

# DISRUPTORES ENDOCRINOS EN CEREALES

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**GRADO EN FARMACIA**

**CURSO 2019-2020**

ALUMNO: FRANCISCO JAVIER DE YBARRA DE LORENZO-CÁCERES

TUTOR: MIGUEL ÁNGEL RODRÍGUEZ DELGADO

COTUTOR: RUTH RODRÍGUEZ RAMOS

# ÍNDICE

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>4</b>
<b>1.INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. DISRUPTORES ENDOCRINOS .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. TIPOS DE PLAGUICIDAS .....</b>	<b>6</b>
<b>1.3. IMPORTANCIA DE ANALIZAR PLAGUICIDAS.....</b>	<b>7</b>
<b>1.4. LEGISLACIÓN DE PLAGUICIDAS .....</b>	<b>8</b>
<b>1.5. PAPEL DE LOS CEREALES EN LA ALIMENTACIÓN. ....</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>9</b>
<b>3.MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>9</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE PLAGUICIDAS MÁS EMPLEADOS</b> <b>.....</b>	<b>10</b>
<b>4.2.MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS MÁS EMPLEADOS.....</b>	<b>12</b>
<b>5. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>19</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA: .....</b>	<b>20</b>

## ABSTRACT

Endocrine disruptors are chemical compounds that are found in multitude of alimentary products we consume in daily life, being able to produce different alterations in our body, specifically, in our endocrine system, thus also being able to give rise to health problems like reproductive difficulties, neurological disorders, or cancer, among others. As a consequence, a series of regulations have been established that promote their control and ensure that these compounds are below a certain limit for the welfare of the consumer.

This control is carried out by means of a series of analytical methods in which, firstly the analyte is extracted from the sample and subsequently quantified after undergoing a chromatographic process using a specific detector. So that, a key step in the determination is based on the correct choice of the extraction method on the analyte to be determined and the nature of the sample. Thus, the development of this work has focused on the study of the different extraction procedures for the determination of pesticides in cereals, seeking to clarify which is the most effective methodology for an effective evaluation of these substances.

**Key words:** endocrine disruptors, pesticides, cereals, extraction methods.

## RESUMEN

Los disruptores endocrinos son compuestos químicos que se hallan en multitud de productos alimenticios de consumo diario, siendo capaces de producir diferentes alteraciones en nuestro organismo, especialmente en el sistema endocrino y, pudiendo así dar lugar a problemas de salud como dificultades en la reproducción, alteraciones neurológicas o cáncer, entre otras. Como consecuencia de ello se han establecido una serie de normativas que promueven su control y aseguren que estos compuestos se encuentren por debajo de un límite determinado para la seguridad del consumidor.

Dicho control es llevado a cabo mediante una serie de métodos analíticos en los cuales, en primer lugar, el analito es extraído de la muestra para posteriormente ser cuantificado tras someterse a un proceso cromatográfico utilizando un detector específico. De manera que, un paso clave en la determinación se basa en la correcta elección del método de extracción en función del analito a determinar y de la naturaleza de la muestra. Así pues, el desarrollo del presente trabajo se ha enfocado en el estudio de los diferentes procedimientos de extracción para la determinación de plaguicidas en cereales, buscando clarificar cuál es la metodología más eficaz para una evaluación eficaz de estas sustancias.

**Palabras claves:** disruptores endocrinos, plaguicidas, cereales, métodos de extracción.

# 1.INTRODUCCIÓN

## 1.1. DISRUPTORES ENDOCRINOS

Los disruptores endocrinos son todos aquellos compuestos químicos que presentan en común la propiedad de alterar el equilibrio hormonal del sistema endocrino de los organismos. Dicha alteración se basa en el bloqueo de la acción hormonal, ya sea por la competición con el receptor hormonal, la suplantación de las hormonas endógenas, o por medio del aumento o disminución de los niveles de actividad hormonal. Este desequilibrio del sistema endocrino puede dar lugar a consecuencias neurológicas o reproductivas en los seres vivos, ya que las hormonas están implicadas en el control de la reproducción, la diferenciación sexual, la coordinación de órganos, la organización del cerebro, y el metabolismo, entre otras. Por tanto, representan un potencial peligro durante la fase de gestación y en las etapas iniciales de la vida. Estos compuestos, se encuentran tanto en el agua y el aire, como en todo tipo de productos cotidianos de uso doméstico, médico, industrial y agrícola [1].

La lista de estos compuestos se ha incrementado a lo largo de los años, en un informe del 2012 de la OMS apunta a unos 800 compuestos [2].

En cuanto a los tipos de disruptores podemos destacar:

- Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs): son compuestos formados durante una combustión incompleta de sustancias orgánicas en procedimientos que incluyan el ahumado, secado o calentamiento de alimentos como carnes y pescados [3].
- Plaguicidas: la FAO define los plaguicidas como “cualquier sustancia o mezcla de sustancias de ingredientes químicos o biológicos destinados a repeler, destruir o controlar cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales” [4].
- Dioxinas: grupo de compuestos químicos que son denominados contaminantes ambientales persistentes, que se encuentran, principalmente, en productos cárnicos y lácteos, pescados y mariscos. Hay que tener especial control por su elevado potencial tóxico [5].

- Ftalatos: son compuestos químicos sintéticos, utilizados como plastificadores para dar flexibilidad y elasticidad a envases de plástico o utensilios de cocina y perfumes, lacas o cremas de piel, entre otros [6].
- Bisfenoles: son sustancias químicas que se encuentran en bebidas de policarbonato, contenedores, botellas, revestimiento de alimentos y bebidas enlatadas [7].
- Fitoestrógenos: son compuestos que se producen de forma natural en los vegetales, incluyendo, entre otras, numerosas verduras, frutas y cereales. A su vez, estos pueden ser clasificados en tres clases: isoflavonas, cumestranos y lignanos [8].

## **1.2. TIPOS DE PLAGUICIDAS**

Los plaguicidas orgánicos más importantes son:

- Derivados halogenados: compuestos que poseen un átomo de cloro en su molécula, altamente tóxico para insectos. Dentro de este grupo de compuestos el más importante es el DDT sintetizado en 1874, y usado en el sector agrícola desde la finalización de la II guerra mundial. Debido a su acumulación, persistencia y toxicidad en el medio se ha restringido su uso [9].
- Compuestos organofosforados: ésteres y amidas del ácido fólico, tiofosfórico, difosfórico y fosfónico. Pertenecen a la familia de los insecticidas, pero a su vez se pueden incluir como nematicidas, fungicidas y herbicidas. Su componente activo es el pirofosfoato de tetraetilo (TEPP) siendo los compuestos más utilizados el paratión y metilparatión [9].
- Carbamatos: derivados del ácido carbámico, tiocarbámico y ditiocarbámico. Poseen actividad insecticida y herbicida [9].
- Derivados de urea: y también tiourea. Poseen propiedades herbicidas y se utilizan para esterilizar terrenos y evitar el crecimiento de plantas. Impiden el proceso normal de fotosíntesis siendo los más destacados el linurón y fenurón [9].
- Triazinas: compuesto heterocíclico con gran actividad herbicida. Actualmente utilizado a escala mundial, pero con uso cada vez más restrictivo siendo el más representativo la atrazina [9].

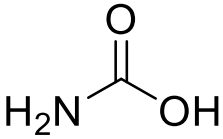
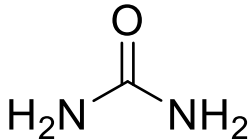
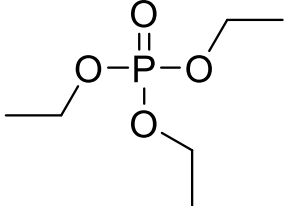
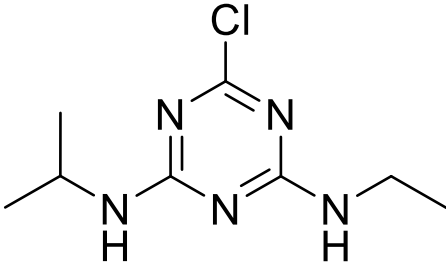
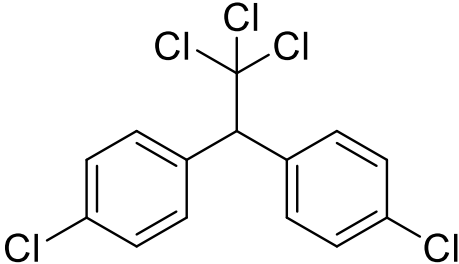
		
ÁCIDO CARBÁMICO	UREA	TEPP
		
ATRAZINA		DDT

FIGURA 1 ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE ALGUNOS PLAGUICIDAS

### 1.3. IMPORTANCIA DE ANALIZAR PLAGUICIDAS

La determinación y evaluación de plaguicidas en productos agroalimentarios resulta fundamental de cara a salvaguardar la salud de los consumidores. Dentro de los múltiples productos que consume la población se presta especial atención a aquellos que se consumen frecuentemente como es el caso de los cereales. Dado los diversos problemas de salud que producen se requieren estudios muy exhaustivos para determinar los efectos que puede conllevar su ingesta [10 y 11].

El órgano responsable de la evaluación de los residuos de plaguicidas en los alimentos es el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), un grupo internacional e independiente de expertos científicos. En las evaluaciones se tiene en cuenta todos los datos presentados para solicitar el registro de plaguicidas en todos los países, así como todos los estudios científicos publicados en revistas arbitradas. Tras evaluar el nivel de riesgo, JECFA establece límites para la ingesta sin riesgos de residuos de plaguicidas en los alimentos, de modo que una persona pueda ingerirlos en el transcurso de su vida sin que represente un perjuicio para su salud [12]. A pesar de dicho control, la intoxicación alimentaria por plaguicidas debido a restos de ellos en alimentos

produce un 14% de las intoxicaciones totales. Los efectos principales que ocasionan esta intoxicación son molestias faríngeas, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, tenesmo rectal y estreñimiento [13].

#### **1.4. LEGISLACIÓN DE PLAGUICIDAS**

Debido al gran uso de plaguicidas y su mayoría de alta toxicidad, ha dado lugar a implantar una serie de normas y usos para minimizar los riesgos y peligros que este conlleva.

A nivel internacional la FAO, desde 1985, regula el manejo de plaguicidas con el Código Internacional de Conducta para la distribución y utilización de plaguicidas (CoC, acrónimo del inglés *Code of Conduct*), documento internacional que recoge una serie de pautas para el manejo de plaguicidas [14].

En la Unión Europea, todos los alimentos de consumo humano o animal están sujetos a un límite máximo de residuos (LMR) de plaguicidas en su composición, con el fin de proteger la salud humana y animal [15]. Estas normas están recogidas en el Reglamento (CE) nº 396/2005 del Parlamento Europeo, en el cual se incluyen los LMRs específicos en ciertos alimentos destinados a personas o animales, y un límite general de 0,01 mg/kg aplicable cuando no se haya fijado ningún LMR. Este Reglamento se va modificando y actualizando en función de los estudios toxicológicos, siendo la última actualización el 17/10/2019 [16 y 17].

#### **1.5. PAPEL DE LOS CEREALES EN LA ALIMENTACIÓN.**

Diferentes patologías tales como la diabetes, algunas cardiopatías, accidentes cerebrovasculares o incluso algunos tipos de tumores han sido relacionados con una dieta poco equilibrada. Es por ello, que se recomienda una dieta saludable y variada para evitar la aparición de dichas patologías y dado que los cereales constituyen uno de los alimentos fundamentales para ese equilibrio, una evaluación de los residuos de plaguicidas en este tipo de alimento resulta fundamental [18 y 19]. Está bien descrito que son una importante fuente de vitaminas y minerales, además de que proporcionan un importante aporte de proteínas, fibras e hidratos de carbono [20]. Los cultivos de cereales comprenden más del 60% de la producción agrícola en todo el mundo. Entre los cereales el trigo, el arroz y el maíz son los más destacados [21]. El consumo de cereales mundial anual per cápita es de 317 kg y se espera que este siga en aumento [22].



En Canarias, los cereales han sido la principal fuente de alimento, debido a su bajo coste y su alto valor nutricional, en especial el gofio, que se obtiene de la molienda de granos tostados de trigo y maíz. Este alimento, presenta un alto contenido en fibra, vitaminas B1, B2 y D, y minerales como hierro, potasio, zinc y magnesio. A pesar de todos estos beneficios, el consumo de gofio se ha visto reducido en las últimas décadas debido a los cambios de alimentación de la población, aunque se fomenta cada vez más su consumo no sólo en Canarias sino en países africanos [ 23 y 24].

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado es establecer las metodologías más adecuadas para el análisis de plaguicidas en muestras de cereales para hacer una evaluación del riesgo alimentario. Para llevar a cabo este objetivo, se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- Búsqueda de los procedimientos para el análisis de plaguicidas en cereales.
- Selección del método analítico más adecuado para su posterior análisis.

## **3.MATERIAL Y MÉTODOS.**

Para la elaboración de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica utilizando base de datos de búsqueda como PubMed (perteneciente al National Center for Biotechnology Information (NCBI)), Web of Science y Google Scholar para una búsqueda más general. Además, se ha hecho uso de páginas web oficiales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ó la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) entre otras.

Las palabras de búsqueda empleadas incluyen: “endocrine disruptor”, “cereals”, “method QuEChERS”, “SPME”, “SPE”, “LLE”, “MSPD”, “pesticides”, “cromatografía de gases”, “cromatografía líquida” “electroforesis capilar” .

Se consultaron tanto trabajos originales como revisiones, disponibles en lengua inglesa o española. A su vez, la bibliografía se amplió mediante la consulta manual de algunas de las referencias citadas en los artículos analizados.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el análisis de plaguicidas en muestras de alimentos, una vez obtenida la muestra a analizar se procede a un tratamiento de esta, que consta de un proceso de extracción de los plaguicidas a determinar para posteriormente llevar a cabo su análisis mediante una técnica cromatográfica, ya sea cromatografía de gases o cromatografía líquida de alta eficacia [25].

### 4.1. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE PLAGUICIDAS MÁS EMPLEADOS

Las técnicas de extracción más destacadas son la extracción líquido-líquido (LLE, siglas del inglés *liquid-liquid extraction*), extracción en fase sólida (SPE, siglas del inglés *solid-phase extraction*), aunque también cabe destacar la extracción en fase sólida dispersiva (dSPE, siglas del inglés *dispersive solid-phase extraction*), la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD, siglas del inglés *matrix solid-phase dispersion*) o la microextracción en fase sólida (SPME, siglas del inglés *solid-phase microextraction*). Dentro de todos estos procedimientos hay que destacar el método QuEChERS que es una combinación de LLE y dSPE.

- LLE: se utilizan dos disolventes que son inmiscibles entre sí. Los compuestos se distribuyen entre dos disolventes en función de su solubilidad. Tras el proceso de extracción los compuestos pasan a la fase orgánica que posteriormente se inyecta en el sistema cromatográfico. Es una extracción rápida y sencilla, que se utiliza a veces como etapa previa en el proceso de preparación de las muestras [26].
- SPE: técnica de preparación y tratamiento de muestras que está basada en la retención selectiva de los analitos en una fase adsorbente y en su posterior elución, utilizando un disolvente. Una vez eluidos los compuestos con el disolvente adecuado, se evapora, se reconstituye con la fase móvil y se inyecta una alícuota en el sistema cromatográfico [27 y 28].

- dSPE: en este proceso la extracción no se lleva a cabo en columnas o cartucho como la SPE, sino que se produce mezclando directamente la muestra con la fase estacionaria y después de un determinado tiempo se separa la fase estacionaria con los analitos adsorbidos y se procede a la elución de los compuestos con un disolvente. Su ventaja es la reducción del tiempo de tratamiento de la muestra [29].
- SPME: mediante esta técnica de extracción los analitos se extraen de la matriz de naturaleza líquida o gaseosa mediante una fibra de sílice fundida que está recubierta de un adsorbente, normalmente polimérico, seguido de la desorción de los analitos mediante variaciones en la temperatura y disolvente orgánico de extracción. Según la polaridad de la fase sólida, podrá retener un tipo u otro de pesticidas, se emplea utilizando fibras de poliacrilato para la extracción de compuestos polares y polidimetilsiloxano para apolares. Usualmente para aumentar la velocidad y rendimiento, se incrementa la temperatura aunque en algún caso puede provocar la degradación de algún plaguicida [30].
- MSPD: consiste en homogenizar en un mortero la muestra con un agente dispersante (sólido abrasivo) con el objetivo de garantizar el proceso de disrupción de la muestra. Cuando se completa la dispersión, el material finamente homogenizado se transfiere a una columna para eliminar las interferencias y eluir los analitos directamente con un disolvente apropiado [31].
- Método QuEChERS: Las siglas de este método que significan rápido, fácil, efectivo, económico, robusto y seguro (del inglés *Quick, Easy, Effective, Cheap, Rugged, Safe*). Diseñado en 2003 por Michelangelo Anastassiades bajo la supervisión del Dr, Steven J. Lehotay. Es un método basado en la combinación de dos fases, una primera de extracción y una segunda de dSPE. En primer lugar, se toman 10 g de muestra previamente triturada y homogeneizada y se le añade 10 mL de acetonitrilo (ACN). Este disolvente miscible extraerá los plaguicidas. A continuación, se adicionan 4 g de MgSO<sub>4</sub> anhidro para eliminar el agua procedente de la matriz, lo que provoca una fuerte reacción exotérmica, alcanzando temperaturas próximas a los 40 °C, que favorece la extracción de los compuestos.

A su vez, en conjunto con el  $\text{MgSO}_4$  se añade 1 g de  $\text{NaCl}$ , que favorece la extracción de los analitos más polares, a través del efecto conocido como *salting-out*, efecto producido por las moléculas de  $\text{NaCl}$  de la solución, las moléculas de agua son atraídas y disminuyen las que se encontraban libres en el sistema mejorando así la actividad de la especie extraída. A continuación, se centrifuga, y con una alícuota del sobrenadante, se lleva a cabo una segunda etapa de limpieza, para eliminar el agua residual y otros posibles interferentes (azúcares, lípidos, proteínas, pigmentos, etc) mediante dSPE, añadiendo nuevamente  $\text{MgSO}_4$  anhidro y N-propiletildiamina (PSA, acrónimo del inglés *primary-secondary amine*), seguido de una segunda centrifugación. Tras estas dos etapas la muestra estará lista para ser analizada cromatográficamente, tras llevar a cabo un cambio disolvente (si fuera necesario) en función de la compatibilidad disolvente-cromatógrafo [32 y 33].

## 4.2.MÉTODOS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS MÁS EMPLEADOS

Hoy en día, el mercado exige un riguroso control de los alimentos para que estos no constituyan un riesgo para la población por lo que debemos contar con técnicas analíticas cada vez más sensibles y selectivas que nos permitan detectar estos agentes dañinos. Para determinar su presencia, se utilizan técnicas cromatográficas que nos permite separar los compuestos de interés presentes en la muestra. Dependiendo de las características de los analitos, y una vez preparado el extracto se procede a su identificación o cuantificación utilizando diferentes técnicas:

- **Cromatografía líquida (LC):** Indicada para la separación de compuestos orgánicos semivolátiles, ya que permite determinar analitos que no se pueden llevar a cabo por GC debido a su falta de volatilidad o polaridad. Consiste en una separación utilizando una columna con una fase estacionaria apolar (columna) y una fase móvil de polaridad media-alta, Generalmente se emplean columna C18 y como fases móviles acetonitrilo/agua con pequeños porcentajes de ácido. Los sistemas de detección más utilizados con objeto de garantizar la validez de los resultados se basan en detectores de espectrometría de masas [34].

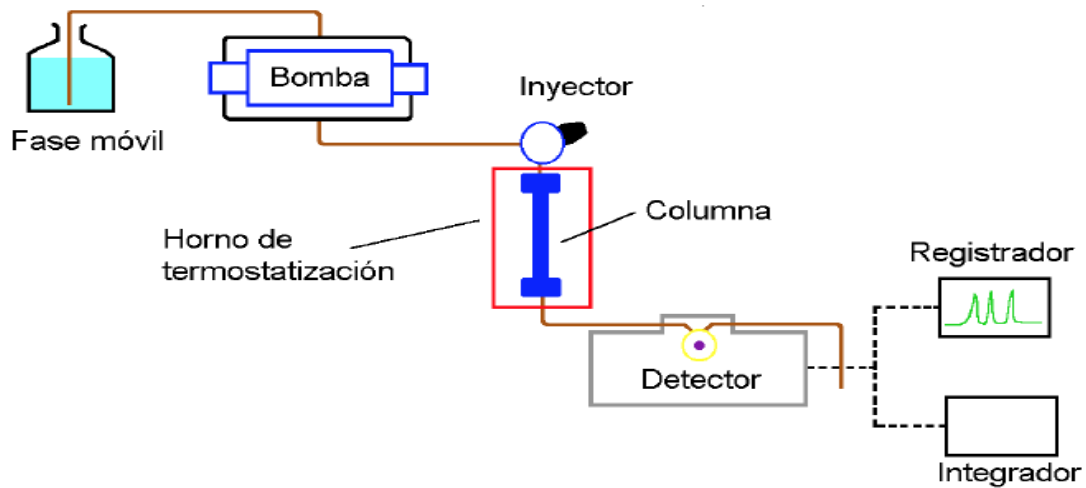


FIGURA 2 EQUIPO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA [34]

- Cromatografía de gases (GC): introducida en 1952 gracias a la colaboración de A.J. Martín y A.T. James, permite separar e identificar compuestos volátiles en mezclas complejas, siendo la fase móvil un gas y la fase estacionaria un líquido o un sólido fijo o en muchos casos una mezcla de ambos. Los compuestos una vez separados se determinan ya sea con un detector convencional selectivo (FID, NPD, etc.) o un espectrómetro de masas en tándem [35].

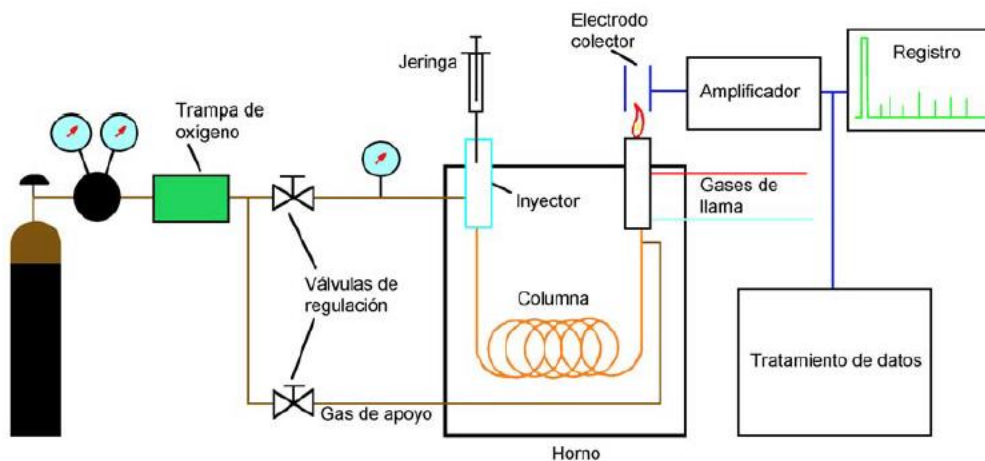


FIGURA 3 EQUIPO DE CROMATOGRAFIA DE GASES [35]

- Electroforesis capilar (EC): técnica de separación de compuestos basada en la migración diferencial de moléculas por su carga y tamaño, las cuales están sujetas a un campo eléctrico en un capilar menor a 50 micras de diámetro. Esta técnica se emplea en el área de alimentos al fraccionamiento y cuantificación de aminoácidos, hidratos de carbono, ácidos orgánicos, aditivos y contaminantes,

aunque también se ha utilizado con éxito en la determinación de plaguicidas [36,37 y 38].

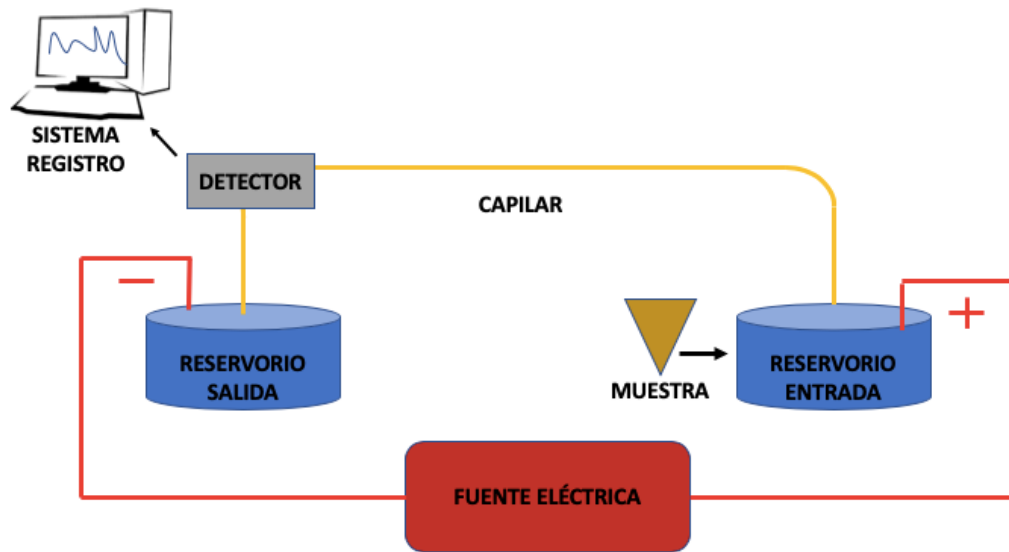


FIGURA 4 EQUIPO DE ELECTROFORESIS CAPILAR

En la siguiente tabla se recoge una serie de resultados obtenidos en diferentes estudios de plaguicidas en cereales, con diferentes métodos de extracción y distintos análisis cromatográficos.

TABLA 1 RESULTADOS DE ESTUDIOS ANALITICOS DE PLAGUICIDAS EN CEREALES

Analito	Muestra	Método de extracción	Recuperación %	LOQ µg kg	RSD %	Análisis	Ref
<b>Atrazina</b>	Cereales en cerveza	dSPE	70-93	0,006	<9,2	GC-MS	[39]
<b>Triazina</b>	Cereales	LLE y SPE	70-112	-	<13,5	LC-MS	[40]
<b>Atrazina</b>	Cereales para bebes	SPE	92-98	0,07	<9	LC-MS	[41]

<b>OPP</b>	Cereales	SPME	82 - 98	0,3-10	<9	LC-MS	[42]
<b>OPP</b>	Gofio	QuEChERS	88-104	41,3	7,2	GC-NPD	[43]
<b>Carbendazim</b>							
<b>Malation</b>	Harina						
<b>Triadiminol</b>	trigo	QuEChERS	70-120	3,6-12	<20	LC-MS	[44]
<b>Clorpirifos</b>	integral						
<b>Pirimifos-metilo</b>							
<b>Sulfóxido edifenfos etiolato</b>	Maíz Harina de trigo	QuEChERS	70-120	5	<20	GC-MS	[45]
<b>metamidofos</b>	Arroz						
<b>Pirimifos tebuconazol diclorofluanida deltametrina</b>	Cereales	QuEChERS	70-120	-	<20	GC-MS	[46]
<b>Glifosato ac.fosfónico</b>	Avena	QuEChERS	70-120	20	<20	LC-MS	[47]
<b>Malatión disulfoton</b>							
<b>Clorpirifos Cadusafos etoprop pirimifosmetilo</b>	Trigo maíz	QuEChERS	71-110	0,07	<9	GC-MS	[48]

Tal y como queda recogida en la **tabla 1**, el método QuEChERS es con el que se obtienen mejores recuperaciones, por lo que es óptimo para la extracción de plaguicidas para su posterior análisis por LC o GC

En la siguiente tabla (**tabla 2**) se muestran los resultados obtenidos por otros autores en el análisis de plaguicidas en muestras de cereales y derivados. En la misma se

incluyen los principales plaguicidas encontrados, así como sus niveles de concentración. Entre los plaguicidas encontrados destaca el pirimifos-metilo y triazinas. Los contenidos oscilaron entre 0,08-65 ug/kg para el pirimifos-metilo y entre 0,013-5 ug/kg para triazinas.

**TABLA 2 PLAGUICIDAS ENCONTRADOS EN MAYOR PROPORCIÓN EN LAS MUESTRAS DE CADA ESTUDIO.**

<b>Muestra</b>	<b>Analito</b>	<b>Concentración ug/kg</b>	<b>Referencia</b>
<b>Cerveza</b>	Atrazina	2,5	[39]
<b>Cereales</b>	Triazina	0,013-0,98	[40]
<b>Cereales</b>	Atrazina	0,5-5	[41]
<b>cebada</b>	Pirimifos-metilo	10	[42]
<b>Gofio</b>	Pirimifos-metilo	65	[43]
<b>Harina trigo</b>	Pirimifos-metilo	10	[44]
<b>Maíz arroz</b>	Isoprotiolano	9,5	[45]
<b>Cereales</b>	Pirimifos-metilo	9-50,8	[46]
<b>Avena</b>	Ácido fosfónico	23-300	[47]
<b>Cereales</b>	Pirimifos-metilo	0,08	[48]

En un estudio realizado por *Zeying He* et al en 2014 se llevo a acabo el análisis de 219 plaguicidas presentes en muestras de cereales, concretamente maíz, harina de trigo y arroz. En primer lugar, se realizó una extracción por el método QuEChERS, posteriormente la muestra se analizó por cromatografía de gases con espectrometría de masa en tándem. Los limites de cuantificación oscilaban 5 y 50 µg kg<sup>-1</sup>. Las



recuperaciones variaron entre 70-120% con valores  $RSD \leq 20\%$  lo que está de acuerdo con lo recomendado según la guía SANTE [49]. Los investigadores encontraron que todos los plaguicidas estaban por debajo de los límites máximos permitidos y demostraron que este proceso era idóneo para el control de residuos de plaguicidas [45].

En otro estudio, realizado por *Stanisław Walorczyk* et al 2008, se analizaron 140 plaguicidas en cereales. Este fue analizado por el mismo procedimiento que el anterior, en muestras de trigo, heno, salvado. Se obtuvieron recuperaciones entre el 70-120% con valores  $RSD \leq 20\%$ . Se vuelve a demostrar que este proceso de extracción y análisis es óptimo para determinación rutinaria de plaguicidas de múltiples clases en cereales [46].

Tras hacer la búsqueda bibliográfica, con los resultados citados, el método QuEChERS es una técnica de extracción rápida y económica como su nombre indica, utiliza poca cantidad de solventes y reactivos y permite una extracción selectiva de los plaguicidas de interés. Además, es un método robusto y fiable proporcionando resultados precisos y con altos porcentajes de recuperación. Un ejemplo lo constituye el trabajo de evaluación de varios métodos de extracción para la determinación de plaguicidas multiresiduos en cereales, concretamente en muestras de arroz, mayoritariamente encontrándose carbendacima, y malatión de arroz blanco y donde se comparan las principales metodologías de extracción y limpieza (LLE, SPE, dSPE, PLE, y QuEChERS). Y se concluye que los métodos basados en QuEChERS son los más adecuado debido a todas sus ventajas y, por ello, son los más empleados, ya que permite analizar y abarcar un mayor número de plaguicidas en matrices complejas, además proporciona un mayor rendimiento en el procesado de muestra al ser un procedimiento muy simple y robusto [21].

## 5. CONCLUSIÓN

- Los disruptores endocrinos son compuestos que producen alteraciones en nuestro sistema endocrino y por ello es necesario llevar a cabo un análisis exhaustivo para evaluarlos y asegurar la salud del consumidor.
- Los cereales y demás alimentos que poseen algunos de estos compuestos tienen que cumplir la normativa internacional y no pueden contener este tipo de compuestos sino es por debajo de los LMRs en cada caso.

- El método más adecuado para realizar la extracción de plaguicidas es el método QuEChERS. Debido a su fiabilidad, robustez, eficacia, coste, precisión y exactitud. Para que el resultado sea correcto y útil, es necesario hacer una evaluación del efecto matriz y optimizar las cantidades de cada uno de los reactivos en el proceso de extracción con objeto de obtener recuperaciones altas con bajas RSDs.

## **ABREVIATURAS**

**AECOSAN:** Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.

**CoC:** Código de Conductas.

**DDT:** Dicloro difenil tricloroetano

**dSPE:** Extracción en fase sólida dispersiva.

**EC:** Electroforesis capilar.

**FAO:** Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

**GC:** Cromatografía de gases.

**JECFA:** Comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios.

**LC:** Cromatografía líquida.

**LLE:** Extracción líquido-líquido.

**LMR:** Limite máximo de residuos.

**MgSO<sub>4</sub>:** Sulfato de magnesio.

**MSPD:** Dispersión de la matriz en fase sólida.

**NaCl:** Cloruro de sodio.

**OMS/WHO:** Organización Mundial de la Salud.

**PSA:** Amina primaria-secundaria.

**QuEChERS:** Rápido, fácil, barato, efectivo, robusto y seguro.

**RSD:** Desviación estándar relativa.

**SPE:** Extracción en fase sólida.

**SPME:** Microextracción en fase sólida.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Eva María Moreno Márquez, Azucena Nuñez Álvarez. Disruptores endocrinos, un posible riesgo tóxico en productos de consumo habitual. Universidad de Huelva: ciencias ambientales. Unirevista; 2012 [citado 16 marzo 2020] pág: 10. Disponible en: <http://rabida.uhu.es/dspace/handle/10272/6143>
2. WHO/UNEP. State of science of endocrine disrupting chemicals. OMS;2013 [citado 17 marzo 2020] pág: 296. Disponible en: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>
3. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). AECOSAN; 2017 [citado 18 marzo 2020] pág.: 6. Disponible en: [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/subdetalle/haps.htm](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/haps.htm)
4. FAO. Definiciones para los fines del CODEX alimentarius. 1986. [citado 18 marzo 2020] Disponible en: <http://www.fao.org/3/W5975S/w5975s08.htm>
5. OMS. Las dioxinas y sus efectos en la salud humana. 2016. [citado 19 marzo 2020] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dioxins-and-their-effects-on-human-health>
6. American Chemistry Council.[citado 19 marzo 2020] Disponibles en : <https://phthalates.americanchemistry.com/FAQs/>
7. OMS/FAO. Bisfenol a – estado actual de los conocimientos y medidas futuras. 2009.[citado 19 marzo 2020] paginas: 7. Disponible en:[https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_05\\_Bisphenol\\_A\\_Nov09\\_sp.pdf?ua=1](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_05_Bisphenol_A_Nov09_sp.pdf?ua=1)

8. Instituto nacional de endocrinología. Fitoestrogenos y su utilidad para el tratamiento del síndrome clamterico. SCIELO. 2001.[citado 20 marzo 2020]  
Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532001000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532001000200009)
9. M.J Sánchez Martin , M. Sánchez Camazano. Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo. CSIC.1984 (1ªedición). [citado 2 Abril 2020] paginas: 51.  
Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf%3B>
10. Renata raina-fluton. New trends in pesticide resiude analysis in cereals, nutraceutical, baby foods, and related processed consumers products. AOAC internacional.2019 [citado 8 Abril 2020] volumen 98, páginas: 1163-1170.  
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26525234/>
11. Trang VoPham, Kimberly A Bertand, Jaime E HArt, Francine Laden, coll. Pesticide exposure and liver cancer. EPUB .2017. [citado 20 marzo 2020]  
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28194594/>
12. Residuos de plaguicidas en los alimentos. OMS; 2018 [citado 20 marzo 2020].  
Disponible en:<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>
13. Comisión de salud pública del Sistema Nacional de Salud. Plaguicidas. [Citada 3 abril 2020] páginas 24. Disponible en: <https://www.msrebs.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/plaguicidas.pdf>
14. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. FAO; 2013 [citado 4 abril 2020] pág: 16. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/Code/Annotated\\_Guidelines\\_SP.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/Annotated_Guidelines_SP.pdf)

15. Residuos de plaguicidas en productos destinados a la alimentación humana o animal. EUR-Lex; 2015 [citado 3 abril 2020]. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=LEGISSUM%3A121289>
16. EUR-LEX, [citado 7 abril 2020] Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX%3A32005R0396>
17. EUR-LEX. [citado 26 mayo 2020] Disponible en : <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>
18. F. Imamura, Laura O'connor, Zheng Ye, Jaakko Mursu. Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incident of type 2 diabetes. *BJM*. 2015. [citado 22 abril 2020] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4510779/>
19. OMS. Alimentación sana. OMS. 2018.[citado 28 abril 2020] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
20. Asociación española de fabricantes de cereales. [citado 10 mayo] Disponible en: <https://www.asociacioncereales.es/asociacion/cereales-y-alimentacion/informacion-nutricional/>
21. Pareja, L.; Fernández-Alba, A. R.; Cesio, V.; Heinzen, H. Analytical methods for pesticide residues in rice. *TrAC Trends in Anal. Chem.* **2011**, [citado 8 mayo 2020] Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003991401000932X?via%3Dihub>
22. Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Producción de cultivos. FAO. [citado 25 marzo 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y3557s/y3557s08.htm>

23. J.M. Caballero, R.L.Teresa, A. Caballero, C.Rubio,D. Gonzalez-Weller, A.J.Gutierrez. composición mineral de los distintos tipos de gofio canario;factores que afectan a la presencia de Na, K, Mn,Fe,Cu y Zn .Scielo. Universidad de La Laguna. 2014 [citado 10 abril 2020] vol. 29 n°3. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112014000300031](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112014000300031)
24. Cerpa O.,Millan R. y Sanjuan E. Estudio de la aceptabilidad del gofio en Gran Canaria. ULPGC. 2011 [citado 15 abril 2020] pág: 13. Disponible en: [https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/8147/2/0280574\\_00001\\_0003.pdf](https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/8147/2/0280574_00001_0003.pdf)
25. Saka M. Desarrollo y difusión de tecnologías prácticas para el análisis de residuos de plaguicidas. *Revista de ciencia de pesticidas* , 2018. [citado 5 mayo 2020] volumen (4), pág.: 305–313. Disponible en [:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6240773/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6240773/)
26. Dietrich process systems.[citado 20 mayo 2020] Disponible en:<https://www.dedietrich.com/es/soluciones-y-productos/extraccion/extraccion-liquido/liquido>
27. Ida krasevec, Helena Prosen. Extracción en fase solida de benzotriazoles polares como contaminantes ambientales. MDPI. 2018.[citado 8 de marzo 2020]Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/10/2501/htm#B1-molecules-23-02501>
28. Ötles, S., & Kartal, C.. Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples. *Acta scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*. 2016, [citado 8 marzo 2020] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28071034/>
29. FCo. Manzano-agugliaro, J.A. Garrido-cardenas, E.Jimenez-Caminero. Tecnicas de investigación avanzadas en agronomía y ciencias afines.EDUAL.2018 citado 25 mayo 2020].Disponible en:

[https://books.google.es/books?id=4VNmDwAAQBAJ&pg=PA116&lpg=PA116&dq=dspe+fases+extraccion&source=bl&ots=O5SKJi2fBg&sig=ACfU3U1Bj5Esj\\_u1v4iVA2v5tXZmxWV8VA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjokeyCj5vqAhUEyxoKHWmsCOYQ6AEwB3oECAoQAQ#v=onepage&q=dspe%20fases%20extraccion&f=false](https://books.google.es/books?id=4VNmDwAAQBAJ&pg=PA116&lpg=PA116&dq=dspe+fases+extraccion&source=bl&ots=O5SKJi2fBg&sig=ACfU3U1Bj5Esj_u1v4iVA2v5tXZmxWV8VA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjokeyCj5vqAhUEyxoKHWmsCOYQ6AEwB3oECAoQAQ#v=onepage&q=dspe%20fases%20extraccion&f=false)

30. JJ Jiménez, J. Bernal, M<sup>a</sup> del Nozal , M<sup>a</sup> Martin . microextracción en fase solida aplicada al análisis de residuos de pesticidas en miel usando cromatografía de gases con detección de captura de electrones. ELSEVIER. 1998. [citado 8 mayo 2020] Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967398008267?via%3Dihub>
31. Claudio Jiménez Cartagena, Daniel Esteban León Pérez, Gustavo Antonio Peñuela Mesa. Retos analíticos y perspectivas instrumentales del monitoreo de pesticidas. Semantic scholar. [citado 5 abril 2020]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/0106/fd339436629168ec25af7e3671de4834d596.pdf>
32. Dezhi Qi. Extractantes utilizados en la extracción por solventes- separación de tirerras . ELSEVIER. 2018. [citado 6 mayo 2020] paginas 187-389. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128139202000027>
33. Perestrelo R, Silva P, Porto-Figueira P, et al. QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. *Anal Chim Acta*. 2019; Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31103162/>
34. csic. Cromatografía líquida de alta eficacia. Citado 8 mayo 2020],páginas: 56. Disponible en: [https://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia\\_liquida\\_de\\_alta\\_eficacia.pdf](https://www.mcn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_liquida_de_alta_eficacia.pdf)



35. CSIC. Cromatografía de gases [citado 8 mayo 2020] páginas: 43. Disponible en: [https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf)
36. Jonathan J Magaña, María de la Luz Arenas-Sordo, Rocío Gómez. La electroforesis capilar como una nueva estrategia en la medicina y el diagnóstico clínico. Scielo. 2009 .[citado 8 mayo 2020] Disponible en : [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872009000700014](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872009000700014)
37. wei Zhang, Thomas Hankemeier, Rawi Ramautar, Próxima generación de electroforesis capilar: enfoques de espectrometría de masas en metabolómica. 2017 [citado 8 mayo 2020] volumen 43, pagina 1-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166916301598?via%3DiHub>
38. Juan Miguel Castagnino. Electroforesis capilar. 1999 [citado 10 mayo 2020] vol: 33, n°3, 297-329. Disponible en: <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Electroforesis-capilar.pdf>
39. Navickiene S, Santos LFS, Dos Reis Silva A. Use of Magnesium Silicate as a New Type of Adsorbent for Dispersive Solid-Phase Extraction Cleanup of the Quick, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Method for Pesticides During Analysis of Lager Beer by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J AOAC Int.* 2019. [citado 26 mayo 2020] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30290855/>
40. Li P, Yang X, Miao H, Zhao Y, Liu W, Wu Y. Simultaneous determination of 19 triazine pesticides and degradation products in processed cereal samples from Chinese total diet study by isotope dilution-high performance liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2013. [citado 26 mayo 2020] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23684466/>

41. CaPecev-Marinković E, Miletić A, Tošić S, et al. Optimization and validation of the kinetic spectrophotometric method for quantitative determination of the pesticide atrazine and its application in infant formulae and cereal-based baby food. *J Sci Food Agric*. 2019;[citado 26 mayo 2020] pág:99. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31077389/>
42. Huang XC, Ma JK, Feng RX, Wei SL. Simultaneous determination of five organophosphorus pesticide residues in different food samples by solid-phase microextraction fibers coupled with high-performance liquid chromatography. *J Sci Food Agric*. 2019;[citado 24 mayo 2020] pág:99. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31442313/>
43. González-Curbelo MÁ, Socas-Rodríguez B, Herrero M, Herrera-Herrera AV, Hernández-Borges J. Dissipation kinetics of organophosphorus pesticides in milled toasted maize and wheat flour (gofio) during storage. *Food Chem*. 2017. [citado 24 mayo 2020] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28372254/>
44. Bordin AB, Minetto L, do Nascimento Filho I, Beal LL, Moura S. Determination of pesticide residues in whole wheat flour using modified QuEChERS and LC–MS/MS. *Food Anal Methods*. 2017; [citado 24 mayo 2020] volume: 10:1–9. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-016-0542-2>
45. Zeying He, Lu Wang, Yi Peng, Ming Luo, Wenwen, Xiaowei liu. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry-based method. *ELSEVIER* 2014. [citado 25 mayo 2020] Disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614011509?via%3Dihub>
46. Stanisław Walorczyk. Development of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry

II. Improvement and extension to new analytes. ELSERVIER. 2008 [citado 25 mayo 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967308014349?via%3Dihub>

47. Herrera López S, Scholten J, Kiedrowska B, de Kok A. Method validation and application of a selective multiresidue analysis of highly polar pesticides in food matrices using hydrophilic interaction liquid chromatography and mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2019. [citado 25 mayo 2020] Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30792043/>

48. MA.M.Á. González-Curbelo, J. Hernández-Borges, TM Borges-Miquel y M.Á. Rodríguez-Delgado. Determinación de pesticidas y sus metabolitos en muestras de cereales procesados, Aditivos alimentarios y contaminantes. 2012. [citado 25 mayo 2020] Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2011.615032>

49. SANTE. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. SANTE/11813/2017. 2017. [citado 20 mayo 2020] Disponible en : [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2017-11813.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf)