y la salud. Hasta hace poco tiempo se afirmaba que la provisión de los nutrientes esenciales a través de los alimentos fortificados, o aún más de una píldora de multivitaminas, era más que suficiente para evitar las enfermedades relacionadas con un bajo consumo de frutas y verduras; la visión reduccionista de la nutrición establecía que estos alimentos no eran más que un vehículo para el aporte de micronutrientes. Es así que en lugar de dos frutas cítricas al día, bastaba con una tableta que aportará 50 mg de ácido ascórbico.

Sin embargo, algunos estudios realizados en África mostraron que el cáncer de colon era prácticamente inexistente en esa parte del mundo antes que se introdujera la dieta occidental; en este continente el consumo de frutas y verduras era por lo menos de 600 g al día, y en muchos casos alcanzaba a un kilogramo diario, lo que implicaba un residuo no digerible de unos 40-60 gramos de fibra fecal. Estas investigaciones no se ajustaban a la idea reduccionista de que bastaba proveer los nutrientes esenciales para gozar de buena salud. De aquí surge la paradoja de que la fibra, un «no nutriente», resulta ser esencial para la prevención del adenocarcinoma de colon, entre otras afecciones (Uauy, 2006).

En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) dirigen una campaña para reducir el riesgo de adquirir enfermedades crónicas, mediante un suministro, disponibilidad y consumo adecuado de frutas y hortalizas en todo el mundo. Las frutas y vegetales frescos son importantes componentes de una dieta saludable y su consumo diario y suficiente podría contribuir a la prevención de diversas enfermedades, como las cardiovasculares, cardiopatías, el cáncer, la diabetes y la obesidad, así como prevenir la carencia de micronutrientes (OMS, 2016).

De esta manera, la iniciativa mundial de fruta y hortalizas para la salud (GlobFaV) tiene como objetivo elevar al máximo las sinergias entre las actividades mundiales de la OMS en materia de alimentación, actividad física y salud, y los programas de la FAO sobre nutrición, seguridad alimentaria y la cadena de suministro hortícola. Esta iniciativa apoyará

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

programas nacionales en los países en desarrollo, desde los ministerios de agricultura, salud y transporte, hasta los agricultores, servicios de extensión, escuelas y la industria alimentaria.

La OMS y la FAO recomiendan como objetivo para la población, la ingesta de un mínimo de 400 g diarios de frutas y verduras frescos. Por ello, la GlobFaV tiene como objetivo garantizar que el aumento de la producción no comprometa la calidad e inocuidad de los alimentos. Sin embargo, estudios diversos han reportado la presencia de residuos de plaguicidas en frutas y vegetales frescos, por lo que el consumo de estos alimentos conlleva un riesgo para la salud humana, y además se confirma que no se está cumpliendo con las normas de inocuidad establecidas para su comercialización. En este sentido, los riesgos que suponen el uso inadecuado de plaguicidas o de agua contaminada para riego se opondrían al objetivo de mejorar la salud pública; por lo tanto, es importante garantizar la inocuidad y calidad de los alimentos a lo largo de la cadena de suministro, es decir desde del campo a la mesa (FAO, 2006; OMS, 2016).

Es importante mencionar que México mantiene 12 tratados comerciales y seis acuerdos de complementación económica, que le permiten realizar exportaciones a 152 países. Entre las principales regiones que consumen productos agrícolas mexicanos en el mundo están Norteamérica, Asia y UE (Fazla, 2016). A pesar de que México sigue siendo el mayor proveedor de frutas y hortalizas frescas de Estados Unidos, el país está perdiendo competitividad en este mercado y ha sido desplazado por otros países, por lo cual es importante mantener estos productos libres de contaminantes que afectan la inocuidad alimentaria (Trigos, Ramírez y Salinas, 2008).

2.2. Alimentos sanos e inocuos

Según la FAO, la seguridad alimentaria se define como "Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico y económico a suficientes alimentos, inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos, a fin de llevar una vida activa y sana". Esta definición incluye la disponibilidad de alimentos, el acceso a los alimentos, la utilización de los alimentos y la estabilidad de los mismos" (FAO, 2006).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

El suministro de alimentos inocuos fortalece las economías nacionales, el comercio, el turismo, contribuye a la seguridad alimentaria y sirve de fundamento para el desarrollo sostenible. Por ello, la FAO y la OMS han mantenido el interés en promover sistemas nacionales de control de los alimentos basados en principios y directrices de carácter científico que abarquen todos los sectores de la cadena alimentaria (FAO/OMS, 2003).

Los alimentos frescos e inocuos son importantes para una buena nutrición, por lo que se requiere de un buen manejo de los mismos desde el cultivo o la crianza hasta su consumo. Un alimento inocuo significa que está libre de agentes contaminantes como las bacterias y los hongos o mohos dañinos, productos químicos y otros materiales perjudiciales para la salud. Los alimentos se contaminan por estos agentes de diferentes formas: a través del agua y la tierra donde crecen; uso de insumos durante su cultivo, crianza, manejo, preparación, almacenamiento, venta y hasta en el momento de servirlos; o bien por contaminación cruzada (FAO, 2016).

Uno de los principales riesgos alimentarios se centra en la presencia de residuos químicos (residuos de plaguicidas, antibióticos, hormonas; uso inadecuado de aditivos alimentarios, metales pesados, compuestos bifenilicos, dioxinas, cianuros); alimentos genéticamente modificados (OGM); y agentes no convencionales que producen enfermedades e implican riesgos para la salud (Varela y Martínez, 2006; FAO/OMS, 2003).

Por ello, en la Conferencia Internacional de la Nutrición (CIN), organizada por la FAO y la OMS, se reconoció que el acceso a cantidades suficientes de alimentos, de buena calidad e inocuos, es esencial para una nutrición apropiada; asimismo en la CIN se comprometieron a "*Apoyar firmemente la intervención de los gobiernos para fortalecer los sistemas de control de los alimentos y educar a los consumidores; de igual modo, se destacó el importante papel que juega la industria para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos, partiendo de su producción en el campo, el almacenamiento, la transformación y la distribución;, todo ello, mediante el empleo de buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de fabricación y de manipulación de los alimentos, es decir considerando un sistema de trazabilidad*" (Varela y Martínez, 2006).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

2.3. Origen y uso de los plaguicidas

Según la NOM-057-FITO-1995, un plaguicida se define como un *"Insumo fitosanitario destinado a prevenir, repeler, combatir y destruir a los organismos biológicos nocivos a los vegetales, tales como: insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, molusquicidas, nematicidas y rodenticidas".*

En la antigüedad, en el control de plagas se empleaban productos químicos inorgánicos, como el azufre quemado con acción de fumigante, Arsénico como insecticida, la sosa y el aceite de oliva para tratar las semillas de leguminosas. En el siglo XVI, los chinos empleaban arsenicales como insecticidas; en Europa a principios del siglo XIX se utilizaban elementos como cenizas, caldo bordelés, azufre, cobre, compuestos arsenicales, tabaco molido, compuestos de mercurio, zinc, fósforo, entre otros grupos de los insecticidas de primera generación para combatir los insectos. Después de la guerra mundial surgen los insecticidas de segunda generación, que son un conjunto de moléculas que se clasifican en grupos según su estructura química. Las tres familias más importantes son: los organoclorados, los organofosfatos y los carbamatos (Pineda, 2017).

Los plaguicidas sintéticos surgieron entre 1930 y 1940 como resultado de investigaciones enfocadas al desarrollo de armas químicas que originalmente fueron probadas en insectos; uno de los primeros compuestos fue el diclorodifeniltricloroetano (DDT), sintetizado por Zeidler en 1874, y que fue utilizado por primera vez durante la segunda guerra mundial (Ramírez y Lascaña, 2001). En la actualidad existen más de mil compuestos químicos, agentes biológicos y agentes físicos, marcados como formulaciones compuestas con distintos nombres comerciales, que son usados en todo el mundo como insecticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas y antimicrobianos (Karam et al., 2004).

El uso de los plaguicidas se extiende a diferentes ámbitos, como el agrícola, industrial, doméstico, la jardinería y el sector pecuario (Fenik et al., 2011); no obstante se destaca su uso en el sector agrícola debido a la alta demanda en la producción y rendimiento de los cultivos para el abastecimiento de alimentos a la cada vez creciente población mundial (FAO/OMS, 2003). Aun cuando los plaguicidas benefician la productividad agrícola, es importante hacer un uso adecuado de los mismos debido a que la aplicación de estas sustancias se ha convertido en una fuente importante de contaminación de los alimentos y

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

del medio ambiente. Diversas investigaciones han demostrado la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos, los cuales pueden afectar la salud de los consumidores, o bien impedir su comercialización en diferentes mercados nacionales e internacionales (Guerrero, 2003; Fernández-Álvarez et al., 2010).

En México están autorizados 183 ingredientes activos de plaguicidas altamente peligrosos en los distintos usos (agrícola, doméstico, jardinería, industrial) con base en el Catálogo de plaguicidas de COFEPRIS de 2016 (Bejarano-González, 2017); asimismo se estima que en el año 2007 se comercializaron 100 000 t de estos compuestos, equivalentes al 4% del consumo mundial (FAO, 2017). De acuerdo con Pérez, Navarro y Miranda (2013) reportan que los estados con el mayor uso de plaguicidas en México corresponden a Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla, Oaxaca

Sin embargo, en nuestro país no se cuenta con información detallada sobre el grupo o los ingredientes activos más utilizados, y mucho menos sobre su uso por cultivo o Estado de la República. En el año 2016, la Dirección General de Epidemiología (DGE, 2017) reportó alrededor de 4,000 casos de intoxicaciones por plaguicidas (García et al., 2018). Algunos autores señalan que los plaguicidas de mayor uso en México, corresponden a los herbicidas, insecticidas y fungicidas. A finales de los 90´s se estimó que alrededor de 50,000 toneladas de compuestos activos de plaguicidas se estaban utilizando cada año por los mexicanos (Albert, 2005b).

2.4. Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas, como muchas sustancias o grupos de sustancias, se pueden clasificar en naturales y sintéticos. Los plaguicidas modernos, que son el resultado de un proceso industrial de síntesis química, han sido clasificados en función de algunas de sus características principales, como el nivel de toxicidad aguda, vida media, estructura química y uso (Ramírez y Lascaña, 2001; Karam et al., 2004). La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), en su Catálogo de Plaguicidas 2016, establece una clasificación con base en su concentración, organismos que controlan, modo de acción, composición química, uso al que se destinan y por su origen; estas son las más

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

comunes. En el Cuadro 1 se describe la clasificación de plaguicidas de mayor empleo y con relación en la producción agroalimentaria.

Cuadro 1. Clasificación de los plaguicidas por los organismos que controlan.

Plaguicidas	Organismos que controlan
Insecticidas	Compuesto químico a base de sustancias expulsadas por animales, utilizado para matar insectos normalmente, mediante la inhibición de enzimas vitales.
Acaricidas	Sustancia utilizada para controlar o prevenir la presencia o acción de los ácaros mediante una acción química.
Fungicidas	Son sustancias tóxicas empleadas para impedir el crecimiento o eliminar los y mohos perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre.
Bactericidas	Sustancia con acción bactericida que produce la muerte a una bacteria Los organismos secretan sustancias bactericidas como medios defensivos contra las bacterias.
Antibióticos	Sustancia producida por un ser vivo o derivado sintético, que mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles.
Herbicidas	Producto químico que se utiliza para inhibir o interrumpir el desarrollo de plantas indeseadas en terrenos que han sido o van a ser cultivados.
Rodenticidas	Sustancias químicas cuya función es eliminar, controlar, prevenir, repeler o atenuar la presencia o acción de los roedores, en cualquier medio.
Molusquicidas	Son utilizados para controlar los moluscos como los caracoles. Estas sustancias incluyen metaldehídos, metiltiocarbamatos, sulfato de aluminio y azufre.

Fuente: Catálogo de Plaguicidas (2016).

2.4.1. Los plaguicidas denominados herbicidas

A partir del modelo de agricultura industrial impulsado en México en las últimas décadas, el uso de plaguicidas (insecticidas, fungicidas y herbicidas) y fertilizantes sintéticos ha aumentado de forma preocupante. Por un lado, la promoción de este modelo ha fomentado el control corporativo de todo el sistema alimentario, comenzando por la concentración del mercado de los insumos (semillas y agrotóxicos) por unas cuantas empresas; y por el otro lado ha conducido casi al exterminio de las prácticas milenarias en la producción de alimentos sanos para las personas y en el cuidado del medio ambiente (Arellano-Aguilar y Rendón Von, 2015).

Entre los plaguicidas orgánicos de mayor uso se encuentran los herbicidas, y se aplican de un 85 al 100% entre los principales cultivos agrícolas en los países industrializados con el fin de controlar o eliminar las *malas hierbas* o *malezas,* que constituyen verdaderas plagas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

para los cultivos, muchas de ellas de difícil manejo (Caseley, 1996). Un herbicida se define como *"una sustancia química que causa una disrupción en la fisiología o metabolismo de una planta por un tiempo suficientemente largo como para matarla o reducir su crecimiento"* (Anzalone, 2007).

Los herbicidas pueden ser agrupados según su naturaleza química, su mecanismo de acción y momento de aplicación entre otros; una característica en común que pueden tener los herbicidas es que actúan sobre procesos fisiológicos de los vegetales siendo su toxicidad, en algunos casos, sobre otras especies muy bajas (Pintado, 2010). En el Cuadro 2 se describen los tipos de herbicidas con base en la acción que ejercen al ser aplicados.

Cuadro 2. Grupos de herbicidas según su modo de acción.

Mecanismo de acción	**Grupos existentes**	**Tipos de Herbicidas**
Sobre la fotosíntesis	Cuatro subgrupos, los tres primeros actúan sobre la fase luminosa de la fotosíntesis. Los del tipo "a" son los más usados.	a) Que inhiben la transferencia de electrones inhibiendo la fotosíntesis. b) Que desacoplan la cadena de transporte de electrones. c) Que impiden la formación de ATP. d) Que alteran la biosíntesis de carotenoides.
Sobre la biosíntesis de metabolitos distintos a los carbohidratos	Alteran de la biosíntesis de metabolitos distintos a los carbohidratos .Se subdividen en tres grupos	a) Que alteran la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. b) Que alteran la biosíntesis de la glutamina. c) Que inhiben la síntesis de lípidos.
Sobre el crecimiento vegetal	Alteran la elongación y división celular. Cuando se incorporan a una planta dan lugar a un crecimiento anormal del vegetal, y en consecuencia originan deformaciones, falta de funcionalidad y la muerte de la planta.	a) Que alteran la elongación celular. b) Que inhiben la síntesis de giberelinas. c) Que son capaces de inhibir la división celular.
Otro mecanismo de acción		a) Que provocan la disrupción de la membrana celular. b) Que actúan sobre pigmentos. c) Que poseen actividad hormonal.

Fuente: CASAFE (2010).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

El uso de herbicidas tuvo un impulso importante en 1945, y desde entonces se han sintetizado más de 130 principios activos, existiendo la introducción de nuevos productos con dosis de aplicación más bajas, menor persistencia medioambiental y menor toxicidad debido a mayores tasas de degradación (SANCO, 2005). Sin embargo, el uso de herbicidas exige un cuidado especial en su aplicación; pues al no cumplir con las precauciones necesarias se pueden producir efectos negativos como son daños sobre el cultivo o la presencia de residuos persistentes en los alimentos (Caseley, 1996).

2.4.2. Herbicidas triazínicos

Las triazinas son los herbicidas selectivos básicos más importantes introducidos por J. R. Geigy, quien sintetizó los primeros derivados de la triazina hacia 1950 (Pinto y Jardim, 2000). En los últimos años han sido utilizadas ampliamente en la agricultura para la protección de cultivos y eliminación de malezas en diferentes superficies agrícolas (Tadeo et al., 2000).

Las triazinas son sustancias sólidas con una pureza superior al 80 % del ingrediente activo, en solución acuosa presentan una solubilidad que varía en el rango de 5 a 600 mg/L (Trevisan, 2006). Químicamente son derivados heterocíclicos del nitrógeno. El término heterocíclico se emplea para designar un anillo estructural compuesto por diferentes clases de átomos. La mayoría de las triazinas comerciales son simétricas y de baja solubilidad. Recientemente se han desarrollado triazinas no simétricas de mayor solubilidad y menor residualidad (Tuesca, 2017).

Las triazinas pertenecen al grupo de herbicidas que eliminan o controlan de forma selectiva o no selectiva a diversas malezas en los cultivos. En la actualidad representan el 30 % de los herbicidas de mayor uso; y son empleadas en las etapas de pre-emergencia y post-emergencia de diversos cultivos para mejorar la calidad de los productos agroalimentarios (Miranda-Cruz, 2006). En la Figura 1 se muestra la estructura química de los dos principales grupos de triazinas: simétricas y no simétricas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

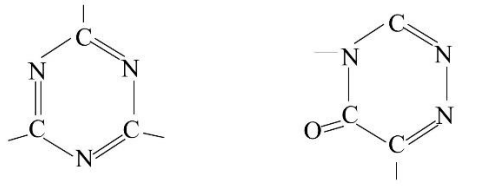


Figura 1. Fórmula general de las triazinas simétricas y no simétricas. Fuente: Miranda-Cruz (2006).

Las triazinas se aplican por lo general al suelo, aunque algunas pueden aplicarse al follaje con el agregado de surfactantes. Cuando se aplican al suelo son absorbidos por las raíces y translocados dentro de la planta únicamente por el xilema (vía apoplasto). Aplicados al follaje son absorbidos por la planta pero actúan como herbicidas de contacto, no se translocan. Inhiben la fotosíntesis bloqueando la reacción de Hill. Generalmente son más activos contra malezas de hojas anchas que contra gramíneas. Son de baja toxicidad hacia mamíferos. Para ser efectivos, requieren ser movilizados hacia las raíces en desarrollo por medio de la lluvia, el riego o la incorporación (Tuesca, 2017).

El tiempo de vida de las triazinas en el campo de cultivo, cuando se utilizan como herbicidas, oscila entre los 4 y 12 meses, pero este tiempo depende de la dosis empleada, de la temperatura del ambiente, de la cantidad de materia orgánica que exista en el campo y de la humedad. En el Cuadro 3 se indican los grupos de triazinas empleados en distintos cultivos de importancia agroalimentaria.

Esta clase de compuestos se puede degradar por hidrolisis, por reacciones de alquilación, y también gracias al metabolismo de ciertos microorganismos. Las triazinas tienen una gran tendencia a la lixiviación, por lo que pueden acumularse y por lo tanto ser detectadas en aguas subterráneas. Es importante señalar que la dosis letal media (LD50) de estas sustancias en ratas es de 1.78 mg/kg (Trevisan, 2006).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Cuadro 3. Herbicidas del grupo de las triazinas más usados y principales aplicaciones.

Triazinas	Uso
Ametrina	Caña de azúcar, maíz, piña
Atrazina	Maíz, sorgo, caña de azúcar
Hexazinona	Alfalfa, caña de azúcar, silvicultura
Metamitrona	Betabel, otros tipos de remolachas
Metribuzina	Caña de azúcar, papa, soja
Prometona	Sitios no cultivables para aniquilar malezas de áreas industriales, granjas, etc.
Prometrina	Algodón, apio, soja
Simazina	Maíz, cítricos, uva, manzana, almendra, nuez, melocotón, pera
Terbutilazina	Maíz, sorgo, uva
Terbutrina	Caña de azúcar, cereales

Fuente: Herranz de Andrés y Moreno (2013).

Las triazinas simétricas están divididas en tres grupos característicos: clorotriazinas, metoxitriazinas y metiltiotriazinas cuya estructura química se muestra en la Figura 2. Las clorotiazinas, también denominadas triazinas de primera generación, están representadas por la atrazina, simazina, propazina, terbutilazina, entre otras. Las metoxitriazinas y metiltiotriazinas, también denominadas triazinas de segunda generación, son obtenidas por la introducción de los radicales metoxila y metiltio, respectivamente, como un tercer sustituyente. Representantes de éste grupo de triazinas aon la prometrona, terbumetrona, atratona, ametrina prometrina, desmetrina, simetrina y terbutrina (Trevisan, 2006).

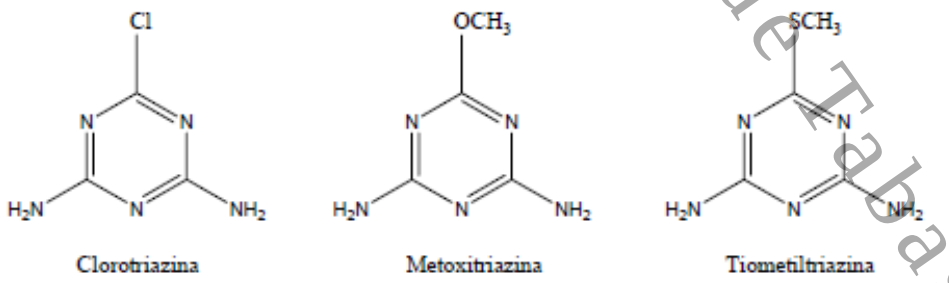


Figura 2. Estructura química de las triazinas. Fuente: Trevisan (2006).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Las metiltiotriazinas fueron introducidas como herbicidas de amplio espectro en los años cincuenta; las de mayor uso en la actualidad son: desmetrina, simetrina, ametrina y prometrina (Gutiérrez y Medina, 2016); la estructura química de las metiltiotriazinas se caracteriza por presentar azufre (S) en uno de sus radicales como se muestra en la Figura 3.

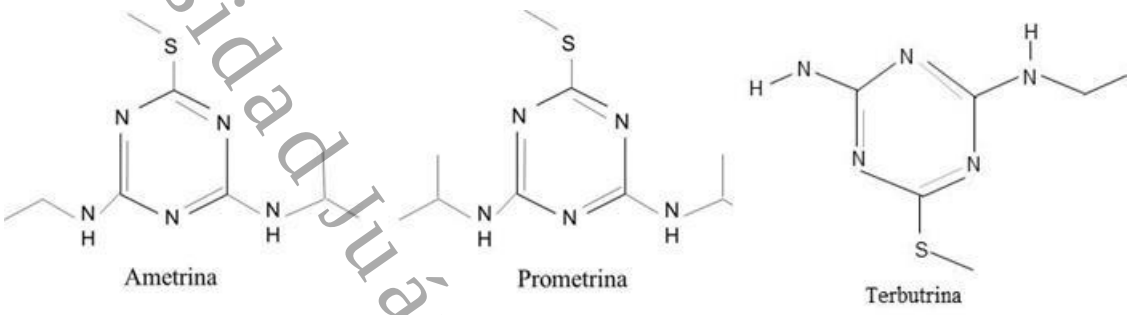


Figura 3. Estructura química de las metiltiotriazinas. Fuente: Uzal (2016).

La ametrina (Am) es un herbicida empleado en pre y post emergencia para el control de malezas en los cultivos de piña, algodón, banana, café, caña de azúcar, cítricos, mandioca, maíz y uva, actuando como un inhibidor de la fotosíntesis; es ampliamente utilizada debido a su amplia acción en diferentes especies de malas hierbas. Este herbicida presenta un pequeño desplazamiento hacia las regiones vecinas del lugar de su aplicación y posee una persistencia media en el ambiente, pudiendo persistir hasta por seis meses en el suelo, siendo degradada por microorganismos y por fotólisis. Presenta una vida media de 20 a 100 días, por lo que puede traslocarse en el ambiente y persistir en agua y suelo. Sus residuos y metabolitos se han encontrado en aguas subterráneas, incluso después de largos periodos de su aplicación (De Andrade, 2008).

La prometrina (Pm) presenta un átomo de azufre (S) con un radical metil (CH_3) ligado al anillo aromático en la posición 18, y sus grupos funcionales laterales R2 y R3 corresponden a un radical isopropil. Es un herbicida selectivo de pre y post emergencia. (Rubira, 2016). La terbutrina es un herbicida selectivo de pre y post emergencia temprana, su modo de acción inhibe la función clorofílica impidiendo la absorción del CO_2 y la

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

reacción de Hill, especialmente durante la fase de germinación y en estado de plántula (Ecured, 2018).

Es importante señalar que el uso de las triazinas ha sido prohibido y restringido en varias partes del mundo, sin embargo en México estos herbicidas se siguen usando en las formulaciones agroquímicas y en algunos casos sin restricción alguna (Hernández y Hansen, 2011).

2.5. Efectos de los herbicidas en la salud humana

La preocupación del uso de plaguicidas en la producción de alimentos se debe a los efectos adversos que causan en el medio ambiente y en la salud humana, tanto de la población en general como de los trabajadores que los manipulan; aunado también a problemas de comercialización en diferentes mercados mundiales (Fernández et al., 2010). Sus efectos en la salud anteriormente se consideraban de tipo agudo, dado los síntomas médicos que se presentaban y el impacto directo en la morbi- crónicos han tomado una mayor importancia (Guerrero, 2003). Por su parte, Karam et al. (2004) señalan que la mayoría de los plaguicidas empleados en la agricultura moderna tienen acción teratogénica y afectan los sistemas nervioso, endocrino e inmunológico, considerándose generadores potenciales de enfermedades como el cáncer, el asma y la infertilidad entre otras.

En general, el contacto con plaguicidas produce efectos agudos o daños a corto y mediano plazo, como irritaciones o quemaduras, problemas digestivos o respiratorios, y reacciones alérgicas o hipersensibilidad, dependiendo de si el contacto se produce a través de la piel, o a través de las vías respiratoria o digestiva. Una vez que penetran en el organismo, pueden bioacumularse suponiendo un riesgo potencial con el tiempo. Así, una intoxicación crónica puede convertirse en un problema importante para la salud, debido a la bioacumulación de pequeñas cantidades aparentemente inocuas pero que, a largo plazo, han llegado a asociarse con lesiones crónicas del sistema nervioso, cáncer y otros efectos graves (Herranz de Andrés y Moreno, 2013).

En México, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) es la encargada de publicar el Catálogo Oficial de Plaguicidas de uso autorizado para los distintos cultivos. Sin embargo, este catálogo requiere una revisión y actualización del uso

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

de plaguicidas con el fin de cancelar el uso autorizado de sustancias altamente peligrosas que ya han sido prohibidas en otras partes del mundo. Esta situación genera un retraso en la gestión integral de agrotóxicos a nivel nacional. Por ejemplo, en los principales cultivos mexicanos se usan regularmente componentes químicos altamente peligrosos como: diazinón, malatión, metomil, abamectin, clorpirifos, endosulfán, metamide, metil paratión, azinofos-metil, carbaril, ciromazin, esfenvalerato, fenvalerato, imidacloprid, lambda-cyaltrin, permetrín y triclorfon, y algunas triazinas (Laso, Martínez y Escalona, 2015).

En general, los datos sobre los daños derivados del uso de plaguicidas en México son parciales e insuficientes; siendo una de las razones el hecho de que evaluar cualquiera de los tipos de riesgos no es atractivo para los gobernantes, pues piensan que hablar de riesgos perjudicaría la imagen del país a nivel internacional, reduciría la llegada de nuevos capitales, o afectaría el turismo, y los intereses de la industria y la agroindustria; todos estos factores contribuyen a que no exista un diagnóstico correcto del problema (Albert, 2005a).

Por consiguiente, el financiamiento, cuando lo hay, para realizar estudios o investigaciones sobre el tema está limitado; en consecuencia estos estudios son insuficientes, parciales y de poco alcance, y no permiten documentar los riesgos y el panorama de la situación sobre la presencia de plaguicidas en México, y sus efectos adversos sobre la salud y el ambiente.

Hoy en día, la presencia en el ambiente y los alimentos de un grupo de sustancias denominadas como compuestos disruptores endocrinos (CDE), ha atraído la atención de la comunidad científica y médica; ya que este tipo de compuestos actúa en el organismo interfiriendo con las hormonas naturales, dada su gran capacidad para enlazarse a los receptores de estrógenos y andrógenos, actuando en algunos casos como agonistas y, en otros, como antagonistas de estas hormonas. Los CDE también pueden interferir en la síntesis, transporte, metabolismo y eliminación de las hormonas, incidiendo directamente sobre su concentración en el torrente sanguíneo y afectando los procesos que ellas controlan; ejemplo de ello es que pueden inhibir la producción de la hormona tiroidea, la cual a su vez tiene un efecto negativo sobre el desarrollo del sistema nervioso central (Benítez y Miranda, 2013).

De esta manera, es importante señalar que algunos herbicidas del grupo de las triazinas se consideran disruptores endocrinos; y que los más vulnerables a los efectos nocivos

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

causados por la exposición a estas sustancias son los fetos, bebés, niños y adolescentes en crecimiento, mujeres embarazadas, madres lactantes y mujeres en edad fértil. Los niños corren más riesgo que los adultos porque ellos tienen una ingesta mayor con relación a su peso corporal, además exposiciones prolongadas durante el periodo de desarrollo (embrionario, infancia, niñez temprana y pubertad) pueden ser especialmente peligrosas. Los fetos están expuestos a plaguicidas a través de la dieta de la madre, y los bebés a través de la leche materna (CESA, 2012).

Dentro de los herbicidas triazínicos, la simazina y atrazina se encuentran entre los principales contaminantes residuales. A pesar de la magnitud de su uso, son pocos los casos reportados de sus efectos o daños agudos en humanos, ya que estos compuestos presentan una baja toxicidad para los mamíferos. No obstante, su presencia siempre supone un riesgo potencial para la salud, principalmente debido a su tendencia a acumularse en tejidos grasos, asimismo los efectos crónicos se han asociado a la aparición de daños hepáticos, de riñón y corazón, problemas en el desarrollo del feto e incremento de la posibilidad de desarrollar cáncer de ovario (Herranz de Andrés y Moreno, 2013).

Por su parte, Laso et al. (2015), señala que la exposición a los herbicidas ha sido relacionado con el aumento de cáncer de próstata y pulmón, y enfermedades neurodegenerativas, como Parkinson y Alzheimer. Asimismo, la exposición de mujeres embarazadas, y en algunos casos de niños, a los plaguicidas ha sido relacionada con resultados adversos para la salud de los menores, entre ellos: reducción del peso al nacer, duración y aparición de anormalidades, menor inteligencia, comportamientos alterados, probabilidades más altas de desarrollar leucemia y mayores posibilidades de tener un aborto espontáneo.

2.6. Contaminación de alimentos por plaguicidas

La calidad de un alimento, hoy en día, no implica solamente considerar su valor nutritivo o sus cualidades organolépticas, sino también su seguridad, vinculada siempre a la ausencia de agentes químicos o biológicos capaces de atentar contra la salud del consumidor. Los peligros por agentes químicos son una fuente importante de enfermedades transmitidas por los alimentos, aunque muchas veces es difícil asociar los efectos con un alimento

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

determinado, e incluso pueden manifestarse mucho tiempo después del consumo del producto (Nieto, 2013).

La presencia de residuos químicos en los alimentos es uno de los aspectos fitosanitarios más preocupantes dentro del ámbito de la inocuidad debido a diversos motivos, entre ellos porque afectan a toda la población al ser todos consumidores de alimentos; por la sensible opinión pública a todas las cuestiones referentes a la inocuidad de los alimentos; por su incidencia en el comercio internacional de alimentos vegetales; y por su influencia en las estrategias de lucha contra las plagas. Dicha temática es importante, tanto por sus repercusiones de orden toxicológico o sanitario, como por sus consecuencias económicas y comerciales, especialmente en las producciones hortofrutícolas y en productos de exportación (Mazzarella, 2016).

La FAO (2015) reportó que en el año 2013 se obtuvo una producción agrícola a nivel mundial de 23.34 billones de toneladas (t); para lo cual se aplicaron 1.29 millones de t de plaguicidas (insecticidas, herbicidas, fungicidas y bactericidas).

La dispersión de plaguicidas en grandes cantidades al entorno y de sus residuos persistentes en el medioambiente ha dado origen a problemas de acumulación en aire, agua, suelo y biota; y, por lo tanto, de su ingreso a la cadena alimentaria a través de su consumo por el ser humano, donde se acumulan en algunos órganos vitales y provocan el desarrollo de intoxicaciones de distinta gravedad (ver Figura 4).

Los plaguicidas se absorben por contacto con la piel, inhalación en forma de polvo o vapor, o por su ingesta a través de agua o alimentos contaminados. A finales de los noventas, la OMS estimó que tres millones de personas por año resultaban envenenadas con plaguicidas, la mayoría de éstas en países en desarrollo; y que alrededor de 20,000 personas murieron víctimas de envenenamiento (WHO, 1999).

Los plaguicidas como los herbicidas suelen estar presentes en cantidades residuales en los alimentos (por ejemplo frutas y vegetales frescos) que se cultivan a través de una agricultura industrial intensiva, debido a un uso incorrecto como la sobredosificación y aplicación inadecuada por parte de los agricultores, entre otros factores (Karam et al., 2004).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

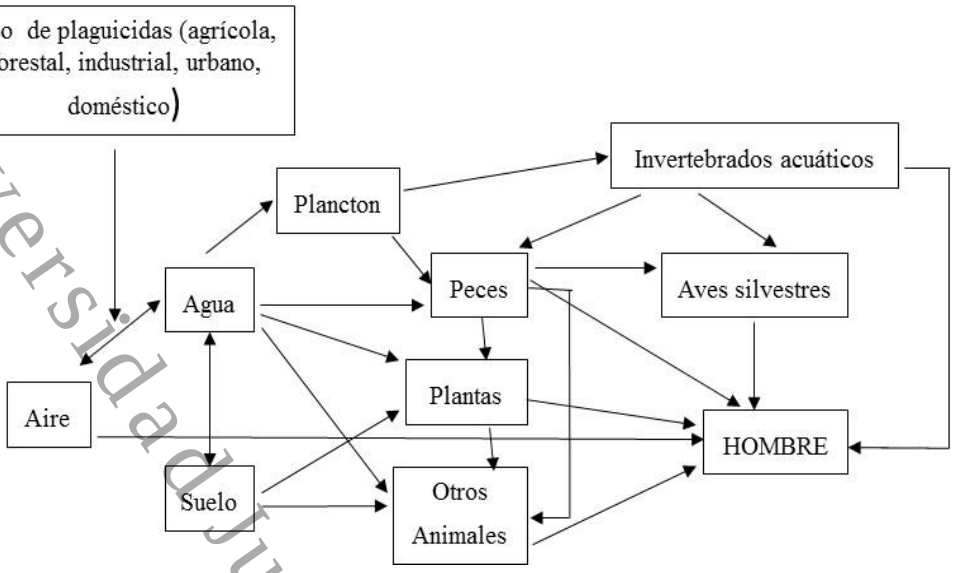


Figura 4. Residuos de plaguicidas en sistemas bióticos y abióticos y su ingreso en la cadena trófica. Fuente: Cremlyn (1991).

El amplio uso de los herbicidas para el control de malezas en los cultivos hace que el contacto con las personas y animales sea inevitable; por lo que éstos pueden ocasionar el envenenamiento del ser vivo como resultado de exposiciones agudas y crónicas. Adicionalmente, los herbicidas pueden impactar en poblaciones humanas y animales mediante exposiciones secundarias o a través de efectos indirectos, como el consumo de alimentos contaminados (Badii, Landeros y Cerda, 2007).

En general, diversos estudios han demostrado que los alimentos presentan residuos de plaguicidas o sus metabolitos, y que llegan al organismo en forma de una mezcla o cóctel; asimismo, señalan que algunos de los principios activos de los plaguicidas pueden interactuar de forma sinérgica, y el efecto combinado de éstas sustancias es mayor al impacto que tendrían los analitos de forma individual (Laso et al., 2015).

Por lo tanto, el empleo de plaguicidas implica un peligro para los consumidores debido a que tanto las propias sustancias, como sus metabolitos y productos de degradación o reacción, pueden estar presentes en pequeñas cantidades residuales en los alimentos las cuales podrían generar efectos adversos para la salud pública. De esta manera, resulta esencial mantener en niveles aceptables, desde el punto de vista toxicológico, el contenido de residuos de plaguicidas en los alimentos (Soto, 2011). Por ello, las buenas prácticas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

agrícolas son una herramienta en el control de la contaminación de frutas y vegetales frescos, así como la detección temprana de sus residuos en los alimentos.

2.7. Límite Máximo de Residuos para Plaguicidas (LMR)

Los límites máximos de residuos de plaguicidas (LMR) para alimentos y bebidas es un parámetro que ha sido establecido para diversos alimentos en la mayoría de los países con el fin de evitar cualquier impacto adverso en la salud pública, y para insistir en las buenas prácticas agrícolas (BPA) y buenas prácticas de manufactura (BPM) (Pérez et al., 2013).

Según el Codex Alimentarius (2015), el Límite Máximo para Residuos de Plaguicida (LMR) se define como *"la concentración máxima de residuos de un plaguicida (expresada en mg/kg), para que se permita legalmente su uso en la superficie o la parte interna de productos alimenticios para consumo humano y de piensos".* Los LMR se basan en datos de BPA para lograr que los alimentos derivados de productos básicos que se ajustan a los respectivos LMR sean toxicológicamente aceptables.

Los LMR, se calculan a partir de los datos obtenidos de ensayos supervisados a campo, y que han sido realizados aplicando el patrón de uso crítico detallado en las etiquetas de los productos fitosanitarios. Es importante destacar que los LMR no son límites toxicológicos, sino que son límites toxicológicamente aceptables basados en una buena práctica agrícola, y que representan la cantidad máxima de un residuo que es posible encontrar en un producto alimentario de origen vegetal como consecuencia del uso legal y racional de fitosanitarios (Mazzarella, 2016).

En el caso de países donde no existe una normativa que regule estos niveles, se emplean los valores establecidos por la Comisión Codex Alimentarius. El Codex Alimentarius (o Código Alimentario) es un programa mixto de la FAO/OMS, que tiene por objeto proteger la salud de los consumidores, garantizar prácticas equitativas en el comercio de alimentos y promover la coordinación del conjunto de trabajos sobre normas alimentarias emprendidos por organizaciones gubernamentales e internacionales (Albero, 2009).

En México, el Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes (CNRPYC) apoyado por los Comités Estatales de Sanidad Vegetal, realizan el monitoreo de residuos de plaguicidas; además existen diversos laboratorios privados, autorizados por el Servicio

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) y acreditados por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA); que prestan servicios a importadores y exportadores de alimentos para la determinación de análisis de residuos de plaguicidas (SENASICA, 2013).

Entre las Normas Oficiales Mexicanas relacionadas con residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas frescas se mencionan: la NOM-008-FITO-1995, por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarios para la importación de frutas y hortalizas frescas; y la NOM-057-FITO-1995, por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para emitir el dictamen de análisis de residuos de plaguicidas.

2.8. Determinación analítica de herbicidas en alimentos

El uso intensivo de plaguicidas en la producción de alimentos es inevitable, por lo que es importante identificar los residuos de éstos en los alimentos para evitar los problemas asociados a largo plazo. La cuantificación e identificación analítica de plaguicidas, entre ellos los herbicidas, requiere de tres etapas fundamentales: pre-tratamiento-extracción, limpieza-preconcentración y determinación analítica. En la elección de cualquier metodología se consideran como criterios principales que el método sea rápido, fácil, de bajo costo, eficaz, con aplicación en diversas matrices y que incluya un número importante de analitos (Carabias-Martínez et al., 2007; Lambropoulou y Albanis, 2007; Rodríguez-Gonzalo et al., 2009; Stoytcheva y Zlatev, 2011).

Las técnicas convencionales de extracción, limpieza y preconcentración de plaguicidas, tales como extracción líquido-líquido (LLE), extracción sólido-líquido (LSE) o extracción de Soxhlet, y extracción en fase sólida (SPE) son ampliamente aceptados y utilizados para aplicaciones de rutina y/o con fines de referencia (Ramos, 2012).

En la cuantificación y/o identificación de plaguicidas mediante el uso de técnicas instrumentales, influyen las propiedades químicas y físicas de éstas sustancias, las cuales difieren considerablemente entre los distintos grupos. La introducción de nuevos principios activos con distintas estructuras químicas y la revolución tecnológica han dado lugar a la publicación de numerosos métodos analíticos que se basan, generalmente, en la utilización

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

de técnicas cromatográficas, que en su mayoría están acopladas a distintos sistemas de detección (Juan, Picó y Font, 2003).

La mayoría de los métodos de análisis de triazinas implican una etapa de extracción, en la que el analito es separado de su matriz, seguida de una etapa de concentración para permitir la detección del analito. Por último, una pequeña porción del extracto final es inyectada en un instrumento capaz de detectar y cuantificar selectivamente las triazinas presentes en la muestra (Uzal, 2016). En los últimos años se han generado grandes avances en los métodos de análisis de herbicidas triazínicos en muestras de distinto origen.

En el caso concreto del análisis de triazinas en muestras agroalimentarias, se han descrito métodos basados en cromatografía líquida con dos sistemas de detección, ultravioleta-visible, HPLC-UV, y espectrometría de masas LC-MS. También se han utilizado distintos métodos basados en reacciones heterogéneas antígeno-anticuerpo con anticuerpos unidos a una enzima (ELISA), en los cuales, la cuantificación de las triazinas (antígenos) se realiza mediante el seguimiento de una reacción enzima-sustrato llevada a cabo posteriormente con aquellas moléculas de enzima inmovilizada gracias a la reacción inmunológica. Para este seguimiento se ha empleado espectrofotometría ultravioleta-visible, espectrofluorimetría y potenciometría. Otras técnicas también descritas son las de cromatografía de gases con analizadores de masas o detectores de fotometría de llama (GC-FTD) y las de cromatografía en capa fina (TLC) (Miranda-Cruz *et al.*; 2010).

No obstante, también se han publicado en los últimos años diversos trabajos sobre determinación electroanalítica de plaguicidas en alimentos, naturales o industrializados, correspondiendo la mayor parte de ellos a la utilización de electrodos modificados con enzimas y electrodos de mercurio (Galli et al. 2006). Asimismo, la técnica de extracción y purificación de dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD), utilizada en la extracción de residuos de medicamentos de tejidos animales, ha sido utilizada en la extracción de numerosos compuestos orgánicos, entre los que se encuentran los herbicidas triazínicos, de muestras sólidas, semi-sólidas y viscosas (Uzal, 2016).

Sin embargo, la información obtenida con el uso de técnicas electroanalíticas son dependientes de la superficie electrostática y buena reproducibilidad; el electrodo a utilizar en estos tipos de análisis depende de dos factores: del comportamiento redox del mismo

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

analito y de las corrientes residuales obtenidas en el intervalo de potencial evaluado. También se debe de considerar la ventana de potencial de trabajo, conductividad eléctrica, reproducibilidad de la superficie, las propiedades mecánicas, el costo de fabricación, la disponibilidad y toxicidad (Galli et al., 2006).

Cabe mencionar que en la elección de la técnica analítica es importante considerar las propiedades del analito, el límite de detección, el tiempo, costo e infraestructura. De esta manera una de las técnicas apropiadas y de menor costo para la detección y cuantificación de residuos de triazinas es la cromatografía de líquidos.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

III. HIPÓTESIS

El método de extracción sólido-líquido (LSE) con solventes orgánicos asistida por ultrasonido, limpieza y pre-concentración por extracción en fase sólida (SPE) propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009), para la determinación de herbicidas triazínicos por HLPC, puede emplearse en muestras de frutas y vegetales frescos con el fin de verificar el cumplimiento de los LMR establecidos por norma.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar la presencia de herbicidas triazínicos como las metiltiotriazinas en frutos y vegetales frescos provenientes de tres supermercados en el estado de Tabasco mediante el uso de la metodología de LSE-SPE-HPLC con el fin de verificar el cumplimiento de los LMR establecidos por norma.

4.2. Objetivos específicos

- Seleccionar las frutas y vegetales de estudio para la determinación de residuos de herbicidas triazínicos por HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) con base en sus usos autorizados y niveles de consumo de dichos alimentos.

- Aislar los analitos en estudio mediante el método de extracción LSE asistido por ultrasonido, limpieza y pre-concentración por SPE de las muestras de frutas y vegetales frescos seleccionados para su análisis y cuantificación por HPLC.

- Comparar los valores de LMR de metiltiotriazinas establecidos por el CICLOPLAFEST y Codex Alimentarius con los encontrados en las muestras estudiadas para la verificación de su cumplimiento.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Selección de supermercados

La toma de muestra de frutas y vegetales frescos estudiados se realizó en tres supermercados comerciales seleccionados como representantes en la venta de frutas y vegetales en el municipio de Centro, Villahermosa, Tabasco.

5.2. Selección de frutas y hortalizas

La selección de frutas y hortalizas para su estudio se realizó con base en la demanda del producto, el uso autorizado del grupo de herbicidas de las metiltiotriazinas utilizadas en los distintos cultivos con base en el Manual de CICLOPLAFEST (2012) y lo reportado en investigaciones previas. De esta forma, las muestras de frutas y vegetales frescos seleccionadas fueron caña de azúcar, maíz (elote); naranja, papa, plátano, piña, apio, y además tomate, cebolla y pimiento por su alto consumo.

5.3. Metiltiotriazinas (herbicidas) estudiadas

Los herbicidas triazinicos empleados para determinar sus residuos en frutas y vegetales frescos fueron: ametrina (Am), prometrina (Pm) y terbutrina (Tb).

5.4. Toma de Muestras

Para la toma de muestras de cada fruta y vegetal se consideraron dos muestreos en meses distintos y en diferentes días de la semana, estos meses se seleccionaron con base en el mes de mayor producción y de producción media de las frutas y vegetales estudiados. También se incluyó del grupo de hortalizas al tomate o jitomate, cebolla y pimiento por su alta demanda y consumo per cápita. Cabe mencionar que de estos tres cultivos, el tomate y el pimiento son hortalizas que comúnmente en su producción se utiliza la agricultura protegida.

Con el objetivo de obtener una muestra para determinar su conformidad con los límites máximos de residuos de plaguicidas (LMR) se realizó un muestreo mediante la selección de una muestra representativa de las frutas y vegetales frescos expendidas en los supermercados seleccionados, la cual corresponde a una muestra que mantiene las

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

características del lote del cual procede durante su exposición y compra por parte del consumidor. Por lo anterior, la muestra representativa se obtuvo con un muestreo aleatorio simple, y el número de unidades corresponde a lo indicado en los métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR según el CAC/GL 33-1999 y en el Manual Técnico de Muestreo de Productos Agriacolas para Determinación de Residuos de Plaguicidas (Senasica, 2012); ver Anexo 1.

5.4.1. Etiquetado y almacenamiento de muestras:

El etiquetado de muestras se realizó con base en los elementos necesarios indicados en el Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para la determinación de residuos plaguicidas (2010). Después de recolectar las frutas y hortalizas y etiquetarlas, éstas se colocaron en una nevera y fueron trasladadas al Laboratorio de análisis de suelo, agua y plantas del Colegio de Posgraduados-Campus Tabasco, ubicado en Periférico Carlos A. Molina S/N, en la Ciudad de Cárdenas, Tabasco. Al ingresar las muestras al laboratorio se almacenaron en refrigeración a 4 °C, previo al proceso de extracción de analitos.

5.5. Preparación de la muestra

Para la extracción de analitos cada muestra se colocó en un recipiente de polietileno con el fin de que alcanzara la temperatura ambiente. Posteriormente se procedió a su trituración mediante el empleo de una licuadora, marca comercial Moulinex Classic Metallic, a una velocidad media 2. Las muestras molidas nuevamente se colocaban en el recipiente plástico para su homogeneización con apoyo de un batidor manual. Esta muestra molida se dividió en 10 submuestras, a partir de las cuales se constituyó una muestra de 100-200 g, y a partir de esta última submuestra se pesaron 5 g para proceder al proceso extracción-limpieza-preconcentración como se muestra en la Figura 5.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Figura 5. Esquema de preparación de muestras

5.6. Extracción de metiltiotriazinas en frutos y vegetales frescos y determinación analítica.

Para aislar los analitos en estudio (metiltiotriazinas) se utilizó el método de extracción sólido-líquido (LSE) asistida por ultrasonidos y la limpieza y preconcentración de muestras mediante extracción en fase sólida (SPE) propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009).

Cada muestra se colocó en un tubo de centrifuga con tapa de 45 mL de capacidad y se le adicionaron 15 mL de agua ultrapura, colocándose la tapa para proceder a la extracción en el baño de ultrasonido (Branson, Serie MH, Mod. 3800) por 10 minutos a una temperatura entre 25-30 °C. Transcurrido el tiempo a cada muestra se le adicionó 10 mL de solución extractante diclorometano/acetona/n-hexano (1:1:1 v/v) y se colocaron nuevamente en el ultrasonido por otros 10 minutos. Una vez concluido el tiempo de extracción en ultrasonido se procedió a la separación de las fases líquidas (orgánica y acuosa), y la fase sólida mediante la centrifugación a 17776 g por 10 minutos en una Centrífuga Multiuso 5810/R de Eppendorf; el sobrenadante de la fase orgánica se colectó con la ayuda de una pipeta Pasteur.

Posteriormente se procedió a la limpieza y preconcentración de muestras, para ello se empleó como fase sólida un Oasis MCX de Waters previamente acondicionado, a través del cual se pasó la fase orgánica obtenida y el extracto resultante se evaporó a sequedad en un rotavapor con vacío marca Buchi (Rotavapor® R-100). Para determinar la reproducibilidad y precisión de la metodología, antes de iniciar con el proceso LSE-SPE,

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

las muestras de frutas y vegetales frescos fueron dopadas previamente con las soluciones estándar de las metiltiotriazinas en un nivel de concentración de 0.01 ppm.

Para la cuantificación y detección de las metiltiotriazinas se empleó la técnica de HPLC; utilizando un equipo SpectraSYSTEM P4000 (Florida, USA), equipado con un detector UV-DAD-6000LP, una bomba de vacío para desgasificar SpectraSYSTEM y un sistema de inyección manual con un bucle de 20 μL. El detector espectrofotométrico se seleccionó para un registro de señales de absorbancia de 200 a 300 nm.

La fase móvil empleada fue acetonitrilo (ACN) -0.005 M de tampón fosfato (pH 7.2), el gradiente de elución inicio con 2.0% de ACN que aumento linealmente en 15 minutos a 45%, en 30 minutos a 50%, después en 2 minutos regreso a las condiciones iniciales. La columna se equilibró durante 5 minutos y el caudal empleado fue de 1.0 mL/min.

La columna empleada fue una Spherisorb S5 ODS2 de 4.0 mm X 250 mm empaquetada con partículas de 5 μm de octadecil-silano, adquirida a Waters (Milford, MA, USA). La temperatura de la columna fue la temperatura ambiente. Las señales espectofotométricas se registraron entre 200 hasta 300 nm.

La fase orgánica seca se reconstituyó con 2 mL de una mezcla de ACN/MeOH (50:50 v/v), y una alícuota de 20 μL se utilizó para su inyección en el equipo el HPLC para la detección y/o cuantificación de las metiltiotriazinas en estudio. En la adquisición, almacenamiento y procesado de datos se utilizó el software propio del equipo (ChromQuest versión 2.1).

5.7. Reactivos y materiales

Los solventes orgánicos utilizados en el HPLC acetonitrilo (ACN) y metanol (MeOH) fueron de grado HPLC, marca comercial Merck (Darmstadt, Alemania), y agua UHQ (ultra high quality) adquirida en Meck.

Las metiltiotriazinas estudiadas (ametrina, prometrina y terbutrina) se adquirieron en Sigma-Aldrich, marca Riedel de Han, con un porcentaje mínimo de pureza superior al 98%. Las soluciones madre de cada herbicida se prepararon en metanol (MeOH) a una concentración de 200-500 mg/L y se almacenaron a 4 °C en frascos ámbar herméticamente cerrados.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

En el proceso de SPE se utilizó una fase solida de una mezcla de polímeros denominado Oasis MCX®, marca Waters (Milford, EEUU).

Patrón estándar interno: Se utilizó como patrón estándar atrazina (Az), cuya solución madre se preparó en metanol (MeOH) a una concentración de 100 mg/L y se almacenó 4 °C en un frasco ámbar herméticamente cerrado.

5.8. Determinación de metiltiotriazinas y LMR

La señal analítica empleada para determinar el contenido de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados fue el área del pico (PA). Y para su cuantificación la señal analítica empleada fue el área del pico (PA) normalizado contra un patrón interno:

$$PA - IS = \frac{PA - Analito}{PA - Estándar\ Interno}$$

Además con el objetivo de determinar la posibilidad de encontrar residuos de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiadas, se determinó la frecuencia relativa de la presencia de metiltiotriazinas en las muestras estudiadas. Para ello se calculó el valor de la frecuencia relativa entre el grupo de muestras analizadas por cada herbicida mediante la fórmula:

$$f_R = \frac{ni}{N} x100$$

Dónde:

X_1, X_2,…, Xn, corresponde al conjunto de datos

n_i = es el total de valores igual a X_i

N = es el número total de elementos

100= valor número que relaciona del porcentaje o tanto por ciento.

La frecuencia relativa porcentual se determinó a partir de multiplicar f_R por 100 (valor numérico que relaciona el porcentaje o tanto por ciento).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

VI. RESULTADOS

6.1. Selección de las muestras de frutas y vegetales frescos estudiados.

En el Cuadro 4 se muestran las frutas y hortalizas que fueron seleccionadas para su estudio con base en el uso autorizado de metiltiotriazinas para la producción de estos cultivos (CICLOPLAFEST, 2012), los datos de residuos de plaguicidas reportados por diversos autores, y su mayor y mediano consumo per cápita (SIAP, 2016).

Cuadro 4. Frutas y hortalizas seleccionadas para la determinación de herbicidas triazínicos.

Fruta y/o vegetal fresco	Uso autorizado de Metiltiotriazinas en México[a]	Residuos de Metiltiotrizinas reportadas por otros autores	Consumo anual Per cápita, 2015 (kg)[b]
Caña de azúcar	Am	√	15.4
Maíz (elote)	Am, Pm, Tb	√	297.0
Naranja	Am	√	37.1
Papa	Am	√	15.3
Piña	Am, Tb	-	6.3
Apio	Pm	-	-
Plátano	Am	√	15.1
Tomate*	Tb	-	13.8
Cebolla*	Am	√	9.9
Pimiento*	------	-	-

[a]CICLOPLAFEST (2012). Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas. [b]SIAP (2016). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA 2012-2015. *Vegetales frescos incluidos por su alto consumo en Tabasco.

En el Cuadro 5 se indican los meses en los cuales se realizó el primer y segundo muestreo de las frutas y vegetales frescos estudiados, considerando para ello la naturaleza y ciclo de sus cultivos, así como la demanda y afluencia de los consumidores (FDA, 2003; Medina et al., 2007; SIAP, 2016). La toma de muestra de la fruta y/o vegetal se llevó a cabo en distintos días de la semana de cada mes de muestreo con la finalidad de realizar la extracción de analitos lo más cercano posible a la fecha de muestreo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 5. Mes correspondiente al primer y segundo muestreo de las frutas y vegetales seleccionados para la cuantificación de metiltiotriazinas.

Fruta y Vegetal Estudiado	Primer Muestreo (M1)	Segundo Muestreo (M2)
Caña de azúcar	Enero	Junio
Maíz (elote)	Mayo	Octubre
Naranja	Marzo	Noviembre
Papa	Febrero	Julio
Piña	Marzo	Julio
Apio	Enero	Agosto
Plátano	Enero	Julio
Tomate	Febrero	Julio
Cebolla	Enero	Mayo
Pimiento	Enero	Julio

Con el fin de facilitar el análisis e interpretación del contenido de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados, en el Cuadro 6 se muestra la identificación de muestras analizadas (fruta o vegetal estudiado), primer o segundo muestreo (M1 y M2) y los tres supermercados seleccionados (S1, S2 y S3). El nombre correspondiente a cada supermercado (S1, S2 y S3) se omitió a petición y confidencialidad de los involucrados.

Cuadro 6. Identificación de muestras para la determinación de residuos de metiltiotriazinas por HPLC en tres supermercados.

Vegetal Estudiado	Primer Muestreo	S1	S2	S3	Segundo Muestreo	S1	S2	S3
Caña de azúcar	Enero	CA-M1-S1	CA-M1-S2	CA-M1-S3	Junio	CA-M2-S1	CA-M2-S2	CA-M2-S3
Maíz (elote)	Mayo	MA-M1-S1	MA-M1-S2	MA-M1-S3	Octubre	MA-M2-S1	MA-M2-S2	MA-M2-S3
Naranja	Marzo	NA-M1-S1	NA-M1-S2	NA-M1-S3	Noviembre	NA-M2-S1	NA-M2-S2	NA-M2-S3
Papa	Febrero	PA-M1-S1	PA-M1-S2	PA-M1-S3	Julio	PA-M2-S1	PA-M2-S2	PA-M2-S3
Piña	Marzo	PI-M1-S1	PI-M1-S2	PI-M1-S3	Julio	PI-M2-S1	PI-M21-S2	PI-M2-S3
Apio	Enero	AP-M1-S1	AP-M1-S2	AP-M1-S3	Agosto	AP-M2-S1	AP-M2-S2	AP-M2-S3
Plátano	Enero	PT-M1-S1	PT-M1-S2	PT-M1-S2	Julio	PT-M2-S1	PT-M2-S2	PT-M2-S2
Tomate	Febrero	TO-M1-S1	TO-M1-S2	TO-M1-S3	Julio	TO-M2-S1	TO-M2-S2	TO-M2-S3
Cebolla	Enero	CE-M1-S1	CE-M1-S2	CE-M1-S3	Mayo	CE-M2-S1	CE-M2-S2	CE-M2-S3
Pimiento	Enero	PM-M1-S1	PM-M1-S2	PM-M1-S3	Julio	PM-M2-S1	PM-M2-S2	PM-M2-S3

M1 (primer mes de muestreo), M2 (Segundo mes de muestreo), S1 (Supermercado 1), S2 (Supermercado 2), S3 (Supermercado 3)

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

6.2. Precisión y Reproducibilidad del método de extracción LSE-SPE-HPLC

Con el fin de verificar el empleo y/o aplicación del método propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009) para la extracción de metiltiotriazinas en las frutas y hortalizas estudiadas, se procedió a determinar la reproducibilidad y porcentaje de recuperación de analitos en muestras previamente dopadas a una concentración de 0.01 ppm de cada metiltiotriazina (Am. Pm. Tb). Para ello, la colecta de muestras se realizó en el supermercado (S1).

Una vez colectadas las muestras se procedió a su molienda y obtención de la muestra de ensayo, la cual se enriqueció con soluciones estándar de Am, Pm y Tb a una concentración de 0.01 ppm, homogeneizando perfectamente la muestra después de doparlas. A partir de esta muestra enriquecida se procedió a realizar la extracción de analitos con base en la metodología propuesta de extracción sólido-líquido (LSE) con la mezcla de solventes orgánicos asistida por ultrasonido; limpieza-pre-concentración de la muestra por extracción en fase sólida (SPE) y detección por HPLC.

Con base en los cromatogramas obtenidos se observa la ausencia de sustancias interferentes con las señales analíticas correspondientes a las metiltiotriazinas estudiadas (ver ejemplo en la Figura 6). Por lo tanto, la metodología propuesta permite obtener muestras limpias y sin interferentes durante su lectura por HPLC, y no requiere de modificación alguna en sus distintas etapas para la obtención de los extractos secos y analitos en estudio.

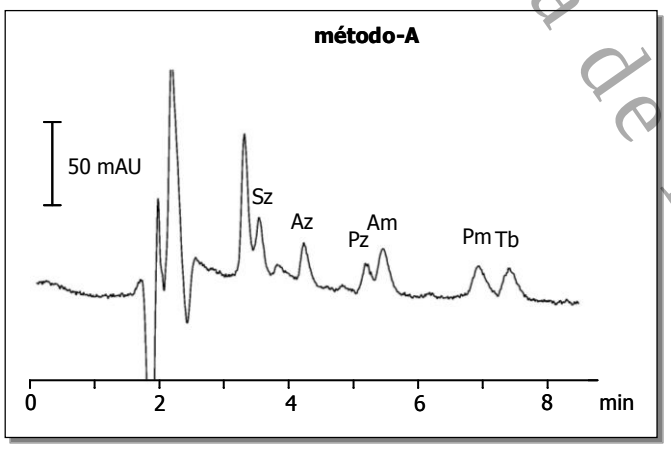


Figura 6. Cromatograma de una muestra de plátano enriquecida con patrones estándar de Am, Pm y Tb a una concentración de 0.01 ppm.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

A partir de los cromatogramas obtenidos de las muestras enriquecidas se calculó el porcentaje de recuperación del contenido de cada metiltiotriazina estudiada, considerando el área de pico (PA) normalizado contra un patrón interno y la desviación estándar relativa, RSD (%). El % de recuperación del patrón estándar se obtuvo a partir de la fórmula siguiente:

$$Porcentaje\ de\ recuperación = \frac{Pencontrado}{Ppuesto}\ x\ 100$$

En la Figura 7 se muestran los porcentajes de recuperación de los analitos estudiados en las muestras enriquecidas; con base en los datos se observa que los valores de recuperación son superiores al 95%, con coeficientes de variación inferiores al 15 o 20% para la mayoría de analitos en las muestras estudiadas. Con relación a los valores del %RSD (ver Cuadro 7), éstos fueron inferiores al de rechazo (%RDS=2.50). Por consiguiente, ambos datos permiten concluir que la pérdida de analitos por las diversas etapas de LSE, la retención de los analitos por el sorbente (SPE) y su elución, no son etapas cruciales en la pérdida de la reproducibilidad y precisión del método propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009) para este tipo de muestras.

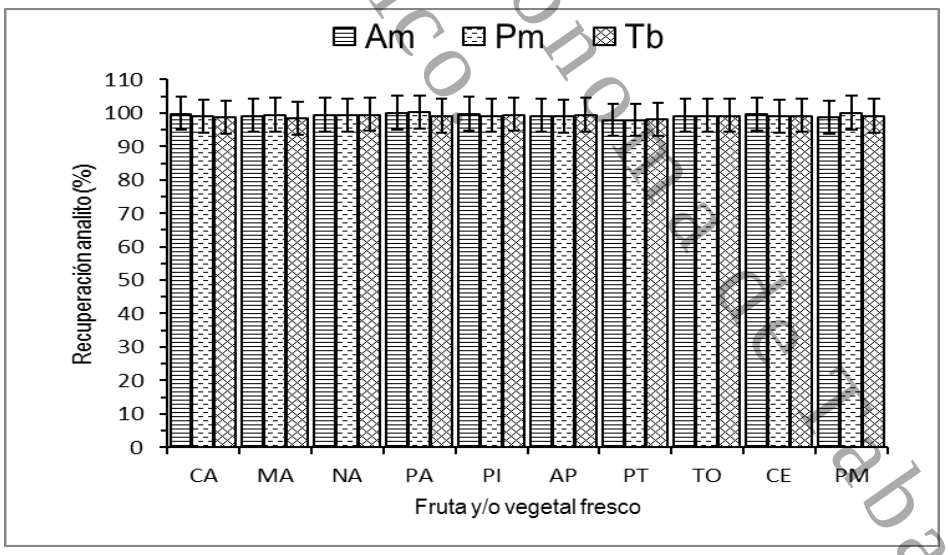


Figura 7. Porcentaje de recuperación de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados (CA = caña de azúcar, MA = maíz (elote), NA = Naranja, PA = Papa; PI = piña, AP = apio; PT = plátano, TO = tomate, CE = cebolla, PM = pimiento). Para n=3, muestras dopadas con una solución estándar de 0.01 ppm de Am, Pm y Tb.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Cuadro 7. Valores del %RSD en las muestras dopadas con metiltiotriazinas.

Vegetal Estudiado	Am	Pm	Tb
	----------	%RSD	----------
CA	2.05	2.46	2.05
MA	2.29	2.07	1.68
NA	2.33	2.07	1.54
PA	2.00	2.05	2.07
PI	2.03	1.98	1.52
AP	2.00	2.05	2.00
PT	2.12	1.54	1.11
TO	2.05	2.05	0.98
CE	2.02	2.00	2.05
PM	2.50	2.46	2.07

CA = caña de azúcar, MA = maíz (elote), NA = naranja, PA = papa; PI = piña, AP = apio; PT = plátano, TO = tomate, CE = cebolla, PM = pimiento). Para n=3, muestras dopadas con una solución de 0.01 ppm de metiltiotriazinas estudiadas.

Por lo tanto, los datos de %Recuperación y %RSD calculados permiten señalar que la metodología propuesta puede ser utilizada para la extracción y cuantificación de las metiltiotriazinas por HPLC en las frutas y vegetales estudiados (caña de azúcar, maíz-elote, naranja, papa, plátano, piña, apio, tomate, cebolla y pimiento), y para concentraciones iguales o superiores a 0.005 ppm.

6.3. Detección y/o cuantificación de residuos de triazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados.

En el Cuadro 8 se indica el contenido de Am, Pm y Tb encontrado y/o detectado en cada una de las muestras estudiadas considerando los tres supermercados y dos meses de muestreo con base en la metodología en estudio. Los datos muestran una mayor presencia de Am, seguida de Tb y Pm para la mayoría de las muestras procedentes de los tres supermercados y ambos muestreos. Estos datos coinciden con los reportados en la literatura consultada, donde el mayor el número de casos reportan altos niveles de residuos de Am, que es el herbicida del grupo de las metiltiotriazinas de mayor empleo en los cultivos y formulaciones químicas (Catálogo de Plaguicidas, 2016).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 8. Cuantificación de metiltiotriazinas en muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de tres supermercados (S1, S2 y S3).

Supermercado	Muestreo 1				Muestreo 2			
	Identificación	Am	Pm	Tb	Identificación	Am	Pm	Tb
		mg/Kg				mg/Kg		
S1	CA-M1-S1	0.1	nd	NC	CA-M2-S1	NC	nd	0.02
	MA-M1-S1	NC	nd	NC	MA-M2-S1	nd	nd	nd
	NA-M1-S1	0.15	nd	nd	NA-M2-S1	nd	nd	NC
	PA-M1-S1	nd	nd	nd	PA-M2-S1	0.05	nd	NC
	PI-M1-S1	0.02	nd	nd	PI-M2-S1	nd	nd	NC
	AP-M1-S1	nd	nd	nd	AP-M2-S1	nd	nd	nd
	PT-M1-S1	NC	nd	nd	PT-M2-S1	nd	nd	0.01
	TO-M1-S1	nd	nd	nd	TO-M2-S1	nd	nd	nd
	CE-M1-S1	nd	nd	NC	CE-M2-S1	0.01	NC	nd
	PM-M1-S1	0.05	nd	nd	PM-M2-S1	nd	nd	nd
S2	CA-M1-S2	nd	nd	0.02	CA-M2-S2	0.15	nd	nd
	MA-M1-S2	0.05	nd	nd	MA-M2-S2	nd	nd	NC
	NA-M1-S2	0.01	nd	NC	NA-M2-S2	nd	nd	nd
	PA-M1-S2	nd	nd	nd	PA-M2-S2	NC	nd	nd
	PI-M1-S2	0.03	nd	nd	PI-M21-S2	nd	NC	nd
	AP-M1-S2	nd	0.01	nd	AP-M2-S2	0.01	nd	nd
	PT-M1-S2	nd	nd	nd	PT-M2-S2	nd	nd	nd
	TO-M1-S2	nd	nd	nd	TO-M2-S2	0.02	nd	nd
	CE-M1-S2	0.01	NC	nd	CE-M2-S2	nd	nd	NC
	PM-M1-S2	nd	nd	NC	PM-M2-S2	nd	NC	nd
S3	CA-M1-S3	0.02	nd	0.05	CA-M2-S3	nd	nd	nd
	MA-M1-S3	NC	nd	NC	MA-M2-S3	nd	nd	0.01
	NA-M1-S3	0.01	nd	nd	NA-M2-S3	NC	nd	nd
	PA-M1-S3	nd	nd	nd	PA-M2-S3	nd	0.01	nd
	PI-M1-S3	NC	nd	nd	PI-M2-S3	NC	nd	nd
	AP-M1-S3	nd	nd	NC	AP-M2-S3	nd	nd	0.01
	PT-M1-S2	0.01	nd	nd	PT-M2-S3	nd	nd	nd
	TO-M1-S3	0.02	nd	nd	TO-M2-S3	nd	nd	nd
	CE-M1-S3	NC	nd	nd	CE-M2-S3	nd	nd	NC
	PM-M1-S3	nd	NC	nd	PM-M2-S3	0.01	nd	NC

CA = caña de azúcar, MA = maíz (elote), NA = naranja, PA = papa; PI = piña, AP = apio; PT = plátano, TO=tomate, CE = cebolla, PM = pimiento. Para n=3 por muestra de cada fruto y/o vegetal fresco y por muestreo. NC=No Cuantificable, nd= No detectada.

De acuerdo con Müller y Switzerland (2008), la Am es la metiltiotriazina más poderosa en lo que respecta a su actividad en el control de malezas en etapas iniciales, especialmente en condiciones cálidas. Su uso comercial más importante es en el cultivo de la caña de azúcar donde se utiliza tanto en preemergencia como en post-emergencia, así mismo es un

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

herbicida selectivo y versátil en la etapa de post-emergencia en el cultivo del maíz. Por otra parte, la Am posee una persistencia y actividad mucho más prolongada en los suelos tropicales que las clorotriazinas. También se registra su uso en cultivos tropicales y subtropicales, como la piña, el plátano y la palma. No obstante, los datos obtenidos para los tres supermercados y épocas de muestreo presentan diferencias significativas (P>0.05) para las tres metiltiotriazinas estudiadas.

En la Figura 8 se muestra el intervalo de concentración de residuos de metiltiotriazinas encontrado en las frutas y vegetales frescos estudiados procedentes de los tres supermercados y en las dos épocas de muestreo. La caña de azúcar y la naranja presentaron el contenido más alto de metiltiotriazinas (0 a 0.15 ppm) y la concentración menor se encontró en cebolla, plátano y apio (0 a 0.01 ppm).

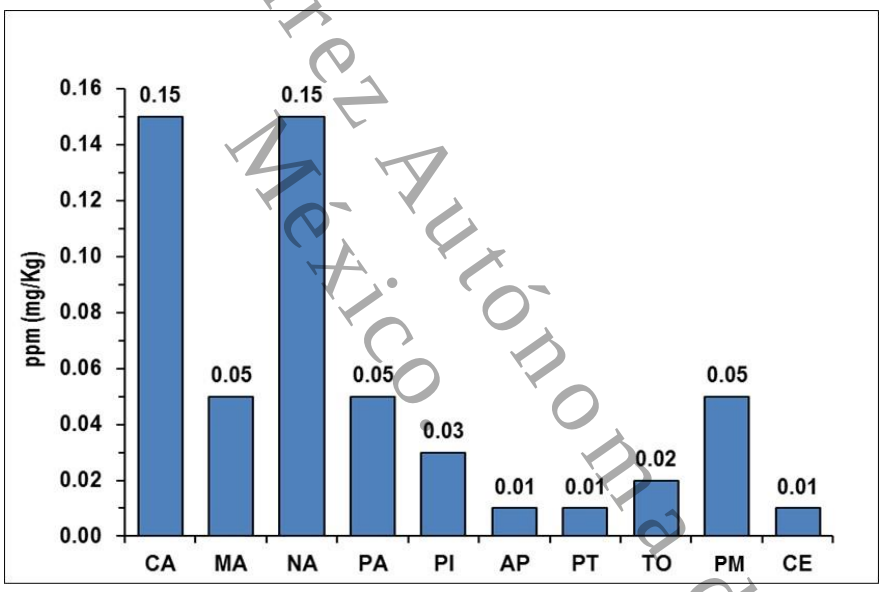


Figura 8. Intervalo del contenido máximo (ppm) de metiltiotriazinas encontrados en las frutas y vegetales frescos estudiados. Para N=18 por cada muestra considerando los tres supermercados y dos épocas de muestreo. (CA: caña de azúcar, MA: maíz (elote), NA: naranja, PA: papa, PI: piña, AP: apio, PT: plátano, TO: tomate, PM: pimiento y CE: cebolla).

Los vegetales de tomate, cebolla y pimiento, que están considerados de alto consumo per-cápita (SIAP, 2016), presentaron niveles de concentración máximos de 0.02, 0.01 y 0.05 mg/kg, respectivamente. Aunque estos valores de concentración no superan los niveles establecidos legalmente por diferentes organizaciones e instituciones, es importante señalar que a largo plazo podrían afectar la salud del consumidor, debido a sus efectos de

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

disruptores endocrinos. Asimismo, el empleo inadecuado de las triazinas se ha asociado con la formación de diferentes tipos de cáncer (Sathiakumar y Delzell, 1997).

6.4. Frecuencia relativa de la presencia de residuos de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados.

Un estimado de la frecuencia con la cual puede existir la presencia de residuos de Am, Pm, y Tb en las frutas y vegetales frescos estudiados se obtuvo a partir del cálculo de la frecuencia relativa (f_R) para todas las muestras procedentes de los tres supermercados y de las dos etapas de muestreo. La f_R se calculó considerando tres grupos: Muestras que presentaron niveles de concentración de 0.005-0.015 mg/kg de Am, Pm y Tb, muestras con niveles de metiltiotriazinas no cuantificables (Nc) por el método y técnica utilizada y muestras no detectado (nd) o sin residuos de metiltiotriazinas.

En la Figura 9 se muestran los valores de la frecuencia relativa porcentual de la presencia o ausencia de metiltiotriazinas presentes en las frutas y vegetales frescos estudiados. Los datos indican que en el intervalo de concentración de 0.005-0.15 mg/kg, el 30.0 % de frutas y vegetales frescos presentaron residuos de Am, el 10.0 % de Tb y 3.3 % de Pm. Estos datos corroboran que la Am es la triazina que se encontró con mayor frecuencia en las muestras analizadas con respecto a la Pm y Tb.

Es importante señalar que un porcentaje de muestras presentaron residuos de Am, Tb o Pm, pero que debido al nivel de sensibilidad de la técnica instrumental empleada no fue posible su cuantificación. Estos valores porcentuales correspondieron a 15, 8.3 y 23.3% para Am, Pm y Tb, respectivamente; y finalmente, las muestras de frutas y vegetales frescos que no presentaron residuos de Pm fue del 88.3%, el 55.0% de Am y el 66.7% de Tb. De acuerdo con Bray et al. (2008), en todo el mundo se han comercializado en total 20 herbicidas del grupo de las triazinas, de este total siete de ellas fueron registradas en su momento para su uso en los cultivos de Estados Unidos: ametrina, atrazina, metribuzin, prometryn, simazine, terbutryn, y prometon. Algunas de ellas actualmente ya están prohibidas en este país, aunque no en el caso de México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

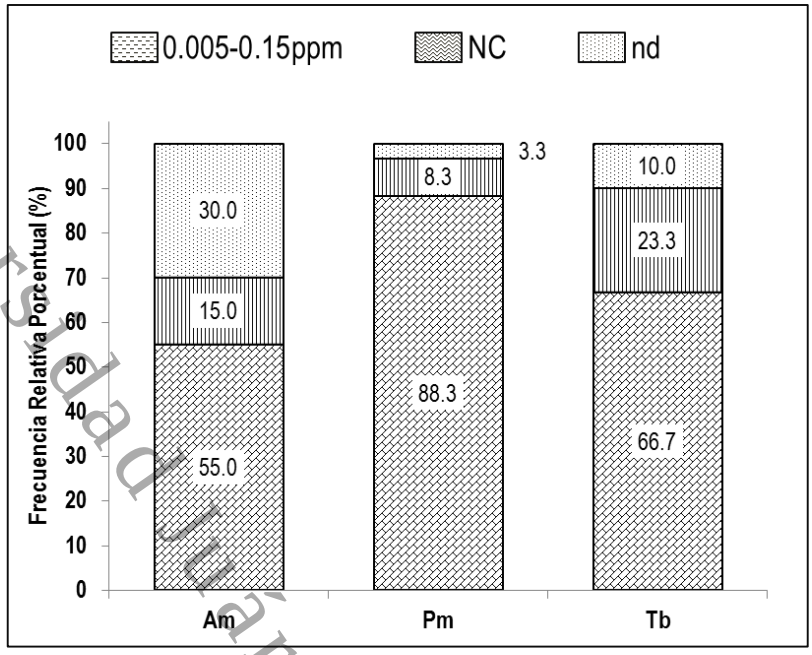


Figura 9. Frecuencia relativa porcentual del contenido de Am, Pm y Tb presentes en el total de muestras de frutas y vegetales frescos estudiados en los tres supermercados y dos épocas de muestreos. N=60.

Del total de muestras, tanto de frutas y vegetales frescos, correspondientes a los tres supermercados y dos épocas de muestreo, el 70% no presentó residuos de metiltiotriazinas, el 15.6 % no fue posible cuantificarlos, y el 14.6% registro residuos en el intervalo de concentración de 0.005-0.15 ppm. Cabe destacar que la presencia de residuos de metiltiotriazinas en las frutas y hortalizas estudiadas se deba a una posible contaminación cruzada durante la cosecha, poscosecha, almacenamiento, transporte y/o distribución, o bien en su comercialización. Lo anterior debido a que no se cumple con las buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de poscosecha, o bien de trasporte y comercialización.

En la Figura 10 se muestra el contenido de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos procedentes de cada uno de los supermercados (S1, S2, S3). En el caso de los tres supermercados, la Am fue la metiltiotriazina que se presentó con una frecuencia relativa de 0.25-0.35, es decir que entre un 25 a 35% de muestras mostraron residuos de Am; la Pm se presentó entre el 5 al 10% de muestras, mientras que la Tb se manifestó con una frecuencia entre el 25 al 40% de las muestras.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

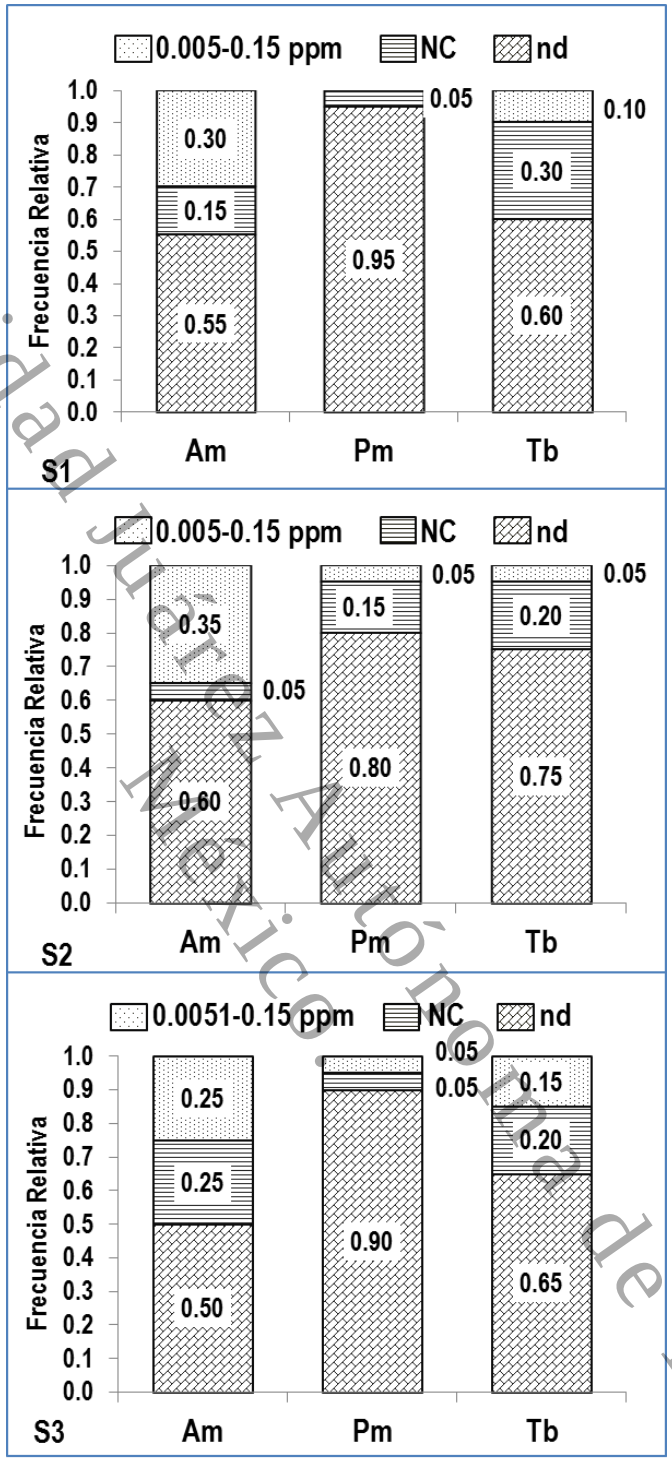


Figura 10. Frecuencia relativa del contenido de metiltiotriazinas en las muestras de frutas y vegetales frescos procedentes de cada supermercado S1, S2 y S3 considerando ambos muestreos y niveles de concentración en el intervalo de 0.005-0.15 ppm. N=20. NC: no cuantificable, nd: no detectada.

Estos valores corroboran que la Am y Tb se utilizan con mayor frecuencia en el control de malezas, y son las metiltiotriazinas de mayor empleo en las formulaciones comerciales de

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

herbicidas, e incluso en algunas ocasiones son la mezcla de ambos, como es el caso de la clorotriazina, atrazina (Az), con la Tb (COFEPRIS, 2018).

Diversos estudios analíticos de cuantificación o detección de residuos plaguicidas en matrices de frutas y vegetales frescos a nivel nacional, han demostrado un alto índice de residuos de estas sustancias. Entre los residuos de plaguicidas con mayor número de registros se encuentran el 2,4 D; Diurón, Carbofuran, Malation y del grupo de las triazinas la Az. No obstante, dichos estudios presentan un porcentaje bajo aproximadamente 30% en la exactitud de los analitos calibrados con patrones estándares.

6.5. Comparación entre los valores de metiltiotriazinas encontrados y los LMR establecidos a nivel nacional y de otros países.

En el Cuadro 9 se indican los valores de LMR (Límite Máximo de Residuos) establecidos para residuos de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales frescos estudiados según la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) y vigilados por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).

Los valores de LMR permiten determinar el riesgo que representan los residuos de estas sustancias en los alimentos, en este caso las frutas y vegetales frescos, dado que a concentraciones superiores a los LMR establecidas dichas sustancias resultarían tóxicas para el consumidor, y podrían generar efectos adversos en la salud del hombre, especialmente cuando el consumidor es la población infantil. Cabe señalar que los únicos plaguicidas cuya importación, comercialización y uso están permitidos en México, son los que han sido registrados ante la Secretaría de Salud (COFEPRIS, 2018).

Con base en los datos reportados, la mayoría de los frutos y vegetales estudiados presentaron residuos de al menos una de las tres metiltiotriazinas, principalmente de Am. Es importante señalar que todas las muestras donde se encontraron residuos de Am, Pm y Tb cumplen con la normatividad nacional, dado que estos valores se encuentran dentro del intervalo establecidos en la legislación nacional.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Aunque cabe señalar que en algunas muestras se encontraron residuos de alguna de la metiltiotriazinas estudiadas aun cuando no está autorizado su uso durante su cultivo, tal es el caso del tomate, pimiento, cebolla, papa, caña de azúcar, apio (ver Cuadro 10). En este caso y con base en las marcas de plaguicidas que se comercializan muchas de ellas contienen mezclas de metiltiotriazinas en su formulación, lo cual muchas veces es del desconocimiento del productor.

Cuadro 9. Comparación de los residuos de metiltiotriazinas encontrados en las muestras de estudio con los valores de LMR reportados por CICOPLAFEST.

Fruta o Vegetal Fresco	**Am[a]**	**Am[b]**	**Pm[a]**	**Pm[b]**	**Tb[a]**	**Tb[b]**
	---------- LMR (ppm) ----------					
Caña de azúcar	0.25	0.15	NA	nd	NA	0.02
Maíz	0.25	0.05	0.25	Nd	0.1	0.01
Naranja	NA	0.15	NA	Nd	NA	Nd
Papa	0.25	0.05	NA	0.01	NA	Nd
Piña	0.25	0.03	NA	Nd	NA	Nd
Apio	NA	0.01	0.5	0.01	NA	0.01
Plátano	0.25	0.01	NA	Nd	NA	0.01
Tomate	NA	0.02	NA	Nd	NA	Nd
Cebolla	NA	0.01	NA	Nd	NA	NC
Pimiento	NA	0.05	NA	Nd	NA	NC

[a]Valor reportado por CICLOPLAFEST, [b]Valor encontrado en el presente estudio. NA: No autorizado su uso, NR: valor no reportado, NC: No detectado o sin residuos.

La Am fue la metiltiotriazina que se encontró en al menos el 50% de frutas y vegetales frescos estudiados. En este sentido es relevante destacar que este herbicida ocupa el segundo lugar de las triazinas que se utiliza con mayor frecuencia en los cultivos para el control de malezas, así como en las formulaciones comerciales de estos herbicidas (Müller y Switzerland, 2008; Catálogo de Plaguicidas, 2016).

Los valores obtenidos en la cuantificación de los residuos de Am, Pm y Tb en las muestras de los frutos y vegetales estudiados obtenidos en los tres supermercados presentan la mayoría de ellos diferencias significativas entre el primer y segundo muestreo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Otros autores como Gonzalo et al. y Herrero et al. reportaron residuos de Am en naranjas y papas, éste último empleando el método de HPLC. También lograron cuantificar residuos de Pm en las mismas muestras, mientras que la Tb solo se encontró en muestras de naranjas.

Es importante señalar que las buenas prácticas de higiene durante la preparación de alimentos, y el lavado de las frutas y hortalizas con abundante agua, antes de su consumo o su preparación en alimentos, son factores que podrían favorecer la eliminación de estos herbicidas sobre la superficie de los mismos.

En el Cuadro 10 se muestran los valores de LMR establecidos para los estados miembros de la Unión Europea (Codex Alimentarius), Estados Unidos y Japón con el fin de comparar estos valores con los residuos obtenidos en las frutas y vegetales frescos estudiados. La EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) registra valores de LMR para la Am en los cultivos de caña de azúcar, maíz, piña y plátano. El Codex Alimentaius, que legisla el control de los LMR en alimentos establece un mismo valor permisible de las metiltiotriazinas para la mayoría de las frutas y vegetales frescos correspondiente a 0.05 ppm.

Cuadro 10. Límite máximo residual de metiltiotriazinas en las frutas y vegetales reportados por Estados Unidos (EPA), Unión Europea (UE), Reino Unido y Japón.

Fruta/ Vegetal	Ametrina (Am)				Prometrina (Pm)				Terbutrina (Tb)			
	<----------LMR (ppm)---------->											
	EPA[a)]	UE[b)]	Reino Unido[c)]	Japón[d)]	EPA[a)]	UE[b)]	Reino Unido[c)]	Japón[d)]	EPA[a)]	UE[b)]	Reino Unido[c)]	Japón[d)]
Caña azúcar	0.25	NA	0.1*	0.05	-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Maíz (Elote)	0.25	NA	0.1*	0.05	0.25	NA	0.1*	0.02	-	NA	0.1*	-
Naranja	NR	NA	0.1*		-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Papa	NR	NA	0.1*		-	NA	0.1*	0.02	-	NA	0.1*	-
Piña	0.25	NA	0.1*	0.05	-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Apio	NR	NA	0.1*		0.5	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Plátano	0.25	NA	0.1*		-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Tomate*	NR	NA	0.1*		-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-
Cebolla*	NR	NA	0.1*		-	NA	0.1*	0.02	-	NA	0.1*	-
Pi miento*	NR	NA	0.1*		-	NA	0.1*	-	-	NA	0.1*	-

Fuente: [a)] EPA (2017). [b)]Codex Alimentarius (2012); [c) y d)]Promperu (2018). NA: No autorizado su uso, NR: valor no reportado.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Las organizaciones europeas y americanas tienen normas reglamentarias más estrictas en el ámbito alimenticio, por lo que el uso de plaguicidas en cultivos está muy vigilado por dichas organizaciones y por tal motivo es difícil encontrar residuos de plaguicidas en muestras de alimentos. Cabe destacar que la mayoría de los herbicidas empleados en México son prohibidos en Europa y Estados Unidos.

De acuerdo con los valores encontrados de residuos de Am, Pm y Tb utilizados en los cultivos de las frutas y hortalizas analizadas en el presente estudio, se recomienda la supervisión de las BPA para cada tipo de cultivo. También es importante señalar que el contenido de residuos de metiltiotriazinas en el presente estudio son menores a los reportados para otros plaguicidas que se emplean en estos cultivos, por ejemplo los organofosforados y organoclorados, donde la cuantificación de residuos persistente en los frutos y vegetales frescos es mucho más significativa que los residuos de metiltiotriazinas.

Algunos autores como Ribas et al. (1998) señalan que dentro del grupo de las metiltiotriazinas, la Am, Tb y Pm están clasificadas por la OMS como las menos tóxicas y se considera que en condiciones generales de uso aparentemente no implican un riesgo para los humanos. No obstante, otros autores como Tu (1992), Junnila et al. (1993) y Davies et al. (1994) señalan que al acumularse los compuestos xenobióticos de este grupo de triazinas en los tejidos de los vegetales representan un riesgo para la salud del hombre.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

VII. CONCLUSIONES

El método analítico LSE-SPE-HPLC demostró que la pérdida de analitos por las diversas etapas de LSE, la retención de los analitos por el sorbente (SPE) y su elución, no son etapas cruciales en la pérdida de la reproducibilidad del método propuesto por Rodríguez-Gonzalo et al. (2009).

El método propuesto permitió detectar, identificar y cuantificar residuos de metiltiotriazinas a niveles de concentración superiores al 0.005 ppm en las muestras de frutas y vegetales frescos estudiados.

Con base en las concentraciones de Am, Pm y Tb encontrados en distintas muestras de frutas y vegetales frescos, estas cumplieron con los valores del LMR establecidos tanto por la CICLOPLAFEST como por el Codex Alimentarius.

En algunas muestras de frutas y vegetales frescos se detectaron residuos de metiltiotriazinas aun cuando no están autorizado su uso durante su cultivo, esto puede deberse a un mal uso de las BPA, o bien por una contaminación cruzada durante su cosecha, poscosecha, trasporte, distribución y/o comercialización.

El método propuesto es recomendable para el análisis cuantitativo de residuos de metiltiotriazinas en muestras de caña de azúcar, elote (maíz), naranja, piña, papa, plátano, apio, tomate, cebolla y pimiento en fresco, debido a su bajo costo, alta recuperación de analitos (valores superiores al 95%), y simplicidad.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Productos de origen vegetal: Descripción de las muestras primarias y tamaño de las muestras de laboratorio.

Productos de origen vegetal: descripción de las muestras primarias y tamaño mínimo de las muestras de laboratorio			
Clasificación de los productos	**Ejemplos**	**Naturaleza de las muestras primarias que han de tomarse**	**Tamaño mínimo de cada muestra de laboratorio**
Categoría A. productos alimenticios de origen vegetal.			
1.Todas las frutas, tipo 1, grupos 001 – 008 Todas las hortalizas, tipo 2, grupos			
1.1 productos frescos de tamaño pequeño, unidades generalmente < 25 g	Varias bayas guisantes Aceitunas	Unidades enteras, envasadas o tomadas con un instrumento de muestreo	1 kg
1.2 productos frescos de tamaño medio, unidades de 25 – 250 g, generalmente	Manzanas Naranjas	Unidades enteras	1 kg (10 unidades al menos)
1.3 productos frescos de tamaño grande, generalmente unidades > 250 g	Coles Pepinos Uvas (racimos)	Unidades enteras	2 kg (5 unidades al menos)
2.Legumbres, tipo 2, grupo 015	**Soja**		1 kg
Cereales en grano, tipo 3, grupo 020	Arroz, trigo		1 kg
Nueces de árbol, tipo 4, grupo 022	Excepto cocos		1 kg 5 unidades
Semillas oleaginosas, tipo 4, grupo 023	Maní (cacahuate)		500 g
Semillas para la fabricación bebidas dulces, tipo 4, grupo 024	Café en grano		500 g
3.Hierbas aromáticas, tipo 027	Perejil fresco Otros productos	Unidades enteras	0.5 kg 0.2 kg

Fuente: CAC/GL 33-1999 (1999) y Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para Determinación de Residuos de Plaguicidas (Senasica, 2012)

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

IX. LITERATURA CITADA

Albero, R. M. B. (2009). *Determinación de residuos de contaminantes orgánicos en miel y zumos* (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid; Madrid, España.

Albert, L. A. (2005a). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. Ra Ximhai. *Revista de sociedad, cultura y desarrollo sustentable*, *8*(3), 2-3.

Albert, L. A. (2005b). Panorama de los plaguicidas en México. *Retel; Revista toxicológica en línea*. Recuperado de: http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd56/panorama.pdf.

Anzalone, A. (Ed.) (2007). *Herbicidas. Modos y mecanismos de acción en plantas*. Barquisimeto, Venezuela. Editado por la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado.

Arellano-Aguilar, O. y Rendón von, O. J. (2015). La huella de los plaguicidas en México. Greenpeace. Recuperado de web: www.greenpeace.org.mx. DOI: 10.13140/RG.2.2.11406.36168.

Badii, M., Landeros, J. y Cerda, E. (2007). *Manejo sustentable de plagas o manejo integral de plagas: un apoyo al desarrollo sustentable*. Cultura Científica y Económica (CULCYT). Recuperado de: http://erevistas.uacj.mx/ojs/index.php/culcyt/article/view/423.

Bejarano-González F. (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos nuevo tema normativo internacional y su perfil nacional en México. En: Los plaguicidas altamente peligrosos en México. (Bejarano-González F. Ed.). RAPAM, CIAD, Red Temática de Toxicología de Plaguicidas, UAEMEX, INIFAP, UCCS, IPEN, PNUD. México, pp: 10-96.

Benítez, D. P y Miranda, C. L. (2013). Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela y otros países de Latinoamérica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, (29)*, 7-23.

Bray, L.D., Szarka, A. Z., Heard, N, E., Hackett D.S. and Kahrs, R.A. Dietary Exposure Assessment of the Triazine Herbicides. En: *The Triazine Herbicides 50 years*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Revolutionizing Agriculture. En: LeBaron H-M., McFarland, J.E., and Burnside O.C. (Eds). The Triazine Herbicides 50 years Revolutionizing Agriculture. (pp 413-424). San Diego, USA. Elsevier.

CAC/GL 33-1999. (1999). *Manual Técnico de Muestreo de Productos Agrícolas para Determinación de Residuos Plaguicidas*. Codex Alimentarius, Roma, Italia.

Carabias-Martínez R., Rodríguez-Gonzalo E., Miranda-Cruz E., Domínguez-Álvarez J., and Hernández-Méndez J. (2007). Sensitive determination of herbicides in food samples by nonaqueous CE using pressurized liquid extraction. *Electrophoresis*. *28* (20), 3606–3616. DOI: 10.1002/elps.200700254

CASAFE (2010). Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes (CASAFE). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Recuperado de: http://www.casafe.org/publicaciones/.

Caseley J. C. (1996). Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudio FAO; Producción y Protección Vegetal. Roma, Italia. Recuperado de: http://www.fao.org/docrep/t1147s/t1147s00.htm#Contents.

Catálogo de Plaguicidas. (2016). Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. COFEPRIS, México.

CESA, (2012). Centro de Ecogenética y Salud Ambiental. Universidad de Washington, DC. Washintong, USA. Recuperado de: https://depts.washington.edu/ceeh/downloads/FF_Pesticides_SP.pd

CICOPLAFEST. (2012). *Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas.* Catálogo oficial de plaguicidas. México.

Codex Alimentarius, (2015). *Residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos.* FAO/OMS. Roma, Italia. Recuperado de: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/es/.

COFEPRIS (2018). Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. Recuperado de:

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp

Cremlyn, R. J. W. (1991). *Agrochemicals. Preparation and mode of action.* John Wiley & Sons. New York, EUA.

Davies P. E., Cook L.S.J. y Barton J.L. (1994). Triazine herbicide contamination of Tasmanian streams: sources, concentrations and effects on biota. *Australian J. Marine and Freshwater Res.*, (45), 209-226.

De Andrade, D. C. (2008). *Proceso de oxidación avanzada por la radiación ionizante en la degradación del herbicida Ametrina en envases pead descartados*. Instituto de Investigaciones Energéticas y Nucleares. Brasil. DOI:10.11606/D.85.2008.tde-25082009-103607.

ECURED. (2010). Terbutrina. *EcuRed:Enciclopedia cubana* [Versión electrónica]. La Habana, Cuba. EcuRed:Enciclopedia cubana., http://www.ecured.cu.

EPA. 2017. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Español.epa.gov. recuperado de: https://espanol.epa.gov/espanol/control-de-plagas-y-uso-seguro-de-pesticidas-para-consumidores.

FAO. (2006). Perspectivas de la agricultura mundial. Más frutas y hortalizas disponibles en: http://www.fao.org/ag/esp/revista/0606sp2.htm.

FAO. (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Recuperado de: http://www. fao.org/faostat/en/#home 03/02/17

FAO. (2016). Alimentos bien para estar sanos. Manteniendo los alimentos inocuos y nutritivos. Recuperado de: www.fao.org/docrep/019/i3261s/i3261s09.pdf.

FAO. (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT. Recuperado de: http://www. fao.org/faostat/en/#data/EP 03/02/17.

FAO/OMS. (2003). Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos. Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. 94 pp.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Fazla, U. (Julio de 2016). Panoramas de exportaciones agroalimentarias mexicanas. Trabajo presentado en el Congreso Internacional del Tomate, San Luis Potosí, México.

FDA (2003). Food and Drug Administration. *Department of Health and Human Services.* Silver Spring, MD. EUA. Recuperado de: https://www.fda.gov/NewsEvents/InteractiveMedia/default.htm.

Fenik J., Tankiewicz M. and Biziuk M. (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry, 3* (6), 814-826.

Fernández-Álvarez, M., Llompart, M., Lamas, J. P., Lores, M., García-Juárez, C., García-Chao, M., and Dagnac, T. (2010). Simultaneous Extraction and Cleanup Method Based on Pressurized Solvent Extraction for Multiresidue Analysis of Pesticides in Complex Feed Samples. *Agric. Food Chem.*, (57), 3963–3973.

Flores, M. S. (2000). Efectos de los herbicidas metribuzina y ametrina (triazinas) sin y con activación metabólica vegetal *in vivo* sobre la cinética del ciclo celular y el índice mitótico en linfocitos humanos en cultivo. *Revista internacional de contaminación al ambiente, 16*(3), 127-137.

Fraile P., Izu M., Sáiz I., Castiella J., y Pérez de Ciriza J.A. (2009). Análisis de residuos de herbicidas en aguas procedentes de Navarra mediante LC-MS/MS. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 32(3),* 327-340.

Galli, A., De Souza, D., Garbellini, S. G., Coutinho, C. F. B., Mazo, L. H., Avaca, A. L. y Machado, S. S. A. (2006). Utilización de técnicas electroanalíticas para la determinación de plaguicidas en alimentos. *Quim. Nova, 29* (1), 105-112.

García H.J., Leyva M. J. B., Martínez R., I. E, Hernández O.M.I., Aldana M. M. L., Rojas G. A. E., Betancourt L. M, Pérez H. N. E, Perera R. J. H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. Rev. Int. Contam. Ambie., (34), 29-60. DOI: 10.20937/RICA.2018.34.esp01.03.

Guerrero, A., J. (2003). Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Agronomía Colombiana, 21*(3), 198-209.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Gutiérrez de Salazar, M., y Medina, L. A. (2016). *encolombia.com*. Triazinas en urgencias toxicológicas. Guías para Médicos. Recuperado de: https://encolombia.com/medicina/guiasmed/u-toxicologicas/triazinas/

Hernández, A. A., y Hansen, A. M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista Internacional de Contaminación al Ambiente, 27* (2), 115-127.

Hernández, F., Sancho, J. V., Pozo, O., Lara, A. and Pitarch, E. (2001). Rapid direct determination of pesticides and metabolites in environmental water samples at sub-microg/l level by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.*, (939),1-11.

Herranz de Andrés, S. y Moreno, B. M. C. (2013). *Nuevas herramientas analíticas para la determinación de contaminantes en el medio ambiente y en alimentos* (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas. Madrid, España.

Juan A, Picó Y., y Font G. (2003). Revisión de los métodos de determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en alimentos. *Revista Toxicológica,* (209), 166-175.

Junnila S., HeinonenTanski H., Ervio L. R. y Laitinem P. (1993). Phytotoxic persistence and microbiological effects of metribuzin in different soils. *Weed Res.*, (33), 213-223.

Karam, M. A., Ramírez, G., Bustamante, M. L. P., y Galván, J. M. (2004). Plaguicidas y salud de la población. *Ciencia Ergo Sum*, *11* (3), 246-254.

Kuster, M., López de Alda, M., and Barceló, D. (2006). Analysis of pesticides in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometric techniques. *Mass Spectrom Rev*, (25) 900-916.

Lambropoulou, D. A. and Albanis, T. A. (2007). Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography–mass spectrometry-based techniques. *A review. Anal Bioanal Chem.*, (389), 1663–1683.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Laso, S., Martínez, E. y Escalona, F. (2015). greenpeace.org. Agrotóxicos "La mancha en tu comida". Greenpeace, México. Recuperado de: https://www.greenpeace.org/archive-mexico/Global/mexico/report/2015/mancha-en-tu-comida.pdf.

Mazzarella, D. (2016). *Residuos de productos fitosanitarios. Criterios regulatorios locales e internacionales. Volumen 4.* Serie de Informes Especiales ILSI Argentina. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Medina, V. A., Guridi, G. M. Z., Ramón, G. F. y Pérez, M. M. A. (2007). Comportamiento del consumo de vegetales en adolescentes de un área de salud. *Revista PsicologiaCientifica.com, 9(26).* Recuperado de: http://www.psicologiacientifica.com/comportamiento-consumo-de-vegetales-adolescentes.

Miranda-Cruz, E. (2006). *Electroforesis capilar en medios no acuosos. Posibilidades analíticas en la determinación de contaminantes medioambientales* (Tesis Doctoral). Universidad de Salamanca, España.

Miranda-Cruz. E., Carabias-Martínez. R., Rodríguez-Gonzalo. E., Domínguez- Álvarez. y Hernández-Méndez. (Octubre, 2010). Determinación preliminar de residuos de herbicidas en productos agroalimentarios frescos mediante PLE – SPE – NACE. V *Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Dr. Mario Yanes García,* llevado a cabo en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.

Müller, G. y Switzerland, B. (2008). History of the Discovery and Development of Triazine Herbicides. En LeBaron H-M., McFarland, J.E., and Burnside O.C. (Eds). *The Triazine Herbicides 50 years Revolutionizing Agriculture.* (pp 13-29). San diego, USA. Elsevier.

Nieto, G. J. A. (2013). *Determinación de plaguicidas en nutracéuticos procedentes de hojas de té* (Trabajo Fin de Máster de la Universidad de Almería). Universidad de Almería, Almeria, España.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

NOM-008-FITO-(1995). Norma Oficial Mexicana por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarios para la importación de frutas y hortalizas frescas.

NOM-057-FITO-(1995). Norma Oficial Mexicana por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para emitir el dictamen de análisis de residuos de plaguicidas.

Ohaco, P., Vitulich, G., Cuevas, M., Ruiz, C. e Iglesias, N. (2010). Programa regional: uso racional de agroquímicos en horticultura. Neuquén y Río Negro. (Instituto Nacional de Tecnología Industrial, INTI), 30-31.

OMS. (2015). Organización Mundial de la Salud. Nota descriptiva N°399. Diciembre de 2015. Recuperado de: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/#

OMS. (2016). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Recuperado de: http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/

Pérez, M. A., Navarro, H. y Miranda, C. E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgo en México. *Revista Internacional Ambiental,* (29), 45-64.

Pineda, P.M. C. (2017). Historia de los plaguicidas en la agricultura y la ganadería. Recuperado de: https://agroecologiatropical.wikispaces.com/file/view/Historia.de.los.Plaguicidas...pdf. Consultado el 15 de Mayo de 2017.

Pintado, B. S. (2010). *Estudios electroquímicos de herbicidas imidazolinónicos, triazinicos y quinolínicos* (Tesis Doctoral). Universidad de Córdoba. España.

Pinto, G. M. F. and Jardim, I. C. S. F. (2000). Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. J. *Chromatgraphy A.*, (869), 463-469.

Promperu. 2018. *Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo*. Límite máximo de residuos de plaguicidas (LMR). San Isidro Lima, Perú. Recuperado de: http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?scriptdo=cc_glosario&pLetra=L&_portletid_=SGlosario&_page_=155.00000.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Ramírez, J. A. y Lascaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Instituto Nacional de la Salud Pública. *Archive Preview Riesgos Labor*, *4* (2), 67-75.

Ramos L. (2012). Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. *Review Journal of Chromatography A.*, *12* (21), 84–98.

Ribas G., Surrallés J., Carbonell E., Creus A., Xamena N. y Marcos R. (1998). Lack of genotoxicity of the herbicide atrazine in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.*, (416), 93-99.

Rodríguez-Gonzalo E., Carabias-Martínez R., Miranda-Cruz E., Domínguez-Álvarez J. y J. Hernández-Méndez (2009). Ultrasonic solvent extraction and NACE for the determination of herbicide residues in potatoes. *Journal of Separation Science,* (32), 575–584.

Rubira, R. J. G. (2016). *Detección de los herbicidas Atrazina y Prometrina vía espacio Raman amplificado en superficie* (*SERS*) (Tesis de Maestría). UNESP- Universidad Estadual Paudista, Brasil.

Sancho, J. V., Pozo, O. and Hernández, J. (2004). Liquid chromatography and tandem mass spectrometry: a powerful approach for the sensitive and rapid multiclass determination of pesticides and transformation products in water. *J. Analyst.* (129) 38-44 pp.

SANCO, D.G. (2005). European Commission Directorate General for Health and Consumer Affairs. The scope for extending extrapolations to reduce the need for plant protection residues trials on minor crops. European Comission. SANCO/D3/SI2.396179. Brussels. Belgium. Recuperado de: http://archives.eppo.int/MEETINGS/2006_meetings/minor_uses/minorcrops%20extrapolation%20residues.pdf.

Sathiakumar N. y Delzell E. (1997). A review of epidemiologic studies of triazine herbicides and cancer. Crit. Rev. Toxicol., (6), 599-612.

SENASA (2017). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Recuperado en Abril 22, 2018, de: http://www.senasa.gob.ar/sites/defaul/files/ARBOL

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

SENASA/INFORMACIN/NORMATIVA/RESOL Y ANEXOS/file4292-anexo-1.pdf

SENASICA (2012). *Manual técnico de muestreo de productos agrícolas para la determinación de residuos plaguicidas.* Recuperado de: http://www.senasica.gob.mx/ Consultado el 21 de mayo de 2013.

SENASICA (2013). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Recuperado de: http://www.senasica.gob.mx/ . Consultado el 21 de mayo de 2013.

SIAP (2016). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA, México. (2012-2015). Recuperado de: infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php

Soto, V. M. (2011). *Estudio de residuos de plaguicidas en alimentos*. Subsecretaría de Salud Pública; Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública. Santiago, Chile.

Stoytcheva, M. and Zlatev, R. (2011). Organophosphorus Pesticides Analysis, *Pesticides in the Modern World. Trends in Pesticides* Analysis. *InTech*. Recuperado de: http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticides-analysis/organophosphorus-pesticides-analysis. DOI: 10.5772/20892.

Tadeo, J. L., Sánchez-Brunete, C., Pérez, R. A. and Fernández, M. D. (2000). Analysis of herbicide residues in cereals, fruits and vegetables. *Journal of Chromatogr. A. 882*(1-1), 175-191.

Trevisan, J. (2006). *Determinación de tiocompuestos por voltametría y volumetría en matrices salinas* (Tesis de Doctorado). Universidad de Sao Paulo, Brasil.

Trigos, Á., Ramírez, K. y Salinas, A. (2008). Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de Micología*, (28), 125-129.

Tu C. M. (1992). Effect of some herbicides on activities of microorganisms and enzymes in soil. *J. Environ. Sci. Health*, (27), 695-709.

Tuesca, D. (2017). Triazinas, ureas y uracilos. Recuperado de: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portalIG/home_4/mod_virtuales/modulo3/4.pdf. Consultado el 04 de Agosto 2017.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Uauy, R. (2006). Importancia de las frutas y verduras en la prevención de enfermedades crónicas. *Revista chilena de nutrición*, *33*(1), 1-3.

Uzal, V. R. (2016). Determinación de herbicidas triazínicos y sus metabolitos en el medio marino (Memoria de trabajo fin de curso). Universidad de Coruña, Coruña, España.

Varela Fuentes, S. E. y J. C. Martínez González. (2006). Seguridad, calidad e inocuidad alimentaria para México. *Tu Revista Digi.U@T*, *1*(1), 1-15. Recuperado de: http://www.turevista.uat.edu.mx/normas.htm. Consultado en Mayo 25, 2013.

WHO (1999). *Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture*. World Health Organization. Ginebra, Suiza. Recuperado de: http://www.who.int/heli/risks/toxics/. Consultado el 05 de Marzo de 2013.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

54 palabras — 1%

11	www.coursehero.com Internet	40 palabras — < 1%
12	doczz.es Internet	38 palabras — < 1%
13	repositorioacademico.upc.edu.pe Internet	37 palabras — < 1%
14	ftp.isdi.co.cu Internet	31 palabras — < 1%
15	panoramaruralahora.blogspot.com Internet	30 palabras — < 1%
16	repository.javeriana.edu.co Internet	29 palabras — < 1%
17	www.scielo.cl Internet	29 palabras — < 1%
18	documentop.com Internet	28 palabras — < 1%
19	kipdf.com Internet	28 palabras — < 1%
20	repositorio.unp.edu.pe Internet	26 palabras — < 1%
21	tox.umh.es Internet	25 palabras — < 1%
22	www.repositorio.usac.edu.gt Internet	25 palabras — < 1%

www.slideshare.net

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

23	Internet	24 palabras — < 1%
24	aulavirtualhistorico.ins.gob.pe Internet	22 palabras — < 1%
25	dspace.unl.edu.ec Internet	21 palabras — < 1%
26	pestreg.cdpr.ca.gov Internet	21 palabras — < 1%
27	uninet.mty.itesm.mx Internet	21 palabras — < 1%
28	ri.ues.edu.sv Internet	20 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS	ACTIVADO	EXCLUIR FUENTES	DESACTIVADO
EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA	ACTIVADO	EXCLUIR COINCIDENCIAS	< 20 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.