

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**ANÁLISIS DE COMPUESTOS
FITOSANITARIOS EN VINOS CANARIOS**

SARA THOVAR ICETA
GRADO EN FARMACIA
CURSO 2018/2019

TUTORES

Miguel Ángel Rodríguez Delgado
Antonio Vicente Herrera Herrera

Departamento de Química

Área de Química Analítica

ÍNDICE

ABSTRACT	2
RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 Cultura del vino en las islas	5
1.2 Uso de plaguicidas	6
1.3 Método QuEChERS:.....	7
2. OBJETIVO	10
3. PARTE EXPERIMENTAL	12
3.1 Material y métodos	12
3.1.1 Equipos y aparatos.....	12
3.1.2 Metodología de extracción - QuEChERS.....	12
3.1.3 Separación por GC-MS/MS.....	13
3.2 Muestras	14
3.3 Software	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1 Separación por cromatografía.....	16
4.2 Calibrado de la matriz	19
4.3 Aplicación del método QuEChERS para el análisis de vinos	20
5. CONCLUSIONES.....	25
GLOSARIO	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

ABSTRACT

Wine is a valuable natural food obtained through the fermentation of the grape that is part of the daily life of the Canarian population. In order to protect the vines chemical phytosanitary products are used. These pesticides could cause important health risks despite being strictly regulated by the European Union (EU). In this study, six wine samples from Tenerife were analyzed, one for each Designation of Origin (DO) and one ecological, using the QuEChERS method and GC-MS/MS to verify the presence of those compounds in the final products and if it would be so that they won't surpass the declared limits. The obtained results demonstrated that, despite the fact that all the samples contained some pesticides, the maximum residue limits were not exceeded in any case.

Keywords: phytosanitary, pesticides, wine, ecological wine, health, Tenerife, Canary Islands, residue.

RESUMEN

El vino es un valioso alimento natural obtenido por fermentación de la uva, que forma parte de la vida cotidiana de la población canaria. Para proteger las vides a partir de las cuales se obtiene se hace uso de fitosanitarios químicos, los cuales, a pesar de estar rigurosamente regulados por la Unión Europea (UE) pueden ocasionar riesgos importantes para la salud.

En este estudio se analizan seis muestras representativas de vinos de Tenerife, uno por cada Denominación de Origen (DO) y uno ecológico mediante el método de QuEChERS y GC-MS/MS con el objetivo de comprobar la presencia de éstos compuestos en el producto final y de ser así que no superen los niveles máximos establecidos. Los resultados demostraron que, si bien todas las muestras contenían alguno de los plaguicidas ninguno superaba los límites máximos de residuos establecidos por la UE para uvas de vinificación.

Palabras clave: fitosanitarios, plaguicidas, vino, vino ecológico, salud, Tenerife, Islas Canarias, residuo.

1. INTRODUCCIÓN

*“Savia nueva que en racimos
Rezuma y despierta calmas
Desde la noche hasta el alba
Aleja penas y olvidos.”*

Claudio Anibal Tachino Revello, Compañero fiel.

1.1 Cultura del vino en las islas:

Para entender la importancia del vino en las islas debemos hablar de su historia, cultura, tradición, de su crecimiento y relación con el turismo.

El vino llegó a Canarias, por su situación geográfica, de mano de los conquistadores españoles y colonizadores europeos, como tantos otros productos que hoy día conservamos. Gracias al clima, las vides se desarrollaron ampliamente y pronto se convirtieron en un pilar fundamental de su economía. Desde el siglo XV en Canarias se exportaban gran variedad de vinos, dándose a conocer en los diferentes continentes y pasando a formar parte de las mesas más exigentes (1). Durante el siglo XIX, en Europa, aparece una plaga de insectos, la filoxera, debido a la introducción de vides americanas, resistentes a los daños causados por el parásito pero portadoras, infectando a las cepas europeas (2) Ésta plaga acabó con gran parte de los viñedos y lo más importante, con muchas de las cepas que en Canarias, al estar separadas geográficamente, si se conservaron (pues el parásito no llegó a las islas (2)).

Para hacer frente a éste problema en el continente europeo, se empezaron a usar injertos de vid europea en la americana (más resistente a los daños) por lo que la uva resultante contenía una mezcla de características organolépticas de ambas, alejándolas de la “pureza” de las cepas originales. En la actualidad la gran mayoría de las uvas usadas para la obtención del vino en el territorio continental proviene de éstas híbridos mientras que en Canarias se mantuvieron las cepas originales, pudiendo desarrollarse a lo largo del tiempo

para proporcionarnos ahora la uva tan característica con la que se elaboran estos vinos.

Gracias a esta diferenciación, a la presencia de cepas casi únicas en las islas y al clima particular que poseen, la cultura del vino en Canarias se extendió y siguió diferenciándose, adquiriendo un carácter propio y convirtiéndose en tradición.

1.2 Uso de plaguicidas:

En la actualidad se hace uso de sustancias activas nocivas para algunas formas de vida parásitas (fitosanitarios) pudiendo así garantizar el desarrollo satisfactorio de la cosecha, pero con posibles riesgos para el ser humano y animales domésticos o de ganadería, así como para el medio. Por ello ha sido necesaria la elaboración de planes de control y normativas específicas que minimicen estos posibles riesgos.



Figura 1.1. Fumigación mecánica de plaguicidas en cultivos

En España, como parte de la UE, se regula el uso de plaguicidas para garantizar la seguridad del consumidor, así como la del agricultor y distribuidor. Éste control no solo abarca la cantidad sino que además prohíbe el uso de ciertos compuestos perjudiciales para la salud. Por tanto, no debe suponer una preocupación, pues la legislación vela por la promoción y el mantenimiento de la salud (3). No obstante, existe cierto movimiento contra el uso indiscriminado de estos productos, basados en los riesgos que supone la exposición prolongada a ellos, de hecho el uso de fitosanitarios se ha relacionado en varias ocasiones con enfermedades respiratorias graves como asma o EPOC, trastornos neurológicos, del aparato reproductivo o de la piel e incluso con diversos tipos de cáncer, así como con un sinnúmero de síntomas inespecíficos derivados de la exposición (4). Durante la documentación para realizar éste trabajo se encontraron diversos artículos relacionados con éste aspecto, de los que podría ser un buen ejemplo el siguiente titular publicado en El Confidencial en 2017: “España, campeona de Europa en el uso y abuso de químicos para la agricultura” (5).

Es por ello que, a pesar de la rigurosa legislación europea al respecto, es necesario asegurarse de que en la práctica se cumplen las especificaciones para el uso de fitosanitarios, y no puede ser de otra forma que buscando y cuantificando éstos componentes en muestras recogidas de forma aleatoria y a través del uso de métodos analíticos adecuados, eficientes y seguros.

1.3 Método QuEChERS:

El método QuEChERS, nace en 2003 de la mano de Michelangelo Anastassiades (Alemania) y Steven J. Lehotay (EE. UU) (6) por la creciente necesidad de desarrollar métodos de análisis de pesticidas “más limpios”, que supusieran un menor impacto sobre el medio y por tanto generasen un menor riesgo para la salud. El QuEChERS, que por sus siglas se define como un método rápido (*Quick*), fácil (*Easy*), barato (*Cheap*), efectivo (*Effective*), robusto (*Rugged*) y seguro (*Safe*), supuso una revolución en el campo de la Química Analítica ya que los métodos de extracción usados hasta entonces habían sido muy contaminantes (7). El método consta de dos fases: una

extracción/partición sólido-líquido (ó líquido-líquido) con un efecto “*salting-out*” y una extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) para la limpieza del producto anterior. En la figura 1.2 se muestra un esquema del método original de QuEChERS.



Figura 1.2. Esquema del método QuEChERS original.

Éste método, pensado en un inicio para el análisis de frutas y verduras muy ricas en agua, se ha usado ampliamente, desarrollándose numerosas versiones del mismo mediante modificaciones de sus procedimientos, disolventes, sales y sorbentes para conseguir mayor eficacia y seguridad, en menor tiempo y con menor coste, además de poder extender su uso a prácticamente todos los alimentos (incluso aquellos con bajo contenido en agua).

Las modalidades hoy en día son muy numerosas y su popularidad es tal que dos de ellas son métodos oficiales de análisis de organizaciones internacionales de estándares (la Unión Europea (8) y AOAC International (9)), ambas basadas en la adición de un tampón que aporta un pH en torno a 5, lo que facilita la extracción de plaguicidas sensibles a pH ácidos o básicos. En el caso de la modalidad europea el tampón usado es el basado en citrato, mientras que para la modalidad americana se utiliza acético/acetato.

Otras de las modificaciones ampliamente utilizadas se relacionan con variaciones en la fase de d-SPE con el objetivo de conseguir extractos más limpios. Éstas consisten en variar las cantidades de N-propiletilendiamina (PSA) utilizado, su uso conjunto con octadecilsilano (C₁₈), o éste último solo. Con el mismo objetivo, se ha hecho uso de carbón negro grafitizado (GCB) que participa en la eliminación de pigmentos que puedan dificultar la determinación analítica. Además también se ha hecho uso de otros sorbentes de distinta naturaleza (7).

2. OBJETIVO

El objetivo principal de éste trabajo consiste en la determinación cualitativa y cuantitativa de plaguicidas en seis muestras de vinos de Tenerife, uno de cada denominación de origen (DO) reconocida en la isla así como uno ecológico, haciendo uso del método QuEChERS (método oficial de análisis de pesticidas para productos agroalimentarios). También se pretende comparar los datos recogidos con los aceptados por la legislación vigente, pudiendo así concluir si se cumple o no dicha legislación para las muestras analizadas y si supone o no un riesgo de salud real para el consumidor. Para alcanzar este objetivo principal se propusieron los siguientes objetivos secundarios:

- Validación de la metodología analítica seleccionada: QuEChERS según la norma UNE-EN 15662:2019 (8).
- Selección y recolección de las muestras.
- Determinación de los compuestos fitosanitarios en las muestras.
- Análisis estadístico y presentación de los datos obtenidos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Material y métodos

3.1.1 *Equipos y aparatos*

-Cromatografo de gases (GC) 7890B acoplado a espectrómetro de masas en tándem (MS/MS) con analizador triple cuadrupolo (QqQ) 7000 C e inyector automático robotizado para muestras CombiPAL (Agilent Technologies).

-Balanza analítica de precisión modelo AW-224 de 0,1 mg de precisión (Sartorius)

-Micropipetas 0,2-5000 μ L Transferpette® (Brand).

-Centrifuga modelo 5702 con velocidad máxima de 4400 rpm/3000 x g (Eppendorf).

-Evaporador de nitrógeno (Organomation N-Evaporation)

3.1.2 *Metodología de extracción - QuEChERS*

Para la extracción se utilizó el método marcado por la Unión Europea (8). con mínimas modificaciones. Para ello se recogió una alícuota de 5 g, por duplicado, de cada una de las muestras de los vinos a estudiar y se añadió a un tubo de centrifuga junto con el estándar interno (IS, 100 μ L TPP a 10 mg/L), 10 mL de acetonitrilo (ACN), además del tampón de citrato (1 g citrato sódico dihidratado y 0,5 g de hidrogenocitrato sódico sesquihidratado).

Se agitó vigorosamente a mano durante 1 min.

Al resultado de la agitación se le añadieron 4 g de sulfato magnésico anhidro ($MgSO_4$) y 1 g de cloruro sódico (NaCl). Se agitó de nuevo durante 1 min y se llevó a centrifugación 5 min a 4000 rpm.

El resultado consistió en dos fases claramente separadas, quedando la orgánica en la parte superior.

Se obtuvo una alícuota de 3mL de la fase orgánica donde se encontraban los analitos y se depositaron en un tubo con 0,15 g de PSA, además de 0,15 g de

C₁₈ y 0,9 g de MgSO₄. Se agitó vigorosamente 1 min y se centrifugó 5 min a 4000 rpm.

Tras ésta segunda centrifugación 0,5mL del sobrenadante de esta etapa de limpieza se secaron en evaporador de nitrógeno a 40°C y se reconstituyeron en 500 µL de una mezcla ciclohexano:acetato de etilo 9:1 (v/v). El extracto estaba así preparado para ser inyectado en el cromatógrafo de gases.

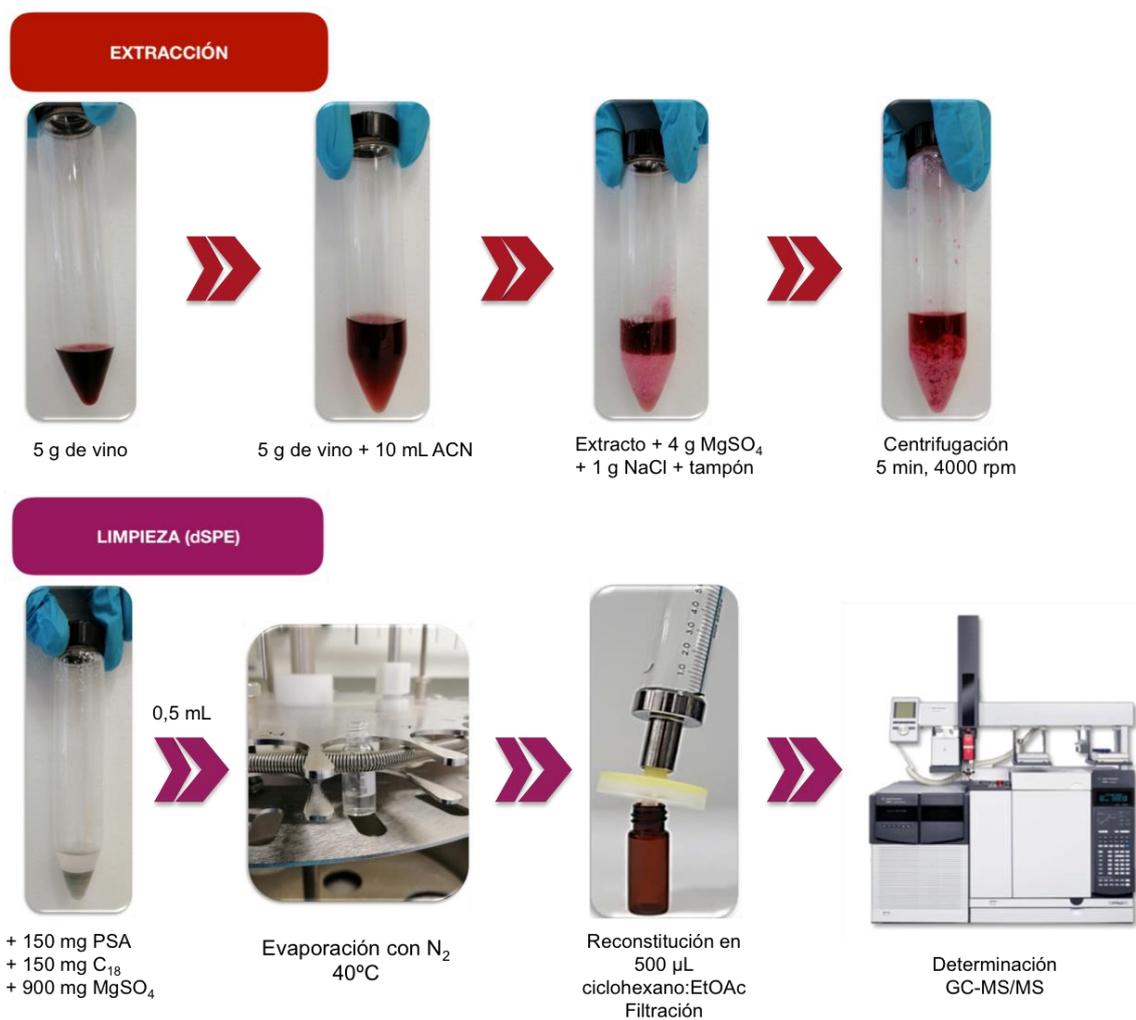


Figura 3.1. Esquema del procedimiento QuEChERS utilizado en este trabajo

3.1.3 Separación por GC-MS/MS

Se consiguió empleando dos columnas idénticas de sílice fundida (5%-fenil)-metilpolisiloxano (HP-5ms Ultra Inert; 15 m x 0,25 mm x 0,25 µm de grosor del recubrimiento) conectadas a través de una válvula “backflush” y el programa de

temperaturas indicado en la tabla. El flujo del gas portador (Helio) fue de 1,0 mL/min en la primera columna y de 1,2 mL/min en la segunda.

PROGRAMA DE TEMPERATURA			
Temperatura (°C)	Velocidad (°C/min)	Tiempo de estabilización (min)	Tiempo de análisis (min)
60	-	1	1,00
170	40	-	3,75
310	10	3	20,75

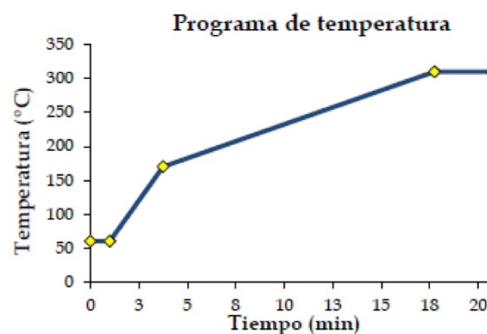


Figura 3.2. Programa de temperatura para GC-MS/MS

La inyección se realizó en modo splitless a una temperatura de 280 °C y con un volumen de 2 µL.

En la espectrometría de masas se utilizó ionización por impacto electrónico (EI), con una energía de -70 eV. La determinación se llevó a cabo en modo positivo y para la fragmentación de los iones precursores seleccionados para cada analito se empleó como gas de colisión el nitrógeno a un flujo de 1,50 mL/min.

3.2 Muestras

Se determinó la presencia de plaguicidas en vinos de cada una de las 5 DO existentes en Tenerife: Abona, Tacoronte-Acentejo, Valle de Güimar, La Orotava e Ycoden-Daute-Isora; además de un vino ecológico, para conocer el tratamiento que recibe la uva en las distintas zonas de la isla.



Figura 3.3. Mapa de la isla de Tenerife con la localización de cada una de las DO y sus logotipos.

3.3 Software

Programa *MassHunter Workstation* (Agilent Technologies) para control del equipo y tratamiento de cromatogramas y espectros obtenidos.

Microsoft Office Excel 2016 para tratamiento de datos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Separación por cromatografía

Se seleccionaron 9 plaguicidas de interés habitualmente encontrados en productos agroalimentarios en Canarias (y particularmente en vinos). En la figura 4.1 se muestran las estructuras de dichos compuestos y IS empleado.

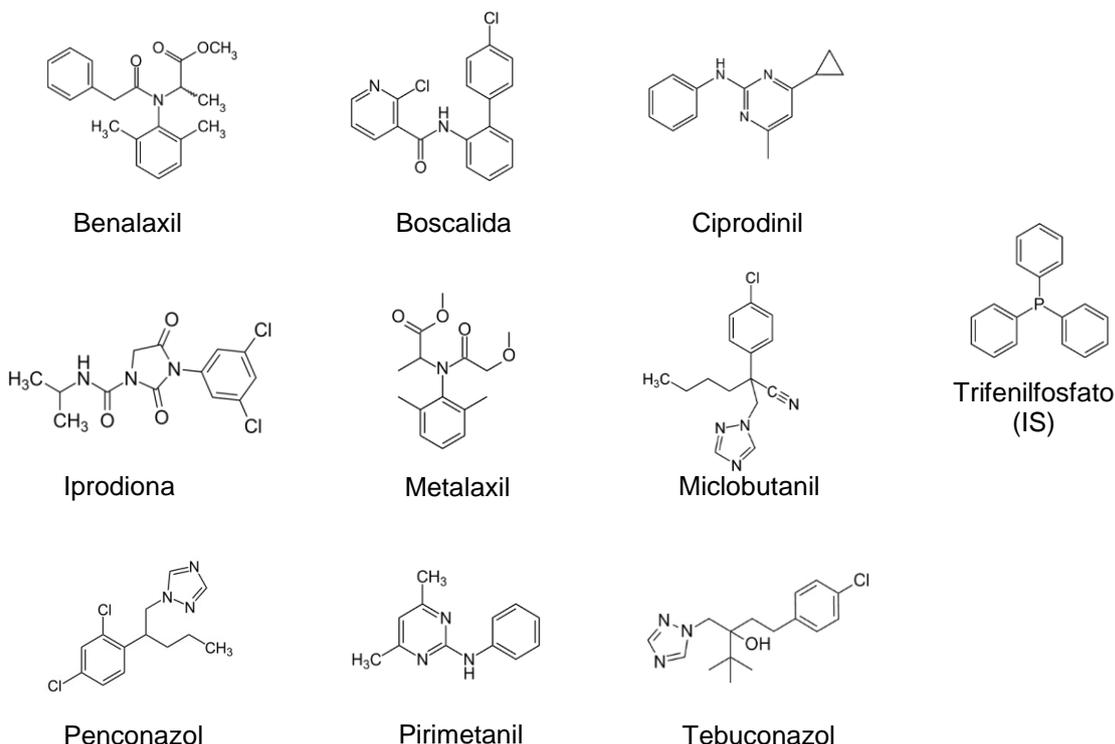


Figura 4.1. Estructura de los compuestos fitosanitarios seleccionados

La separación se realizó en el equipo de GC-MS/MS de Agilent Technologies indicado en la sección 3.1 con las condiciones que se indicaron en dicha sección.

En lo que respecta a las condiciones de fragmentación GC-MS/MS se seleccionaron los iones precursores de los 9 analitos y del IS. Para cumplir con las recomendaciones de la Unión Europea (Decisión de la Comisión (2002/657/EC), 2002), se seleccionaron dos transiciones: la de mayor intensidad para la cuantificación; y la de menor intensidad para llevar a cabo la confirmación de forma inequívoca de los analitos. El documento SANTE/11813/2017 (10), propone tres puntos de confirmación para asegurar la

presencia de los compuestos: una transición de cuantificación, otra de confirmación y la medida de la relación de intensidades entre el ion cuantificador y el cualificador (con una tolerancia máxima del 30%). En la tabla 4.1 se muestran los parámetros de transición óptimos para los analitos.

Tabla 4.1. Parámetros de transición MS/MS de los fitosanitarios seleccionados

Analito	Tiempo de retención (min)	Transiciones (m/z)		Energía de colisión (eV)	
		Cuantificación	Confirmación	Transición de cuantificación	Transición de confirmación
Trifenilfosfato (TPP)	13,821	325,0→169,0	325,0→231,0	20	20
Benalaxil	13,325	266,0→148,0	234,0→146,0	5	20
Boscalid	17,049	342,0→140,0	342,0→112,0	15	40
Ciprodinil	10,848	224,0→118,0	224,0→104,0	45	25
Iprodiona	14,161	314,0→56,00	314,0→245,0	20	10
Metalaxil	9,765	249,0→190,0	249,0→146,0	5	20
Miclobutanil	12,184	179,0→125,0	179,0→90,00	10	30
Penconazol	10,995	248,0→157,0	248,0→192,0	25	15
Pirimetanil	8,711	198,0→118,0	198,0→158,0	35	20
Tebuconazol	13,740	250,0→125,0	250,0→153,0	20	10

En la figura 4.2 se muestra un cromatograma de los compuestos seleccionados y el IS para la transición de cuantificación en el modo “*multiple reaction monitoring*” (MRM)

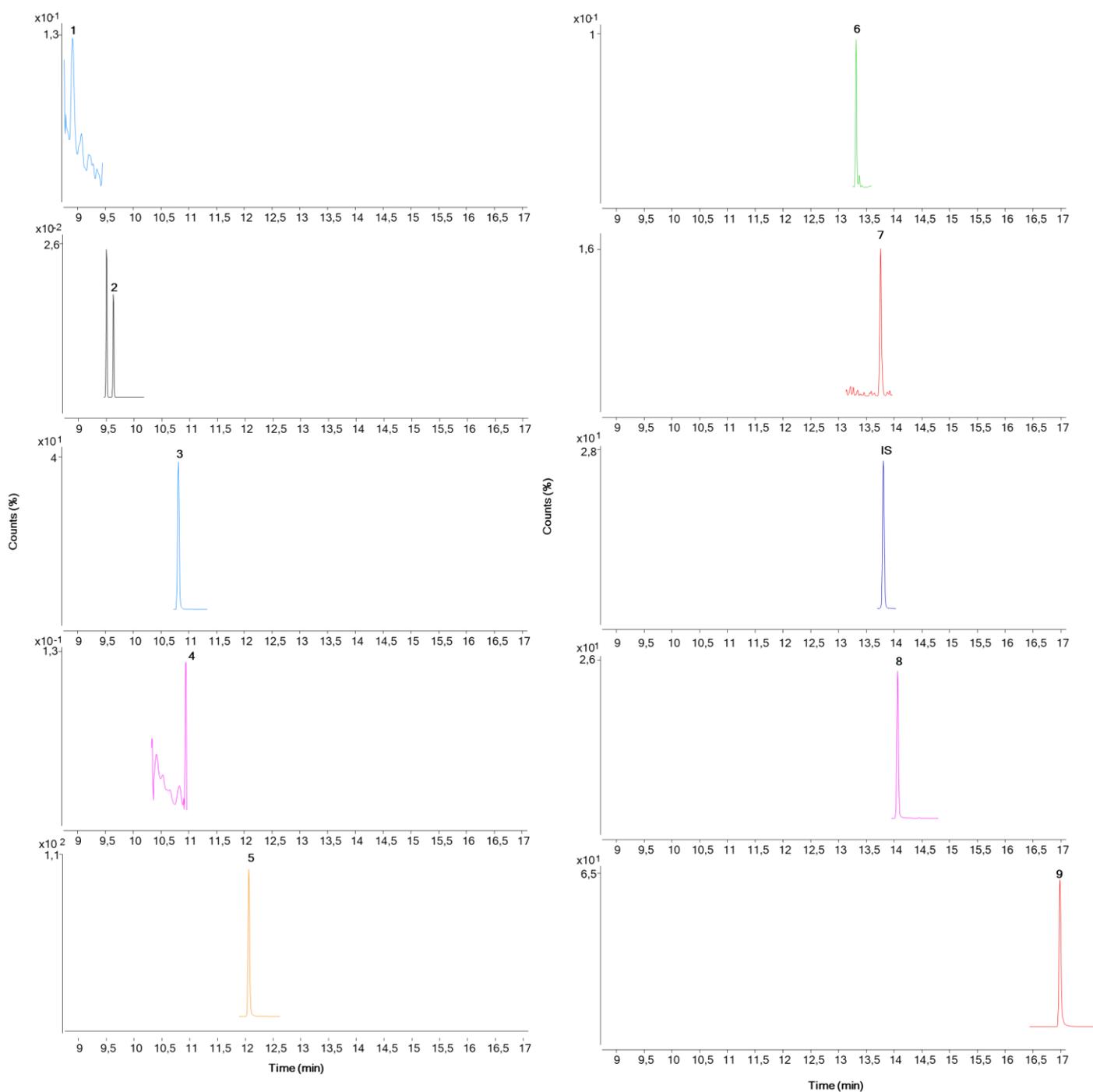


Figura 4.2. Cromatograma GC-MS/MS en el modo MRM de los compuestos objeto de estudio. Identificación de los picos (1) Pirimetanil; (2) Metalaxil; (3) Ciprodinil; (4) Penconazol; (5) Miclobutanil; (6) Benalaxil; (7) Tebuconazol; (IS), TPP; (8) Iprodiona; (9) Boscalid.

4.2 Calibrado en la matriz

En todo análisis cromatográfico se ha de comparar las muestras analizadas con un blanco para minimizar errores producidos por la matriz. En este caso, la matriz en la que se encuentran los analitos, el vino, es bastante compleja y se ha demostrado que provoca interferencias en la señal, además de la aparición de numerosos picos en el espectro que podrían confundirse con los analitos. Además dichos compuesto de la matriz pueden incrementar o disminuir la señal de los analitos, en comparación a la obtenida cuando no están estos compuestos. Cuando se produce, este fenómeno se denomina “efecto matriz”. Para evitarlo se realiza la comparación de resultados frente a los de una matriz similar pero en ausencia de analitos, en nuestro caso el vino ecológico, el cual presumimos que carece de éstos y que además va a hacer de blanco o control negativo.

Para validar la metodología comprobando la linealidad se llevó a cabo un calibrado en la matriz inyectando por duplicado ocho niveles de concentración ($n=8$) diferentes. Para lo cual, se extrajeron 8 alícuotas de 5 g del vino ecológico, se enriquecieron con los analitos de interés y con el IS al final del procedimiento, tras comprobar que dicha muestra estaba libre de los analitos estudiados. Los parámetros de calidad del calibrado obtenidos se muestran en la Tabla 4.2, la cual contiene el rango lineal, las pendientes y las ordenadas en el origen con sus intervalos de confianza para un nivel del 95%, el coeficiente de determinación (R^2), el error de la estima (Sy/x) y el nivel de calibración más bajo (LCL).

Debido a la gran sensibilidad del sistema GC-MS/MS utilizado se hace complicado el cálculo del límite de cuantificación (LOQ), es por esto que no se determinó, sino que se seleccionó un LCL suficientemente bajo y con una relación señal-ruido (S/N) por encima de 10.

Tabla 4.2. Parámetros de calidad de las rectas de calibrado.

Analito	Rango lineal estudiado (µg/L)	Ecuación de la recta (n=8)		R ²	Sy/x	LCL (µg/L)
		$b \pm S_b \cdot t(0,05; n-2)$	$a \pm S_a \cdot t(0,05; n-2)$			
Benalaxil	10-200	$(11,20 \pm 0,67) \cdot 10^{-3}$	$(-3,48 \pm 7,33) \cdot 10^{-2}$	0,9965	0,0467	10
Boscalid	10-200	$(2,49 \pm 0,24) \cdot 10^{-2}$	$(-9,69 \pm 27,01) \cdot 10^{-2}$	0,9904	0,1721	10
Ciprodinil	10-200	$(1,38 \pm 0,10) \cdot 10^{-2}$	$(-5,44 \pm 11,22) \cdot 10^{-2}$	0,9946	0,0715	10
Iprodiona	10-200	$(8,49 \pm 0,69) \cdot 10^{-3}$	$(-3,32 \pm 7,66) \cdot 10^{-2}$	0,9933	0,0488	10
Metalaxil	25-200	$(4,30 \pm 0,42) \cdot 10^{-2}$	$(-3,56 \pm 5,08) \cdot 10^{-2}$	0,9950	0,0331	25
Miclobutanil	10-200	$(3,65 \pm 0,33) \cdot 10^{-2}$	$(-1,85 \pm 3,61) \cdot 10^{-1}$	0,9919	0,2303	10
Penconazol	10-200	$(3,51 \pm 0,24) \cdot 10^{-2}$	$(-1,66 \pm 2,68) \cdot 10^{-1}$	0,9952	0,1707	10
Pirimetanil	10-200	$(3,13 \pm 0,31) \cdot 10^{-2}$	$(-0,70 \pm 34,26) \cdot 10^{-2}$	0,9902	0,2182	10
Tebuconazol	10-200	$(2,03 \pm 0,13) \cdot 10^{-2}$	$(-1,24 \pm 1,43) \cdot 10^{-1}$	0,9959	0,0912	10

Se puede considerar que se obtuvo una buena linealidad para todos los analitos ya que los valores de R² superaban el 0,99. Además, las gráficas de los residuales del estudio estadístico asociado presentaron distribución aleatoria, sin tendencias observables. Por ello el método quedó validado por el modelo de regresión por mínimos cuadrados.

4.3 Aplicación del método QuEChERS para el análisis de vinos

El análisis de vinos tiene gran interés debido a su alto consumo. Mediante la aplicación del método QuEChERS UNE-EN 15662:2019 (8) se obtuvieron recuperaciones entorno al 100% para todos los analitos. Además se analizaron por duplicado seis muestras de vinos canarios (uno de cada DO reconocida, así como uno de producción ecológica). En la Tabla 4.3 se muestran los resultados obtenidos en µg/L y en µg/Kg teniendo en cuenta la masa del vino analizado.

Tabla 4.3. Contenido de plaguicidas en los vinos analizados mediante QuEChERS – GC-MS/MS.

Analito	Vinos por Denominación de Origen					
	Abona		Güimar		Tacoronte - Acentejo	
	C (µg/L)	C (µg/Kg)	C (µg/L)	C (µg/Kg)	C (µg/L)	C (µg/Kg)
Benalaxil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Boscalid	<LCL	<LCL	<LCL	<LCL	n.d.	n.d.
Ciprodinil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Iprodiona	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metalaxil	<LCL	<LCL	n.d.	n.d.	48,71 ± 11,62	97,43 ± 23,25
Miclobutanil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	20,49 ± 9,74	40,97 ± 19,49
Penconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pirimetanil	<LCL	<LCL	n.d.	n.d.	<LCL	<LCL
Tebuconazol	<LCL	<LCL	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Analito	Vinos por Denominación de Origen			
	Valle de la Orotava		Ycoden Daute Isora	
	C (µg/L)	C (µg/Kg)	C (µg/L)	C (µg/Kg)
Benalaxil	<LCL	<LCL	<LCL	<LCL
Boscalid	<LCL	<LCL	n.d.	n.d.
Ciprodinil	<LCL	<LCL	<LCL	<LCL
Iprodiona	16,74 ± 8,95	33,47 ± 17,90	17,61 ± 8,93	35,22 ± 17,86
Metalaxil	28,95 ± 12,23	57,91 ± 24,46	15,96 ± 12,69	31,91 ± 25,37
Miclobutanil	<LCL	LCL	<LCL	<LCL
Penconazol	n.d.	n.d.	<LCL	<LCL
Pirimetanil	35,20 ± 10,32	70,39 ± 20,64	27,47 ± 10,48	54,95 ± 20,96
Tebuconazol	<LCL	<LCL	11,82 ± 7,15	23,64 ± 14,30

Como se puede comprobar, de entre todos los compuestos, el metalaxil aparece en la mayoría de las muestras analizadas. Además éste y el pirimetanil son los que se encuentran en mayor concentración. Todas las muestras presentan al menos 1 de los plaguicidas (la de DO Güimar presenta el menor número de ellos) en un rango entre <LCL y 97,43 µg/kg (siendo la de DO Valle de La Orotava la que presenta un mayor contenido total 161,77 µg/kg). La figura 4.3 muestra los cromatogramas correspondientes a las transiciones de cuantificación y confirmación para el metalaxil en la muestra de vino de

Tacoronte. El resto de compuestos y muestras presentaron cromatogramas muy similares.

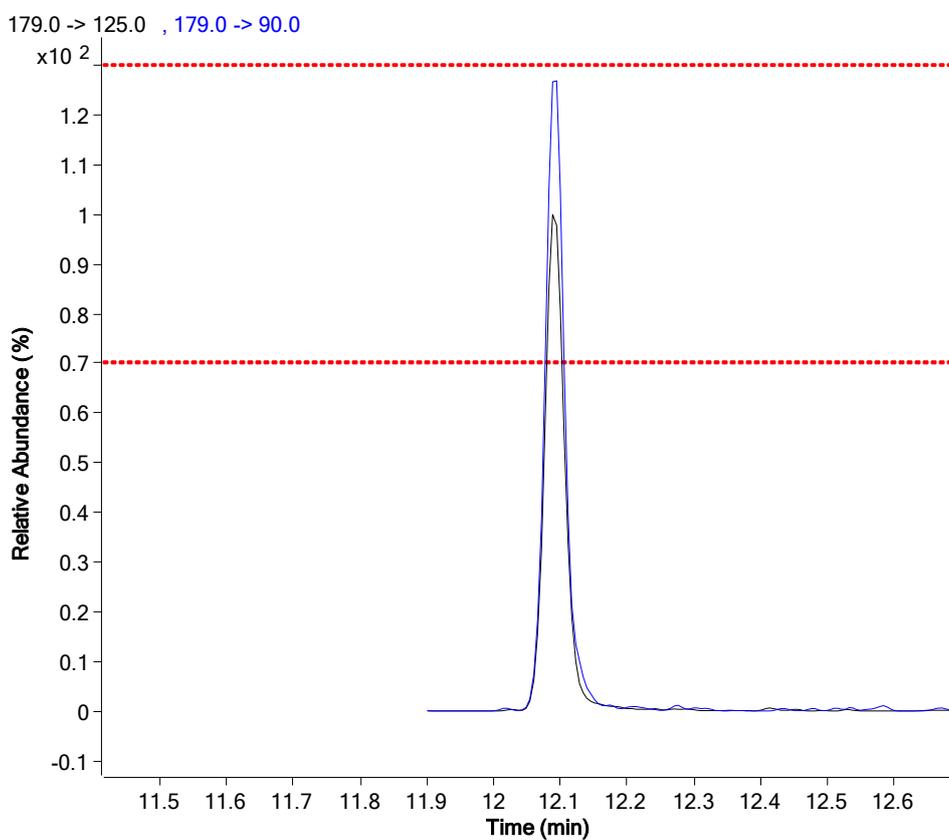


Figura 4.3. Cromatograma correspondiente a las transiciones de cuantificación (negro) y confirmación (azul) del miclobutanil en la muestra de vino de Tacoronte.

La Unión Europea no ha establecido un límite máximo de residuos (LMR) para plaguicidas en el vino. Por ello utilizamos como referencia los límites establecidos para la uva de vinificación (11), que se detallan en la tabla 4.4.

Tabla 4.4. Límites máximos de residuos establecidos para la uva de vinificación.

Plaguicida	LMR (mg/Kg)	LMR ($\mu\text{g/Kg}$)
Benalaxil	0,3	$3,0 \times 10^2$
Boscalid	5,0	$5,0 \times 10^3$
Ciprodinil	3,0	$3,0 \times 10^3$
Iprodiona	20,0	$2,0 \times 10^4$
Metalaxil	1,0	$1,0 \times 10^3$
Miclobutanil	1,0	$1,0 \times 10^3$
Penconazol	0,4	$4,0 \times 10^2$
Pirimetanil	5,0	$5,0 \times 10^3$
Tebuconazol	1,0	$1,0 \times 10^3$

Ninguna de las muestras supera el LMR establecido. Con estos resultados, comprobamos que la población canaria, al igual que todos aquellos que disfrutan de nuestros vinos, se encuentra expuesta a estos analitos, aunque a muy bajas concentraciones. Debido a la exposición, y al posible efecto que ésta pudiese tener en los consumidores se hace necesario realizar un estudio más exhaustivo y con un mayor número de muestras el cual pudiese concluir la necesidad o no de realizar modificaciones en las actuales normativas para reducir los riesgos por la exposición, así como buscar alternativas menos perjudiciales para los seres humanos, animales y el medio capaces de aportar iguales o mejores beneficios a las cosechas.

5. CONCLUSIONES

Con los resultados derivados de este estudio podemos concluir que:

- El método QuEChERS junto con GC-MS/MS es una técnica eficaz para la determinación de fitosanitarios en vinos.
- Dado que en este tipo de muestras existe efecto matriz fue necesario el calibrado en la matriz para este estudio. La linealidad obtenida fue buena, con coeficientes de determinación superiores a 0,99.
- Todas las muestras presentaron alguno de los plaguicidas en un rango <LCL-97,43 µg/kg. La muestra de DO Güimar presentó el menor número de analitos mientras que la de Valle de la Orotava tenía el mayor contenido total de los mismos.
- Todas las muestras estudiadas demostraron cumplir con los niveles establecidos por la UE para uva de vinificación.
- QuEChERS se presenta como un método económico, rápido y que no requiere de dispositivos complejos para el fin propuesto.
- Con ésta metodología se pueden analizar un gran número de muestras simultáneamente.

GLOSARIO

ACN:	Acetonitrilo
C18:	Octadecilsilano
DO:	Denominación de Origen
d-SPE:	Extracción en Fase Sólida dispersiva
GC:	Cromatografía de Gases
GCB:	Carbón Negro Grafitizado
IS:	Estándar Interno
LCL:	Nivel de Calibración más bajo
LMR:	Límite Máximo de Residuo
LOQ	Límite de Cuantificación
MS/MS:	Espectrómetro de Masas en tándem
MRM:	Multiple Reaction Monitoring
PSA:	N-propiletildiamina
UE:	Unión Europea

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) El viaje de Juba, Blog de la Biblioteca de Canarias, (14 de Noviembre de 2016), Biblioteca de la Universidad de La Laguna. Recuperado de <http://bibliotecadecanarias.blogspot.com/2016/11/vinos-de-canarias-historia-y-tradicion.html>

(2) Piqueras, J. (2005). La filoxera en España y su difusión espacial: 1878-1926. Cuad. de Geogr. 77: 101-136.

(3) Directiva 2009/128/CE sobre el uso sostenible de los plaguicidas, orientada a reducir los riesgos ambientales y sanitarios y a mantener la productividad de los cultivos y mejorar el control del uso y distribución de plaguicidas; el Reglamento (CE) n.º 1107/2009 relativo a la comercialización de productos fitosanitarios, y el Reglamento (CE) n.º 1185/2009 relativo a las estadísticas de plaguicidas, que dispone normas para la recopilación de información sobre las cantidades anuales de plaguicidas comercializadas y utilizadas en cada Estado miembro.

<http://www.europarl.europa.eu/factsheets/es/sheet/78/los-productos-quimicos-y-los-plaguicidas>

(4) Doménech, J., Plaguicidas Sus Efectos en la Salud Humana. Offarm, vol. 23, núm. 7, 2004, 9-156.

(5) García, M., Blanco, A. (11 de Junio de 2017). España, campeona de Europa en el uso y abuso de químicos para la agricultura. *El Confidencial*. Disponible en: https://www.elconfidencial.com/tecnologia/ciencia/2017-06-11/uso-agroquimicos-agricultura-espana_1389564/

(6) Anastassiades, M.; Lehotay, S. J.; Štajnbaher, D.; Schenck, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. J. AOAC Int. 2003, 86, 412-431.

(7) B. Socas-Rodríguez, J. González-Sálamo, A.V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, M.Á. Rodríguez-Delgado,. Recent advances and developments in the QuEChERS method,. En: Elena Ibañez, Alejandro Cifuentes. Comprehensive Analytical Chemistry. Estados Unidos: Elsevier; 2017. 319-374.

(8) Comité Europeo para la Estandarización (CEN). Método Estándar UNE-EN 15662:2019. Alimentos de origen vegetal. Método múltiple para la determinación de residuos de plaguicidas mediante análisis basados en GC y LC tras extracción con acetonitrilo y limpieza mediante SPE por dispersión. Método QuEChERS.

(9) AOAC Official Method, 2007.01 Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, AOAC Int., Gaithersburg, USA, 2007.

(10) SANTE/11813/2017, Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.

(12) Base de Datos: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN>

(13) BOE: Ley 24/2003, de 10 de julio, de la Viña y del Vino.

Reglamento (UE) 2018/848 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de mayo de 2018, sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo.

<https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/fitosanitarios/>

Anastassiades, M.; Scherbaum, E.; Tisdelen, B.; Stajnbaher, D. Recent developments in QuEChERS methodology for pesticide multiresidue analysis. In Pesticide chemistry: crop protection, public health, environmental safety. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2007, 439-458.