

**ANÁLISIS POR GC/MS/MS Y LC/HRMS DE PLAGUICIDAS RESIDUALES EN
ARÁNDANOS COMERCIALIZADOS EN BUCARAMANGA**

Trabajo de grado para optar al título de Químico

Javier Alejandro SÁNCHEZ MORENO

Directora

Elena E. STASHENKO, QUÍMICA, PhD.

Codirector

Andrés Fernando GONZÁLEZ SUÁREZ, QUÍMICO, MSc.

**Universidad Industrial de Santander
Facultad de Ciencias
Escuela de Química
Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM
Bucaramanga
2025**

Agradecimientos

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi formación profesional. A mi hermano y a mi abuela, por ser fuente de inspiración y por inculcarme su osadía.

Quiero agradecer a mi codirector Andrés F. González, por acompañarme durante este gran desafío y estar dispuesto a brindarme su ayuda cuando la necesité. Agradezco a la profesora Elena Stashenko y al profesor Jairo René Martínez por despertar mi interés por la química analítica e inspirarme a crecer tanto profesional como personalmente. También agradezco el aprendizaje que he recibido de mis profesores a lo largo de la carrera profesional.

A mis amigos, compañeros y colegas de CENIVAM y CROM-MASS, gracias por toda su compañía y por hacer de este proceso una experiencia enriquecedora. Agradezco especialmente a Valeria, Manuel y Silvia por ser personas que alegraron mis días durante el desarrollo de este proyecto, y a quienes llevaré en mi memoria y en mi corazón.

Agradezco a la empresa FLORES FUNZA S.A.S. por su cooperación en el desarrollo del proyecto, y a los centros de investigación CIBIMOL y CROM-MASS por el soporte financiero proporcionado para esta investigación.

Contenido**Página**

1. Introducción.....	15
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo general.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3. Análisis bibliométrico.....	18
4. Estado del arte	20
4.1 Arándanos	20
4.2 Plaguicidas	23
4.3 Técnicas de extracción	32
4.4 Técnicas analíticas	36
4.5 Cuantificación	50
5. Materiales y métodos	52
5.1 Reactivos y solventes.....	52
5.2 Material de referencia certificado de plaguicidas.....	52
5.3 Equipos.....	53
5.4 <i>Software</i>	55
6. Metodología	56
6.1 Delimitación de los analitos	56
6.2 Análisis de MRC de plaguicidas por GC/MS/MS (QqQ)	56

ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN ARÁNDANOS	4
6.3 Análisis de MRC de plaguicidas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS	57
6.4 Extracción de plaguicidas en matriz de arándanos	58
6.5 Análisis de muestras adquiridas en el mercado local	60
7. Resultados y discusión	61
7.1 Análisis de plaguicidas por GC/MS/MS (QqQ)	61
7.2 Análisis de plaguicidas por LC/HRMS	68
7.3 Eficiencia de extracción y efecto matriz	73
7.4 Análisis de muestras adquiridas en el mercado local	81
8. Conclusiones	83
9. Referencias bibliográficas	84
Anexo A.	104
Anexo B.	105
Anexo C.	107
Anexo D.	108
Anexo E.	111

Lista de tablas

Página

Tabla 1. Compuestos activos de plaguicidas más vendidos durante el año 2022, en Colombia.	25
Tabla 2. Listado de residuos de plaguicidas regulados en arándanos según normatividad Colombiana.....	26
Tabla 3. Estructura de algunos plaguicidas, según su clasificación por familia química	30
Tabla 4. Clasificación de plaguicidas, según su grado de toxicidad, de acuerdo con la OMS.	31
Tabla 5. Técnicas de extracción utilizadas para el análisis de plaguicidas.....	35
Tabla 6. Variables y niveles del diseño experimental 2 ³ para la extracción de plaguicidas en arándano.....	60
Tabla 7. Transiciones de masas $F_p \rightarrow F_f$, energías de la cámara de colisiones activadas y ventanas de tiempo para MRM de los plaguicidas analizados mediante GC/MS/MS (QqQ)..	66
Tabla 8. Parámetros obtenidos de la curva de calibración externa en acetonitrilo para los 31 plaguicidas analizados por GC/MS/MS (QqQ).....	67
Tabla 9. Parámetros obtenidos de la curva de calibración externa en acetonitrilo para los 36 plaguicidas analizados por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.....	72
Tabla 10. Parámetros de la curva de calibración en matriz usando el método de extracción UAE, y GC/MS/MS (QqQ).....	78
Tabla 11. Parámetros de la curva de calibración en matriz usando el método de extracción UAE, y UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.....	79
Tabla 12. Plaguicidas detectados en muestras de arándanos obtenidos comercialmente en el área metropolitana de Bucaramanga.....	81

Lista de figuras

Página

Figura 1. Número de publicaciones científicas, en intervalos de tres años, sobre el análisis de plaguicidas en alimentos.....	18
Figura 2. Número de publicaciones científicas, por país, sobre el análisis de plaguicidas en alimentos	19
Figura 3. Genealogía de la variedad de arándano azul “Biloxi”	22
Figura 4. Plaguicidas con mayores números de registros en productos agroquímicos en Colombia.....	24
Figura 5. Porcentaje de ventas de plaguicidas en Colombia en el 2022, según la clasificación por su uso	25
Figura 6. Esquema de una trampa de iones cuadrupolar y diagrama de estabilidad de la trayectoria de iones	40
Figura 7. Diagrama del espectrómetro de masas Q-Exactive™	46
Figura 8. Diagrama de los métodos de extracción QuEChERS y UAE.....	59
Figura 9. Espectro de masas <i>full scan</i> del éster metílico del 2,4-D, obtenido por GC/MS	61
Figura 10. Espectro de masas <i>full scan</i> del profenofos, obtenido por GC/MS	63
Figura 11. Espectros de masas de iones-producto del ion <i>m/z</i> 337 de profenofos obtenido por GC/MS/MS (QqQ).....	63
Figura 12. Espectros de masas de iones-producto del ion <i>m/z</i> 372 de profenofos obtenido por GC/MS/MS (QqQ).....	64
Figura 13. Espectros de masas de iones-precursor del ion <i>m/z</i> 267 de profenofos obtenido por GC/MS/MS (QqQ).....	65

Figura 14. Distribuciones isotópicas para las especies $[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+Na]^+$ y $[M+K]^+$ obtenidas por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -HRMS para el plaguicida fipronil (1 mg/L)	69
Figura 15. Espectros de masas del imidacloprid, obtenidos por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -HRMS, en los modos de adquisición de masas <i>Full MS</i> – ddMS ² , <i>Full MS</i> – AIF y <i>Full MS</i> – DIA, con energías escalonadas en la celda de colisiones activadas (10, 20 y 40 eV)	70
Figura 16. EIC de la molécula protonada $[M+H]^+$ de imidacloprid, obtenida por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -HRMS, usando los modos de adquisición de masas <i>Full MS</i> – ddMS ² , <i>Full MS</i> – AIF y <i>Full MS</i> – DIA.....	71
Figura 17. Número de plaguicidas para los cuales se observó un cambio significativo ($p < 0,05$) del porcentaje de recuperación, tras la modificación de las variables independientes	74
Figura 18. Diagramas de interacción obtenidos a partir del diseño experimental 2 ³ para la relación muestra/solvente (m/s), temperatura (T) y tiempo (t) con respecto al porcentaje de recuperación de clomazona.....	74
Figura 19. Efecto matriz y porcentaje de recuperación de los métodos de extracción UAE y QuEChERS, para 36 plaguicidas analizados por UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -HRMS.....	75
Figura 20. Efecto matriz y porcentaje de recuperación de los métodos de extracción UAE y QuEChERS, para 31 plaguicidas analizados por GC/MS/MS (QqQ)	76
Figura 21. EIC obtenidas mediante UHPLC-ESI-Q- <i>Orbitrap</i> -HRMS del ion $[M+H]^+$ de imidacloprid, usando el modo de adquisición <i>Full MS</i> – ddMS ² , y sus respectivos espectros de masas.....	82

Lista de abreviaciones

2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético.
AC	<i>Alternating Current</i> , corriente alterna.
ACh	Acetilcolina.
AChE	Acetilcolinesterasa.
AIF	<i>All Ion Fragmentation</i> , fragmentación total de iones.
AOAC	<i>Association of Official Agricultural Chemist</i> , Asociación de Químicos Agrícolas Oficiales.
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i> , extracción acelerada con solvente.
AsocolBlue	Asociación Colombiana de <i>Blueberries</i> .
CE	<i>Collision Energy</i> , energía aplicada a la cámara de colisiones activadas.
CEN	Comité Europeo de Normalización.
Codex	<i>Codex Alimentarius</i> , Código Alimentario.
CV	Coefficiente de variación.
DC	<i>Direct Current</i> , corriente directa.
DDT	Diclorodifeniltricloroetano.
DL ₅₀	Dosis letal media.
d-SPE	<i>Dispersive Solid Phase Extraction</i> , extracción por dispersión en fase sólida.
e.g.	<i>Exempli gratia</i> , por ejemplo.
EE. UU.	Estados Unidos de América.
EI	<i>Electron Ionization</i> , ionización con electrones.

EIC	<i>Extracted Ion Current</i> , corriente iónica extraída.
ELCD	<i>Electrolytic Conductivity Detector</i> , detector de conductividad electrolítica.
ESI	<i>Electrospray Ionization</i> , ionización por electronebulización
F _f	Ion(es)-fragmento.
F _p	Ion(es)-precursor(es).
FPD	<i>Flame Photometric Detector</i> , detector fotométrico de llama.
FT	<i>Fourier Transform</i> , transformada de Fourier.
GC	<i>Gas Chromatography or Gas Chromatogram</i> , cromatografía de gases o cromatógrafo de gases, según el contexto.
GC/MS	<i>Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry</i> , cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
GC/MS/MS	<i>Gas Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry</i> , cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas <i>tándem</i> .
GC/MS/MS (QqQ)	<i>Gas Chromatography coupled with a Triple Cuadrupole Mass Spectrometer</i> , cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas con triple cuadrupolo.
HRMS	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i> , espectrometría de masas de alta resolución.
IBO	<i>International Blueberry Organization</i> , Organización Internacional de Arándanos.
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario.

<i>i.e.</i>	<i>Id est</i> , es decir.
INVIMA	Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.
ISTD	<i>Internal Standard</i> , estándar interno.
LC	<i>Liquid Chromatography or Liquid Chromatograph</i> , cromatografía de líquidos o cromatógrafo de líquidos, según el contexto.
LC/HRMS	<i>Liquid Chromatography coupled with High Resolution Mass Spectrometry</i> , cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de alta resolución.
LC/MS	<i>Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry</i> , cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas.
LC/MS/MS	<i>Liquid Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry</i> , cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas <i>tándem</i> .
UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS	<i>Ultra-High-Resolution Liquid Chromatography coupled to a High-Resolution Mass Spectrometer with a Quadrupole-Orbitrap Analyzer and Electrospray Ionization</i> , cromatografía líquida de ultra alta-resolución acoplada espectrómetro de masas de alta resolución con cuadrupolo- <i>Orbitrap</i> con ionización por electronebulización.
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> , extracción líquido-líquido.
LMR	Límite máximo de residuos.
LoD	<i>Limit of Detection</i> , límite de detección.
LoQ	<i>Limit of Quantification</i> , límite de cuantificación.
m/s	Relación muestra/solvente.

<i>m/z</i>	Relación masa/carga.
MAE	<i>Microwave-Assisted Extraction</i> , extracción asistida por microondas.
MRC	Material de referencia certificado.
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i> , monitoreo de reacciones múltiples.
MS	<i>Mass Spectrometry or Mass Spectrum</i> , espectrometría de masas o espectro de masas, según el contexto.
MS/MS	<i>Tandem Mass Spectrometry</i> , espectrometría de masas <i>tandem</i> en el espacio.
MSD	<i>Mass Selective Detector</i> , detector selectivo de masas.
MSPD	<i>Matrix Solid-Phase Dispersion</i> , dispersión de matriz en fase sólida.
NPD	<i>Nitrogen-Phosphorous Detector</i> , detector de nitrógeno-fósforo.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PLOT	<i>Porous-Layer Open Tubular Columns</i> , columnas tubulares abiertas de capa porosa.
PRM	<i>Parallel Reaction Monitoring</i> , monitoreo de reacciones paralelas.
PSA	<i>Primary/Secondary Amine</i> , amina primaria/secundaria.
PVDF	<i>Polyvinylidene Fluoride</i> , fluoruro de poli(vinilideno).
Q-Orbitrap	Analizador de masas cuadrupolo- <i>Orbitrap</i> .
QqQ	Analizador de masas de triple cuadrupolo.
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Robust and Safe</i> , extracción rápida, fácil, barata, efectiva, robusta y segura.
R ²	Coefficiente de determinación.
S/N	<i>Signal to Noise Ratio</i> , relación señal/ruido.

SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i> , extracción con fluido supercrítico.
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i> , monitoreo de iones seleccionados.
SPE	<i>Solid-Phase Extraction</i> , extracción en fase sólida.
SPME	<i>Solid-Phase Micro-Extraction</i> , microextracción en fase sólida.
T	Temperatura.
t	Tiempo.
UAE	<i>Ultrasonic-Assisted Extraction</i> , extracción asistida por ultrasonido.
USD	Dólar estadounidense.
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> , Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.
XSD	Detector selectivo de halógenos.

Resumen

Título: Análisis por GC/MS/MS y LC/HRMS de plaguicidas residuales en arándanos comercializados en Bucaramanga.

Palabras clave: espectrometría de masas *tándem*, espectrometría de masas de alta resolución, análisis de plaguicidas.

Autor: Javier Alejandro SÁNCHEZ MORENO.

El cultivo de arándanos es emergente en Colombia. Dado su éxito en países vecinos como Chile y Perú, se espera que el cultivo de arándanos se haga más prominente en el futuro. Considerando su potencial para exportación, es importante explorar métodos para la determinación de contaminantes como plaguicidas en esta fruta. El objetivo de este estudio fue analizar muestras de arándano obtenidas comercialmente, usando GC/MS/MS y LC/HRMS para la determinación de múltiples residuos de plaguicidas. Los extractos de arándano se obtuvieron por dos técnicas de extracción, *i.e.*, extracción asistida por ultrasonido (UAE) y el procedimiento QuEChERS. El análisis se realizó por GC/MS/MS (QqQ) y UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS. Cinco muestras de arándano se adquirieron comercialmente en mercados del área metropolitana de Bucaramanga, de los 36 plaguicidas analizados, siete se detectaron en las muestras. Dos de ellos, imidacloprid (71,3 µg/kg) y carbendazim (34,84 µg/kg), fueron cuantificados por encima de los niveles máximos de residuos establecidos en Colombia para esta fruta.

Abstract

Title: Analysis by GC/MS/MS and LC/HRMS of pesticide residues in blueberries obtained commercially in Bucaramanga.

Keywords: *tandem* mass spectrometry, high-resolution mass spectrometry, pesticide analysis.

Author: Javier Alejandro SÁNCHEZ MORENO.

Blueberries are an emerging crop in Colombia. Given its success in other neighboring countries, such as Chile and Peru, it is expected that blueberry farming will become more prominent soon. Considering its potential for exportation, it is important to explore methods for analysis of contaminants, such as pesticides, in this fruit. The objective of this study was to analyze commercial blueberry samples using GC/MS/MS and LC/HRMS to determinate multiple pesticide residues. Blueberry extracts were obtained using two extraction techniques, *i.e.* ultrasound-assisted extraction (UAE) and QuEChERS procedure. Analysis of the extracts was carried out by GC/MS/MS (QqQ) and UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS. Five blueberry samples were acquired from markets in the metropolitan area of Bucaramanga, out of the 36 pesticides analyzed, seven were detected in the samples. Two of them, imidacloprid (71,3 µg/kg) and carbendazim (34,84 µg/kg), were found above the maximum residue level established in Colombia for this fruit.

1. Introducción

La demanda de alimentos a nivel global ha incentivado el desarrollo de estrategias que permitan mejorar el rendimiento de los cultivos. La calidad y la cantidad de la cosecha de una plantación dependen de qué tan bien se protege esta de enfermedades, plagas, *arvensis* y factores abióticos. La forma más común de proteger un cultivo de las plagas es usando plaguicidas (Hristova-Cherbadzhi, 2022). Los plaguicidas se emplean con el fin de inhibir el desarrollo o aumentar la mortalidad de las plagas. Dependiendo de cuál sea el tipo de plaga al que esté dirigida la sustancia, esta puede ser clasificada como herbicida, fungicida o insecticida, entre otros. Algunos plaguicidas, además de ser tóxicos para la plaga de interés, resultan tóxicos para una variedad de seres vivos, incluyendo el ser humano, por lo que el consumo de alimentos con niveles de plaguicidas altos puede afectar la salud de una población a largo plazo (Ahmad *et al.*, 2024). Como consecuencia de esto, el nivel de residuos de plaguicidas en productos para el consumo humano se regula en cada país, estableciendo el límite máximo de residuos (LMR) para distintos tipos de plaguicidas que, dependiendo de su toxicidad, persistencia en el ambiente y potencial de bioacumulación, pueden ser tan bajos como 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (*Codex Alimentarius*, 2021). Adicionalmente, algunas organizaciones productoras de alimentos han encontrado valor comercial al mostrar que sus productos están libres de estas sustancias tóxicas, siendo esto uno de los criterios necesarios para obtener una certificación de cultivo orgánico, ecológico o biológico.

El cultivo de arándanos en Colombia es reciente, pero con proyección de alcanzar un potencial de exportación alto en el país. Si bien, el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) es la entidad encargada de realizar el análisis de

plaguicidas residuales en alimentos producidos en Colombia, este tipo de estudios nunca han sido realizados en esta fruta (INVIMA, 2024a).

Desde el punto de vista de la química analítica se han buscado técnicas y metodologías que permitan la identificación y la cuantificación simultánea del mayor número de plaguicidas. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS) y la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC/MS) son técnicas que comúnmente han sido utilizadas para este tipo de análisis debido a su alta sensibilidad y capacidad para la identificación y la cuantificación de plaguicidas en matrices complejas. El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis mediante GC/MS y LC/MS de plaguicidas residuales en arándanos comercializados en el mercado local de Bucaramanga, Colombia.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue implementar un método de extracción y análisis de plaguicidas residuales presentes en arándanos, obtenidos en mercados de Bucaramanga, usando y comparando, en cuanto a especificidad y sensibilidad, las técnicas de GC/MS/MS (QqQ) y UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS.

2.2 Objetivos específicos

Los siguientes fueron los objetivos específicos, a saber:

- Implementar las técnicas de análisis instrumental GC/MS/MS (QqQ) y UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS para determinar residuos de plaguicidas en extractos de arándano.
- Evaluar la eficiencia de extracción de algunos plaguicidas mediante las técnicas QuEChERS y extracción asistida por sonicación (UAE), en matriz de arándano.
- Evaluar algunas figuras de mérito para el método de extracción y análisis instrumental para determinar plaguicidas residuales en arándanos.
- Analizar algunos plaguicidas, mediante la metodología implementada, en muestras de arándanos obtenidos comercialmente en los mercados de Bucaramanga.

3. Análisis bibliométrico

La investigación sobre el desarrollo de las técnicas analíticas que permitan la detección de residuos de plaguicidas en alimentos ha aumentado en los últimos años, como se puede observar en la **Figura 1**. El número de publicaciones científicas en el último periodo (2021-2023) fue más de cuatro veces mayor que el número de publicaciones realizadas en los años 1997-1999.

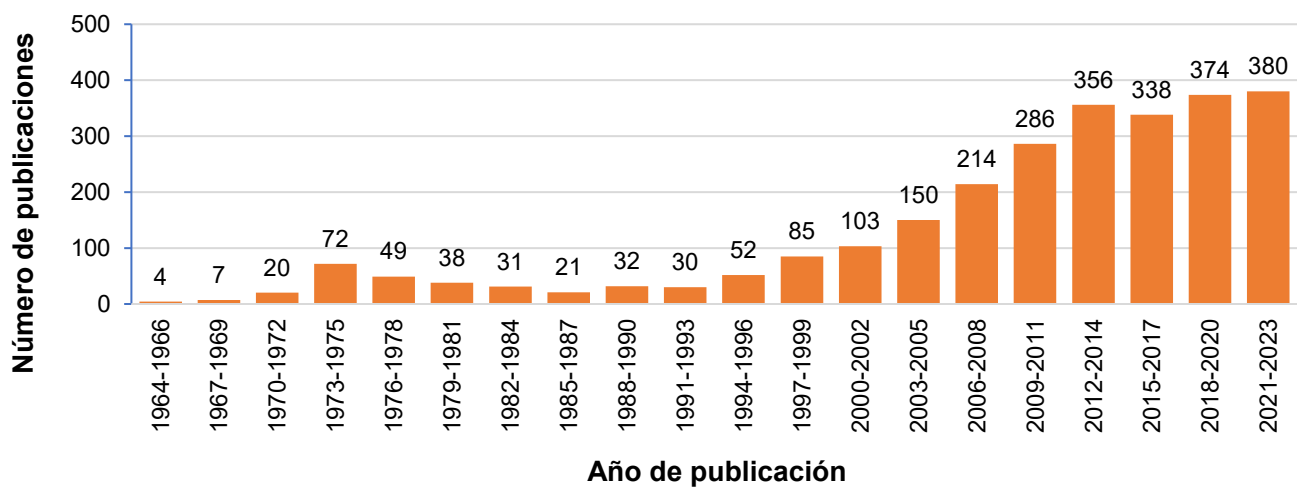


Figura 1. Número de publicaciones científicas, en intervalos de tres años, sobre el análisis de plaguicidas en alimentos. Periodo de observación: 1964-2023. Fecha de consulta: 6 de junio de 2023. Ecuaciones de búsqueda: ("*pesticide analysis*" OR "*pesticide detection*" OR "*pesticide residue*") AND ("*food*" OR "*food samples*" OR "*food products*") AND ("*analytical methods*" OR "*quantitative analysis*" OR "*determination*"). Base de datos: Scopus (Elsevier).

La mayoría de las publicaciones son artículos científicos publicados en las revistas *Journal of Chromatography A*, *Food Chemistry*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *Chinese Journal of Chromatography Se Pu* y *Journal of AOAC International*. La investigación abarca varias áreas del conocimiento, pero, principalmente, las áreas de química, agricultura, ciencias biológicas, bioquímica, genética y biología molecular. El país con mayor número de publicaciones sobre el análisis de plaguicidas en frutas ha sido China (**Figura 2**), seguido de

España y los Estados Unidos de América (EE. UU.); Colombia ocupa el puesto 39 con 11 publicaciones. La investigación en el tema ha sido realizada en al menos 101 países.

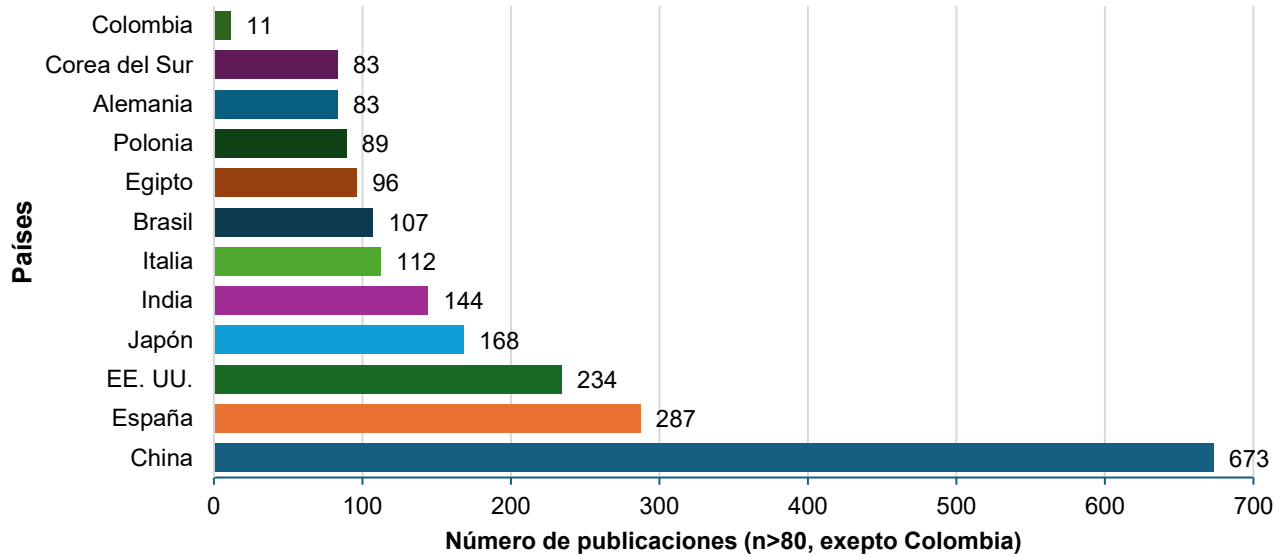


Figura 2. Número de publicaciones científicas, por país, sobre el análisis de plaguicidas en alimentos. Periodo de observación: 1964-2023. Fecha de consulta: 6 de junio de 2023. Ecuación de búsqueda: ("pesticide analysis" OR "pesticide detection" OR "pesticide residue") AND (food OR "food samples" OR "food products") AND ("analytical methods" OR "quantitative analysis" OR "determination"). Base de datos: Scopus (Elsevier).

4. Estado del arte

4.1 Arándanos

Los arándanos son un tipo de bayas de arbusto pertenecientes al género *Vaccinium*. Este género incluye a varias frutas como el arándano rojo, el agraz y el arándano azul. Algunas de las especies de arándano azul más conocidas son *Vaccinium corymbosum* L., *V. angustifolium* y *V. virgatum*, todas originarias de Norteamérica. En la industria de alimentos los arándanos pueden ser encontrados en forma de productos procesados como batidos, tortas, entre otros. Sin embargo, estos se consumen principalmente en la forma de frutas frescas. Según la Organización Internacional de Arándanos (IBO), la producción global de arándanos frescos en 2021 fue de 1,2 millones de toneladas, siendo los principales productores de ese año Perú, China y los EE. UU. Perú presentó un aumento en su producción del 94% en el 2021 con respecto al 2019, posicionándose como el principal productor de arándanos frescos a nivel mundial (IBO, 2022), adicionalmente, este ha sido el país con mayores cosechas por hectárea, con 19,2 kg/ha. Parte del éxito que ha tenido este cultivo en Perú se atribuye a las condiciones climáticas estables que permiten que la temporada de crecimiento se dé durante todo el año (Camacho, 2023), esto presenta oportunidades de producción en países con condiciones climáticas similares como Colombia, en donde las primeras exportaciones de arándanos frescos se realizaron en el 2018 (Ministerio de Comercio, Industria y Turismo, 2022).

En Colombia, aproximadamente 600 ha están dedicadas al cultivo de arándano azul (IBO, 2022), la mayoría, ubicadas en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá (Bustillo-Álvarez, 2018). Según la Asociación Colombiana de *Blueberries* (AsocolBlue), las condiciones agroecológicas y agroclimáticas de esta región, como la alta luminosidad y suelos ácidos con baja salinidad, favorecen al cultivo de arándano, otorgándole un sabor dulce y permitiendo la

producción continua durante todo el año (AsocolBlue, 2016). El principal destino de exportación de los arándanos colombianos son los EE. UU. En 2021 se exportaron 401 t de arándanos a este país, lo que representa un total de \$1.981 mil USD (Ministerio de Comercio, Industria y Turismo, 2022).

Algunas de las especies dentro del género *Vaccinium*, entre ellas, el *V. corymbosum* L., tienen la capacidad de hibridarse fácilmente con otras especies del mismo género. En consecuencia, desde los inicios del siglo XX se ha realizado un proceso de mejoramiento genético del arándano, con el objetivo de cambiar algunas características de los arándanos como el color, la firmeza, el tamaño, el sabor del fruto, la altura, la resistencia a las plagas y el requerimiento de frío de la planta (Hancock *et al.*, 1996). Los arándanos azules que se obtienen de forma comercial corresponden a híbridos de las especies previamente mencionadas. Este proceso permitió que el cultivo de arándanos se extendiera a otros lugares del mundo, con diferentes requerimientos de frío. En la actualidad, una de las variedades de arándano azul más común es “Biloxi”. La genealogía de esta variedad se presenta en la **Figura 3**.

Los arándanos azules requieren permanecer entre 0 a 1200 h al año bajo una temperatura de 7 °C, lo que les permite cumplir su reposo invernal; deben ser plantados en un suelo libre de malezas y con un pH entre 4,4 y 6,0. Necesitan ser sembrados en suelos sueltos y drenados, con sistema de riego permanente. Los arándanos suelen ser cultivados en hileras, por lo general, usando algún tipo de acolchado o *mulch* (Hancock y Retamales, 2012).

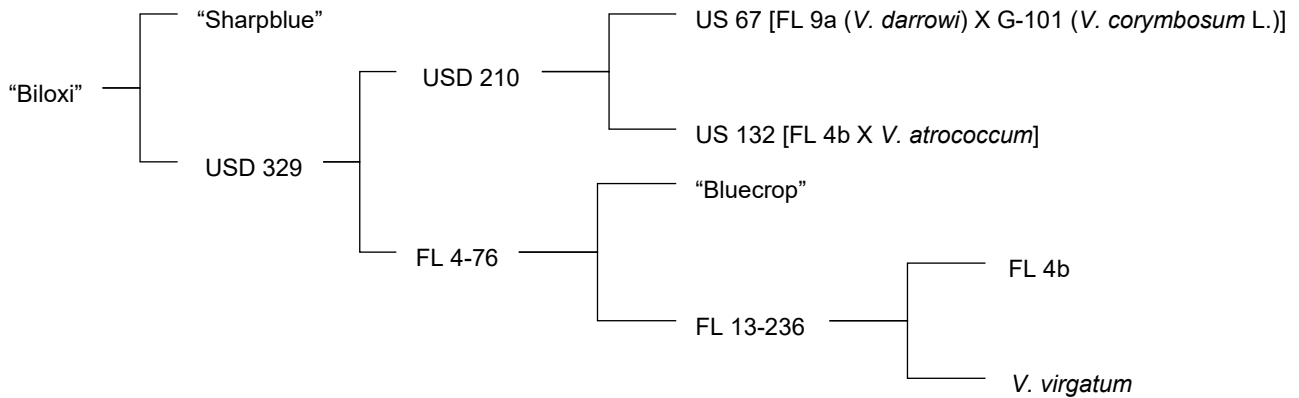


Figura 3. Genealogía de la variedad de arándano azul “Biloxi”. Adaptado de Spiers *et al.*, 2002.

Las cosechas destinadas para el consumo directo no suelen tener ningún tipo de tratamiento posterior a la recolección, además de los controles de clasificación por calidad e inspección fitosanitaria realizados por las empresas. Para el transporte y almacenamiento de la producción, esta se mantiene refrigerada entre 0 °C y 8 °C.

Los arándanos son afectados por múltiples pestes. Algunas de las más conocidas son hongos de los géneros *Alternaria*, *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Fusicoccum*, *Monilinia*, *Phomopsis*, *Phyllosticta*, *Pestalotiopsis* y *Verticillium*; pseudohongos del género *Phytophthora*; bacterias del género *Agrobacterium* y *Pseudomonas*; y animales de los géneros *Frankliniella*, *Ancognatha*, *Dactylopius* y *Ceratitis* (Cline y Milholland, 1996; Undurraga *et al*, 2013). Como en cualquier otro tipo de plantación, el rendimiento de los cultivos dependerá en parte de qué tan bien se realice el control de estas plagas; si bien existen otros métodos de control de plagas como el control biológico o cultural, el control químico de plagas es el tipo de control más común debido a su costo bajo y aplicación sencilla.

4.2 Plaguicidas

Un plaguicida es una sustancia o conjunto de sustancias que se usan para prever, destruir, repeler o mitigar una plaga. De forma general, los plaguicidas están compuestos por dos tipos de sustancias: (1) los ingredientes activos, que son los responsables de generar el efecto deseado y (2) los ingredientes inertes que son mezclados con los componentes activos con el fin de servir como diluyente de estas sustancias, mejorar la penetración del plaguicida, facilitar el método de su aplicación, prolongar la vida útil del producto, aumentar la seguridad del aplicador, entre otras funciones (US EPA, 2022). Cerca de 1000 diferentes compuestos se usan como plaguicidas, incluyendo metabolitos y productos de degradación (Wong *et al.*, 2018).

En Colombia, los productos agroquímicos deben ser registrados en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Para el caso de los plaguicidas, los titulares del producto deben establecer dos tipos de períodos para autorizar el uso del plaguicida en un cultivo. (1) El período de reingreso, que corresponde al tiempo entre la aplicación de los plaguicidas y el ingreso de personas, sin elementos de protección personal, al cultivo tratado. (2) El período de carencia, que hace referencia al intervalo entre la aplicación de los plaguicidas y la cosecha. Esto, con el fin de reducir la residualidad de los plaguicidas en el producto final. Actualmente, 28 productos de plaguicidas están registrados y autorizados para el control de plagas, específicamente, para el cultivo arándanos, para un total de 24 ingredientes activos autorizados comercialmente (ICA, 2023). Sin embargo, a menudo, suceden los casos cuando se utilizan plaguicidas no autorizados específicamente para el cultivo. Aproximadamente 400 diferentes compuestos activos de plaguicidas están autorizados en Colombia. En la **Figura 4**

aparecen diez plaguicidas con mayores números de registros en productos agroquímicos en Colombia, para el año 2024 (ICA, 2023).

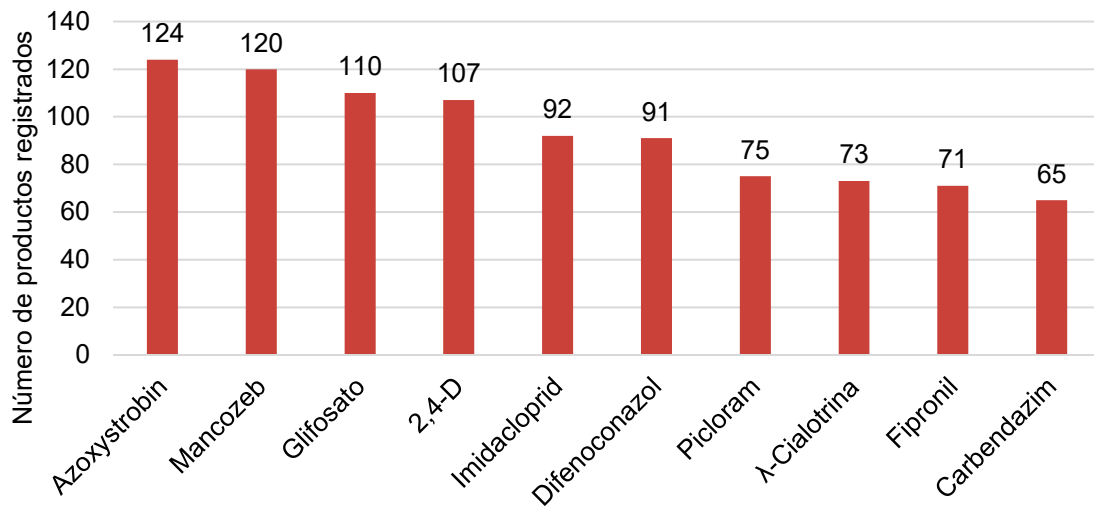


Figura 4. Plaguicidas con mayores números de registros en productos agroquímicos en Colombia. Adaptado de ICA, 2023.

Los plaguicidas se comercializan comúnmente como líquidos o como sólidos para disolver antes de su aplicación. Desde el 2008, el ICA ha reportado (Véase la **Figura 5**) la producción y la venta de plaguicidas en Colombia (ICA, 2022). Para el último informe, del año 2022, se reportaron un total de ventas de 124 mil toneladas de plaguicidas en presentación sólida y 68 mil metros cúbicos de plaguicidas en presentación líquida. Los plaguicidas más vendidos durante el año 2022 aparecen en la **Tabla 1**.

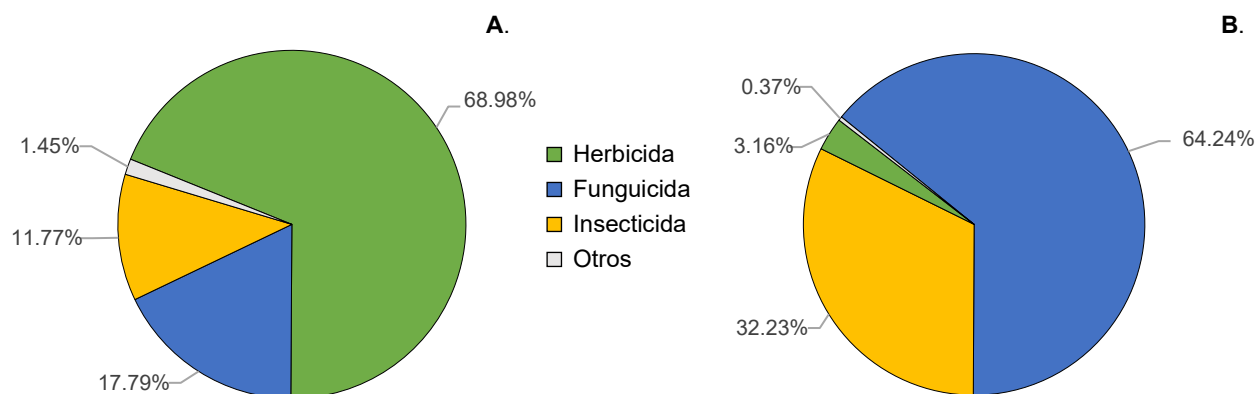


Figura 5. Porcentaje de ventas de plaguicidas en Colombia en el 2022, según la clasificación por su uso, para: **A.** Presentación sólida y **B.** Presentación líquida. Adaptado de ICA, 2022.

Tabla 1. Compuestos activos de plaguicidas más vendidos durante el año 2022, en Colombia. Adaptado de ICA, 2022.

Presentaciones sólidas	t	Presentaciones líquidas	m ³
Metomil	32711	Paraquat	4646
Mancozeb	29100	Cihalofop	3867
Triadimefón	26726	Metiltiofanato	3418
Miclobutanil	17289	Kasugamicina	3073
Ciromazín	2754	Cipermetrín	2848
Clorpirifos	1791	Triadimefón	2790
Quinclorac	731	Glifosato	2674
Thiametoxam y λ -cialotrina	699	Flutriafol	2081
Pendimetalín	517	Fipronil, tiametoxam y ciproconazol	1714
2,4-D	447	Bispiribac	1400

El límite máximo de plaguicidas en arándanos está regulado en Colombia por la Resolución número 2906 de 2007 (Ministerio de la Protección Social, 2007), esta, a su vez, se ajusta a los LMR dispuestos en el *Codex Alimentarius* en donde de los 238 plaguicidas contemplados en el *Codex*, 49 tienen LMR establecidos para arándanos (*Codex Alimentarius*, 2021). Adicionalmente, 31 ingredientes activos de plaguicidas se encuentran prohibidos en Colombia. En total, 95 residuos de plaguicidas que, están regulados en Colombia para los arándanos, aparecen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Listado de residuos de plaguicidas regulados en arándanos según normatividad Colombiana (*Codex Alimentarius*, 2021; Ministerio de la Protección Social, 2007).

1,2-dibromoetano	Clorpirifos	Fenbuconazol	Malatión	Protioconazol
2,4,5-T	Clotianidina	Fenhexamida	Mancozeb	Piraclostrobina
2,4,5-TP	Ciantraniliprol	Fenpirazamina	Maneb	Pirimetanil
2,4-D	Ciclaniliprol	Fipronil	Mesotriona	Piriofenona
Abamectina B1a	Cihalotrina	Fluazifop- <i>p</i> -butil	Metconazol	Spinetoram J
Abamectina B1b	Ciprodinil	Fludioxonilo	Metoxifenozyd	Spinetoram L
Acetamiprid	DDD	Flumioxazina	Metilazinfos	Spinosad A
Albesilato	DDE	Fluopiram	Metilparatión	Spinosad D
Aldrina	DDT	Flupiradifurona	Metiram	Tebuconazol
Azoxistrobín	Dibromocloropro	Fluxapiroxad	Mirex	Tebufenozida
Bifentrín	Dicofol	Fonofos	Miclobutanil	Tiacloprid
Boscalid	Dieldrina	Glufosinato	Novaluron	Tiametoxam
Bromometano	Difenoconazol	Glifosato	Paraquat	Triforine
Canfecloro	Dinoseb	Heptaclor	Paratión	Vinclozolin
Captafol	Endosulfán	Hexaconazol	Pendimetalín	Zineb
Captan	Endrina	Imidacloprid	Pentaclorofenol	
Carbendazim	Etefón	Iminoctadín	Pentiopirad	
Clorantraniliprol	Espirodiclofé	Isofetamida	Fosmet	
Clordano	Espiromesifén	Leptofos	Pirimicarb	
Clordimeformo	Espirotetramato	Lindano	Procimidona	

En Colombia, el INVIMA es la entidad encargada de verificar los estándares de calidad e inocuidad de los alimentos. El INVIMA ha realizado monitoreos de residuos de plaguicidas en frutas frescas obtenidas en establecimientos de procesamiento de frutas en Colombia desde el 2011 hasta el 2024. En el último informe del programa de monitoreo, se encontraron aproximadamente 100 residuos de plaguicidas en cinco frutas, recolectadas en diferentes partes del país, usando GC/MS/MS y LC/MS/MS. En este estudio, la mora y la fresa fueron las frutas con mayor presencia de plaguicidas (INVIMA, 2024a). Hasta la fecha, el arándano no ha sido incluido en los programas de monitoreo (INVIMA, 2024b).

Los plaguicidas se clasifican con base en diferentes criterios, entre ellos, figuran la composición química, toxicidad, aplicación y tipo de plaga que controlan. Según su composición química, los plaguicidas se dividen en tres grandes grupos: (1) orgánicos, (2) inorgánicos y (3) biológicos. Los más comunes son los plaguicidas orgánicos, que, a su vez, se dividen, según sus familias químicas.

- Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas organoclorados hacen referencia a un grupo de compuestos cuya estructura química es similar a la de un hidrocarburo con uno o más átomos de hidrógeno sustituidos por átomos de cloro, muchos de estos compuestos son solubles en la grasa lo que lleva a su bioacumulación (Abubakar *et al.*, 2020; Sannino, 2008; Zacharia, 2011). Quizá, uno de los compuestos más famosos de este grupo es el diclorodifeniltricloroetano (DDT), patentado por el químico suizo Paul Müller en 1940, quien recibió el Premio Nobel de Medicina en 1948 debido a la eficiencia del DDT para combatir enfermedades como el tifus y la malaria. Alrededor de 30 años, después de ser patentado, el uso de este compuesto en la agricultura sería prohibido en varios países porque se descubrieron efectos adversos en la fauna silvestre

y potencialmente en los humanos (Eskenazi *et al.*, 2009; Tubbs, 2016). Los plaguicidas organoclorados son compuestos poco polares y muy estables, se usan comúnmente como insecticidas. La toxicidad de los plaguicidas suele asociarse a la interacción de estas moléculas con el sistema nervioso central. Los plaguicidas organoclorados, interactúan con los canales de sodio de las neuronas, inhibiendo su desactivación, provocando que estos se mantengan abiertos por tiempos más prolongados, lo que puede llevar a su bloqueo, generando parálisis y, potencialmente, a la muerte (Abubakar *et al.*, 2020; Sannino, 2008; Tsai, 2014; Zacharia, 2011; Zhorov y Dong, 2017).

- Plaguicidas organofosforados

Los plaguicidas organofosforados son derivados de ésteres de ácido fosforoso y fosfórico. De forma similar a los plaguicidas organoclorados, éstos se usan principalmente como insecticidas. La toxicidad de los plaguicidas organofosforados está atribuida principalmente a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), encargada de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina (ACh). Los plaguicidas organofosforados inhiben AChE mediante un mecanismo antagonista competitivo, es decir, la molécula ocupa el sitio activo de la enzima, impidiendo la unión del receptor con su ligando y resultando en la acumulación de ACh en el espacio sináptico. ACh interactúa con dos receptores, (1) nicotínicos que son proteínas de canal de iones activadas por ligando, y (2) muscarínicos, que son receptores acoplados a la proteína G. La inhibición de AChE puede resultar en una variedad de efectos, como parálisis y convulsiones, hasta la muerte (Costa y Aschner, 2014; Gupta, 2006). Algunos plaguicidas organofosforados pueden causar una inhibición irreversible de la AChE (King y Aaron, 2015). Entre los compuestos más representativos de esta familia se encuentran glifosato, paratión y malatión.

- Carbamatos

Los carbamatos son compuestos derivados del ácido carbámico. Estos plaguicidas también son inhibidores de AChE, sin embargo, a diferencia de los plaguicidas organofosforados, los carbamatos no producen efectos tóxicos irreversibles en un organismo (Gupta, 2014; King y Aaron, 2015).

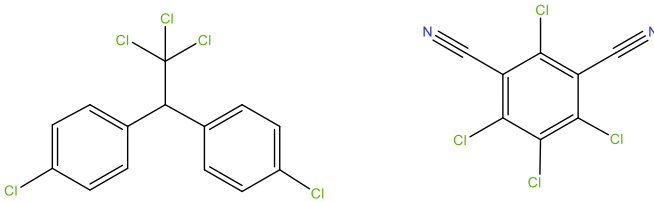
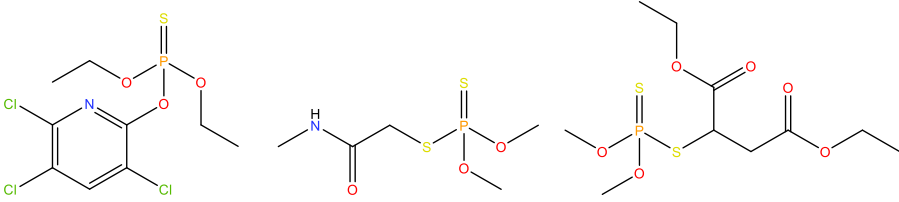
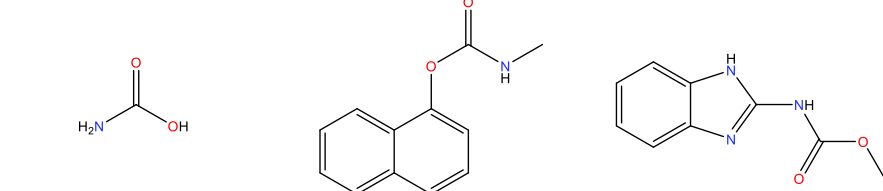
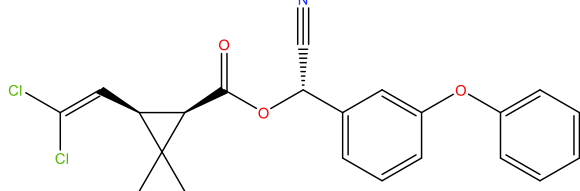
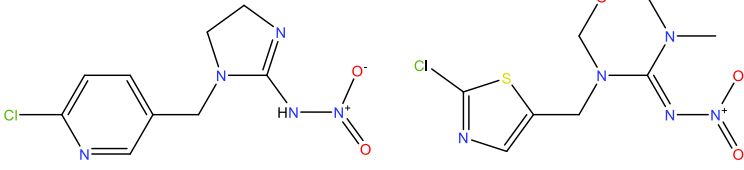
- Piretroides

Los piretroides son compuestos derivados de las piretrinas, originalmente aislados de flores de plantas del género *Chrysanthemum*, se usan como ingredientes activos para el control de insectos, tienen una baja toxicidad en mamíferos y se degradan rápidamente por exposición a la luz (Abubakar *et al.*, 2020; Zacharia, 2011). Su mecanismo de toxicidad es similar al de los plaguicidas organoclorados (Lebelo *et al.*, 2021).

- Neonicotenoides

Los neonicotenoides son plaguicidas sintéticos introducidos en el mercado en 1991, poseen estructura similar a la de la nicotina, son agonistas de los receptores nicotínicos de ACh. Similar a los piretroides, estos compuestos son moderadamente tóxicos para los mamíferos (Seifert, 2014). En la **Tabla 3**, se muestran algunos de plaguicidas de cada familia química.

Tabla 3. Estructura de algunos plaguicidas, según su clasificación por familia química.

Familia química	Ejemplos
Organoclorados	 <p data-bbox="643 514 699 548">DDT</p> <p data-bbox="992 514 1114 548">Clortalonil</p>
Organofosforados	 <p data-bbox="578 808 699 842">Clorpirifos</p> <p data-bbox="862 808 984 842">Dimetoato</p> <p data-bbox="1179 808 1284 842">Malatión</p>
Carbamatos	 <p data-bbox="537 1123 732 1157">Ácido carbámico</p> <p data-bbox="870 1123 967 1157">Carbaril</p> <p data-bbox="1162 1123 1325 1157">Carbendazim</p>
Piretroides	 <p data-bbox="740 1396 878 1430">Deltametrín</p>
Neonicotenoideos	 <p data-bbox="651 1690 797 1724">Imidacloprid</p> <p data-bbox="1040 1690 1187 1724">Tiametoxam</p>

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los ingredientes activos de los plaguicidas se pueden clasificar a partir de su toxicidad a partir de su dosis letal media (DL₅₀), que es un estimado estadístico del número de miligramos de sustancia por kilogramo de peso corporal para matar el 50 % de una población; los criterios de clasificación se encuentran en la **Tabla 4**, en la cual se listan y se clasifican algunos de los plaguicidas reconocidos por la OMS (OMS, 2020).

Tabla 4. Clasificación de plaguicidas, según su grado de toxicidad, de acuerdo con la OMS.

Clase	DL ₅₀ (mg/kg)	
	Oral	Dérmica
Ia Muy nocivo	<5	<50
Ib Altamente nocivo	5-50	5-200
II Moderadamente nocivo	50-2000	200-2000
III Levemente nocivo	Mayor de 2000	
U Poco probable de presentar peligro	Mayor de 5000	

Otra forma de clasificar los plaguicidas es por su aplicación o modo de entrada, que hace referencia a la manera en la que el plaguicida entra en contacto con el organismo. Los plaguicidas de contacto sistémico son aquellos que tienen la capacidad de ser absorbidos por un organismo por medio de sus tejidos. Algunos de estos plaguicidas pueden ser metabolizados por los organismos. Los plaguicidas no sistémicos o de contacto son aquellos que no tienen la capacidad de penetrar el tejido de los organismos, por tanto, este tipo de sustancias debe entrar en contacto con la plaga para producir el efecto deseado. Dentro de los plaguicidas no sistémicos se incluyen sustancias fumigantes, que funcionan mediante la producción de vapores tóxicos y sustancias repelentes (Abubakar *et al.*, 2020; Sannino, 2008).

4.3 Técnicas de extracción

La preparación de la muestra es una etapa muy importante en la cadena de análisis químico. En esta etapa se busca remover interferencias de la matriz, extraer la mayor cantidad de analito posible y remover sustancias que no sean compatibles con los sistemas de separación y detección (Stashenko y Martínez, 2011). Dentro de los procesos de preparación de la muestra, los procesos de extracción son aquellos en donde se busca el aislamiento de los analitos de interés (analitos *target*) de una matriz. En el caso del análisis de plaguicidas, este proceso representa un desafío debido a la diversidad de la naturaleza química de estos compuestos. Múltiples investigaciones se han enfocado en buscar la manera de extraer estas sustancias de forma simultánea para su posterior detección, a este tipo de metodologías se les denomina métodos de multi-residuo, que hoy en día, han permitido la extracción y la detección de cientos de plaguicidas de forma simultánea (Pang, 2018; Wang *et al.*, 2014, 2017; Xie *et al.*, 2022).

Uno de los métodos de extracción preferidos para el análisis de plaguicidas es el método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Robust, Safe*). El método consiste en realizar una extracción con solvente, usualmente acetonitrilo, con *salting out*, usando sales como $MgSO_4$ y $NaCl$ y posterior purificación de la matriz o *clean-up* por medio de una extracción por dispersión en fase sólida (d-SPE) (Anastassiades *et al.*, 2003). Algunas variaciones de este método incluyen un ajuste de pH, la adición de una solución *buffer* o el uso de otros solventes y sales en el proceso de extracción, con el fin de aumentar la eficiencia de extracción de los analitos (Mandal *et al.*, 2023; Pareja *et al.*, 2011; Perestrelo *et al.*, 2019; Rejczak y Tuzimski, 2015). Existen dos versiones oficiales del método de extracción, su principal diferencia es el uso de acetato de sodio como *buffer* en el método AOAC (Lehotay *et al.*, 2007), y citrato de sodio en

el método del Comité Europeo de Normalización (CEN) (CEN, 2008). La eficiencia de extracción de diferentes plaguicidas ha sido evaluada en diferentes matrices, mostrando las recuperaciones aceptables para ambos métodos (España-Amórtegui y Guerrero-Dallos, 2014; Lehotay *et al.*, 2010).

Otro método de extracción para el análisis de plaguicidas es la extracción en fase sólida (SPE), que se emplea principalmente para muestras líquidas, como por ejemplo, para el análisis de muestras ambientales provenientes de cuerpos de agua (Hassaan y El-Nemr, 2020; Hennion, 1999; Montes *et al.*, 2020; Nakhjavan *et al.*, 2021). La separación de las interferencias de los analitos *target* se logra introduciendo la muestra en un cartucho empacado con una matriz sólida en donde los compuestos de interés se retienen. Posteriormente, adicionando un solvente, los compuestos se eluyen de la matriz sólida y se almacenan en un recipiente para su posterior análisis. SPE es un método de extracción rápido y sencillo de aplicar (Hassaan y El-Nemr, 2020; Hernández-Mesa *et al.*, 2020).

La micro-extracción en fase sólida (SPME) es un método de extracción que, usualmente acoplado a un equipo de cromatografía de gases, permite la extracción y análisis de los componentes volátiles o volatilizables de la muestra, sin el uso de solventes (Hernández-Mesa *et al.*, 2020; Zhang y Pawliszyn, 1993). La técnica consiste en la adsorción o absorción del compuesto de interés sobre una fibra con un recubrimiento polimérico y su posterior liberación por medio de desorción térmica que ocurre en el puerto de inyección, típicamente, de un cromatógrafo de gases. Este método de extracción se ha usado, por ejemplo, para el análisis de plaguicidas en leche (Martínez-Mejía, 2010).

Uno de los métodos más sencillos es la extracción de plaguicidas asistida por ultrasonido o sonicación (UAE). La muestra y el solvente de extracción se someten a la acción

de ondas de ultrasonido, *i.e.*, ondas acústicas con una frecuencia superior a 20 kHz. Este tipo de extracción se realiza en baños de ultrasonido o con sondas de sonicación. En un líquido, la interferencia de estas ondas acústicas genera zonas de alta y baja presión, que contraen y expanden burbujas, o cavitaciones, de gases disueltos en el solvente, eventualmente, conduciendo al rompimiento y la formación de nuevas burbujas de menor tamaño. El efecto de la cavitación ha mostrado mejorar la eficiencia de contacto entre la muestra y el solvente, resultando en un aumento en la eficiencia de extracción (Chemat *et al.*, 2017). Este método se usa para el análisis de contaminantes en suelos (Tadeo *et al.*, 2010), y también para el análisis de plaguicidas en frutas (Du *et al.*, 2022; Pérez y Alberó, 2023; Sergazina *et al.*, 2021).

Otros métodos de extracción también se usan para el análisis de plaguicidas, algunos de ellos, se describen en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Técnicas de extracción utilizadas para el análisis de plaguicidas. Adaptado de Hassaan y El-Nemr, 2020 y Mandal *et al.*, 2023.

Técnica	Matriz	Características
QuEChERS	Frutas frescas y vegetales, té.	Rápido, sencillo, económico, efectivo, robusto y seguro.
Extracción en fase sólida (SPE)	Jugos de fruta, agua, fruta fresca.	Económico, sencillo, versátil.
Micro-extracción en fase sólida (SPME)	Agua, frutas, vegetales, jugo de naranja, mandarina, uvas.	Rápido, solo para compuestos volátiles o volatilizables.
Extracción asistida por ultrasonido (UAE)	Uvas.	Rápido, sencillo.
Dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD)	Banano, mango, melón, papaya, piña, guanábana, manzana, durazno, pera, ciruela.	Versátil, laborioso, poco reproducible.
Extracción con solvente acelerada (ASE)	Frutas frescas y vegetales.	Automatizado, rápido, requiere poco solvente, requiere un equipo especializado y secado previo de la fruta.
Extracción con fluido supercrítico (SFE)	Pepino, papa, rábano, manzana, banano, arroz, tomate, naranja, puerro, uvas.	Selectivo, requiere de un equipo especializado, requiere secado previo de la fruta.
Extracción asistida por radiación de microondas (MAE)	Fresa, manzana, cáscara de naranja.	Rápido, poco selectivo.
Extracción Soxhlet	Manzanas.	Extracción lenta, requiere cantidades de solvente grandes.
Extracción líquido-líquido (LLE)	Uvas, vino, leche chocolatada, puré de manzana, puré de tomate, jugo de limón, jugo de naranja.	Extracción lenta, requiere cantidades de solvente grandes.

4.4 Técnicas analíticas

La cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida (LC) acoplada a la espectrometría de masas (MS) son técnicas analíticas utilizadas para el análisis de plaguicidas debido a su capacidad de identificar y cuantificar compuestos con una repetitividad y sensibilidad altas (Granados-Povedano *et al.*, 2023; Vargas-Pérez *et al.*, 2020; Wong *et al.*, 2010). De forma general, la cromatografía permite la separación de los componentes de la muestra. Su identificación y cuantificación se realiza con diferentes sistemas de detección, entre los que se destaca el detector selectivo de masas. En una columna cromatográfica la separación de los componentes de la muestra ocurre debido a su interacción con la fase móvil y la fase estacionaria de la columna. Para el análisis de plaguicidas, no existe una columna específica que se use universalmente, por tanto, el análisis en columnas de fase reversa, fase normal incluyendo aquellas con interacción hidrofílica, de intercambio de iones o de carbón grafito poroso son aceptables para este tipo de análisis, cuando se emplea la cromatografía líquida; para análisis por GC, tanto columnas capilares, como columnas PLOT (por sus siglas en inglés, *Porous-Layer Open Tubular Columns*) son utilizadas (European Commission, 2021). La selección entre la GC y LC depende de la naturaleza química de los analitos, compuestos volátiles y volatilizables son analizados por GC, mientras que compuestos termolábiles, polares y de peso molecular más alto se analizan por LC. GC/MS y LC/MS pueden presentar una mayor selectividad y confiabilidad para algunos tipos de plaguicidas. De forma general, LC/MS ha mostrado tener una mayor sensibilidad que GC/MS para la mayoría de plaguicidas, exceptuando los plaguicidas organoclorados (Alder *et al.*, 2006).

Existen diversos detectores que pueden acoplarse a un cromatógrafo, que se clasifican en universales, selectivos y específicos (Stashenko y Martínez, 2009). Los detectores

universales generan una respuesta ante cualquier sustancia, mientras que los selectivos y específicos permiten registrar solo determinados compuestos.

El análisis de plaguicidas es un análisis de sustancias a nivel de trazas, lo que implica trabajar con compuestos que se encuentran en una matriz en concentraciones muy bajas. Los detectores selectivos permiten reducir el ruido químico, lo que mejora significativamente la sensibilidad del análisis. Los detectores de nitrógeno-fósforo (NPD), de fotométrico de llama en modos de fósforo y azufre (FPD-P y FPD-S), de conductividad electrolítica (ELCD) y el detector selectivo de halógenos (XSD) se han utilizado para el análisis de plaguicidas. Estos detectores poseen la selectividad alta hacia compuestos que contienen átomos de azufre, bromo, cloro y fósforo, y se emplean principalmente para la detección de plaguicidas organoclorados y organofosforados (Wong *et al.*, 2019). Sin embargo, una limitación de estos detectores es que no proporcionan suficiente información estructural para identificar los analitos. Por ello, para la identificación y la confirmación de un analito empleando este tipo de detectores, ha sido necesario recurrir a múltiples sistemas de detección o de separación (Lehotay *et al.*, 2008; Stoev y Mihailova, 2004).

La espectrometría de masas se usa como un detector de un sistema de separación cromatográfica. En esta técnica, los componentes introducidos al espectrómetro de masas se ionizan, se fragmentan y generan iones, característicos de cada compuesto de interés. Los iones se detectan, según su relación masa carga (m/z) y la corriente iónica se mide por el detector selectivo de masas (MSD). Esto produce un espectro de masas que es típico, característico para cada molécula, lo que permite obtener información sobre su peso molecular, grupos funcionales presentes y, en algunos casos, composición elemental, geometría e isomerismo espacial (Kind y Fiehn, 2007; Stashenko y Martinez, 2017). Esta técnica, en acople

con GC y LC, ha sido la técnica preferida para el análisis de plaguicidas, por su capacidad de cuantificar e identificar una variedad grande de compuestos (Wong *et al.*, 2019).

Existen varias formas de ionizar las moléculas orgánicas para su posterior análisis por el MSD. En el caso de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC/MS), el tipo de ionización más común es la ionización con electrones (EI, *Electron Ionization*, por sus siglas en inglés), que consiste en dirigir y acelerar electrones, producidos por un filamento de tungsteno. Se producen especies químicas con carga positiva, como se describe en la **Ecuación 1**. Usualmente, los electrones se aceleran a una energía tal que las colisiones con las moléculas neutras resultan, predominante, en la formación no solamente de iones moleculares ($M^{+\cdot}$, **Ecuación 1**), sino productos de su fragmentación. Los mecanismos de fragmentación de estas moléculas han sido el foco de estudio de múltiples investigaciones (McLafferty y Tureček, 1993).



Este tipo de ionización ha sido difícil de usar en el acople con la cromatografía líquida, debido a la presencia de fase móvil y el manejo de altas presiones y flujos de solventes en el proceso cromatográfico (Famiglioni *et al.*, 2021). A pesar de que algunas configuraciones han mostrado permitir el acople de EI con la cromatografía líquida (Famiglioni *et al.*, 2008), otros tipos de ionización a presión atmosférica como, por ejemplo, electronebulización (ESI) y ionización química a presión atmosférica (APCI) se utilizan prevalentemente para la cromatografía líquida hoy en día (Stachniuk y Fornal, 2016).

La ionización por electronebulización o ESI, es un tipo de ionización “suave”, en comparación con la EI. El proceso de ionización por ESI no involucra la formación de muchos fragmentos (Fenn *et al.*, 1989). Este tipo de ionización se usa comúnmente en la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC/MS). El proceso de ionización consiste en la aplicación de un voltaje en la punta de un capilar, desde el cual la solución del analito es eyectada. Esto genera gotas cargadas eléctricamente en su superficie que progresivamente disminuyen su tamaño debido a la vaporización de solvente (desolvatación) y a la repulsión de las cargas, hasta el punto en el que la gota será desintegrada, formando gotas cada vez más pequeñas, que contienen moléculas o iones de interés. Finalmente, se forma un ion en fase gaseosa que se atrae por un potencial hacia el capilar de transferencia de iones, conducente al analizador de masas (Banerjee y Mazumdar, 2012). A diferencia de la EI, este modo de ionización aún no tiene una revisión y conclusión comprensiva sobre los mecanismos de fragmentación de las especies moleculares ionizadas (Niessen, 2010). Sin embargo, algunas revisiones y estudios se han hecho al respecto para varios conjuntos de moléculas, incluyendo plaguicidas (Holčapek *et al.*, 2010; Niessen, 2010).

Cómo se detectan y se miden las corrientes de iones, depende del tipo de analizadores del espectrómetro de masas. Existen varios tipos, quizá, el más común es el cuadrupolo. Este dispositivo está conformado por dos pares de electrodos alineados de forma paralela (Véase **Figura 6A**) a los cuales se les aplican corrientes eléctricas directa y alterna, que generan un campo eléctrico que dirige los iones desde uno de los extremos del cuadrupolo hasta el otro. El movimiento los iones, está descrito a partir de las ecuaciones de Mathieu (Douglas, 2009). A partir de estas, se describen regiones de estabilidad e inestabilidad de las trayectorias de los iones en el cuadrupolo a determinadas relaciones entre los potenciales de corrientes alterna

(AC) y directa (DC), aplicadas a los electrodos (March, 2005). La **Figura 6B** muestra un ejemplo de las regiones de estabilidad e inestabilidad en el cuadrupolo; a determinados parámetros a y q , obtenidos de la **Ecuación 2**, el ion atraviesa el espacio cuadrupolar.

$$a = \frac{-8eU}{mr_0^2\Omega^2} ; q = \frac{4eV}{mr_0^2\Omega^2} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Cuando la trayectoria de los iones es inestable, estos chocarán con las paredes del cuadrupolo perdiendo su carga y, por tanto, no se detectarán. Los iones que se mantienen en la región de estabilidad atraviesan el espacio cuadrupolar y llegan al detector, que para este tipo de analizador de masas suele ser un electromultiplicador o fotoelectromultiplicador. En este dispositivo, los iones colisionan con la placa de un electrodo, liberando un electrón por medio emisión secundaria; este, a su vez, se acelera hacia el segundo electrodo liberando más electrones y amplificando la señal; ello se repite entre electrodos de dínodo discreto, varias veces, permitiendo que la corriente de un ion se amplifique unas 10^7 - 10^8 veces.

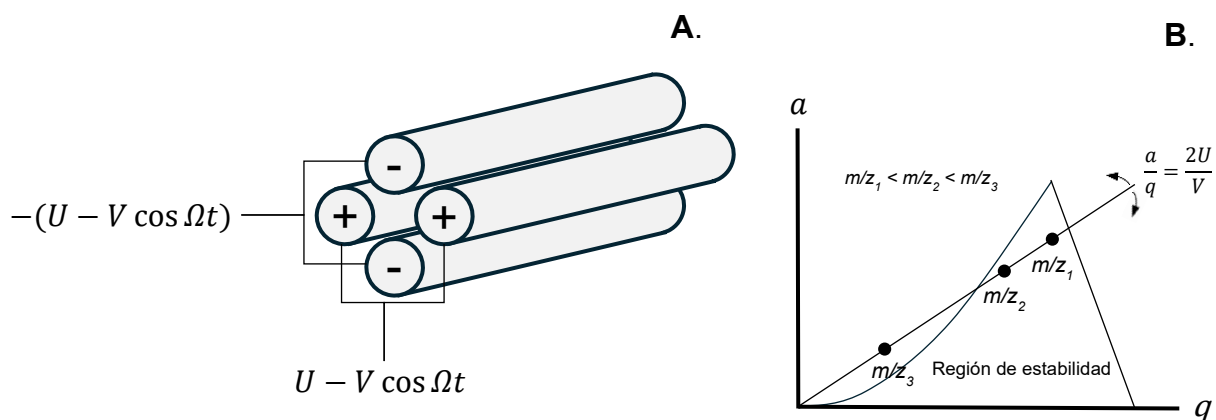


Figura 6. **A.** Esquema de una trampa de iones cuadrupolar y **B.** Diagrama de estabilidad de la trayectoria de iones.

Los parámetros a y q dependen de los voltajes DC (U) y AC (V) aplicados a los electrodos, así como de r_0^2 , que corresponde a la mitad de la distancia entre electrodos opuestos, y Ω^2 , que corresponde a la frecuencia de AC (Paul, 1990). El cuadrupolo puede ser operado en tres modos. Cuando no se aplica ningún voltaje DC ($a = 0$), el cuadrupolo funciona en modo de guía de iones, también llamado modo de radiofrecuencia, permitiendo que todos los iones atraviesen el espacio cuadrupolar, a un V determinado. Conforme se aumenta la relación a/q mediante la aplicación de un voltaje DC ($a > 0$), se reduce el rango de m/z de los iones que permanecen estables, hasta llegar el punto en el que solo los iones con m/z específico son transmitidos hacia el electromultiplicador. Si los valores de U y V son constantes en el tiempo, el cuadrupolo funciona en el modo de monitoreo de iones seleccionados (SIM, *Selected Ion Monitoring*, por sus siglas en inglés). Mientras que si se varía la magnitud de los valores U y V a una relación U/V constante, los iones con diferente m/z pasarán secuencialmente el espacio cuadrupolar, permitiendo su detección, a este modo se le conoce como modo de barrido o *full scan* (Gross, 2017).

Uno de los enfoques importantes para el desarrollo de los espectrómetros de masas es aumentar la capacidad de resolver picos con masas muy cercanas. Esto resulta de interés puesto que la masa exacta de un ion proporciona información sobre su composición elemental (Li *et al.*, 2021). La resolución, o poder de resolución (Murray, 2022), se define como la capacidad de un analizador de un espectrómetro de masas de distinguir entre picos que difieren en su valor de masa/carga (m/z) por un incremento $\Delta m/z$ (Beynon, 1974). Los analizadores de baja resolución miden las masas nominales de los iones, que son definidas como la masa redondeada al número entero más cercano, mientras que analizadores de alta resolución permiten la determinación de masas exactas (Brenton y Godfrey, 2010).

El propósito de medir masas con una mayor resolución es porque a partir de la masa exacta, se logra determinar la composición elemental de una molécula, lo que facilita su identificación. Esto es posible debido a una propiedad de la materia llamada defecto de masa. Durante la formación de un átomo, diferentes cantidades de energía se requieren para la formación y estabilización de su núcleo (energía de enlace nuclear) (Sleno, 2012). Como resultado, cada molécula posee una masa exacta específica, asociada a su composición elemental. De esta manera, el uso de analizadores de masa de alta resolución brinda información sobre la masa exacta y la composición elemental de los analitos.

El *Orbitrap* es otro analizador de masas. Los iones, introducidos a una trampa de iones con un electrodo en forma de huso en el medio, empiezan a orbitar radialmente. Debido a la forma del electrodo central, los iones oscilan axialmente a una frecuencia constante dependiente de su relación masa/carga (Makarov, 2000; Zubarev y Makarov, 2013). La imagen de corriente inducida por la oscilación axial de los iones se detecta por un electrodo exterior (antena). Aplicando la transformada de Fourier (FT, *Fourier Transform*, por sus siglas en inglés), esta señal se logra deconvolucionar en los valores de m/z de los iones presentes en la trampa de iones. El *Orbitrap* es un analizador de masas de alta resolución (HRMS), lo que significa que es capaz de distinguir entre las masas muy cercanas y medir las masas de los iones con alta exactitud ($\Delta\text{ppm} < 1 \text{ ppm}$. Véase **Ecuación 3**).

$$\Delta\text{ppm} = \left(\frac{\text{Masa medida} - \text{Masa teórica}}{\text{Masa teórica}} \right) * 10^6 \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Orbitrap, a diferencia de otros analizadores de masa, como, por ejemplo, el cuadrupolo, no mide corrientes de iones de manera continua. En lugar de esto, una trampa de iones, usualmente referida como *C-Trap*, almacena los iones producidos en la fuente de ionización y

los impulsa discretamente hacia el analizador de masas. El *Orbitrap* puede operar a diferentes resoluciones de masas, que están asociadas al tiempo de medición y el número de oscilaciones que realizan los iones en el *Orbitrap*; los iones con valores de m/z ligeramente distintos, diferirán ligeramente en su frecuencia de oscilación, al aumentar el tiempo de medición y permitir que los iones tengan un mayor número de oscilaciones, es posible diferenciar entre estos iones. Un mayor número de oscilaciones y un mayor tiempo de medición resulta en un aumento del poder de resolución. Operar el equipo con el mayor poder de resolución no siempre es la elección óptima, porque el número de lecturas (puntos) que describen el cromatograma serán menores, debido al aumento en el tiempo de medición.

El *Orbitrap*, a menudo, viene acompañado de una celda de colisiones activadas, permitiendo el uso de diferentes modos de adquisición. *Full scan*, es cuando todos los iones producidos en la fuente de ionización se analizan. La fragmentación total de iones (AIF, *All Ion Fragmentation*, por sus siglas en inglés), es cuando los iones producidos en la fuente de ionización se dirigen a una cámara de colisiones activadas, donde se aceleran por un campo eléctrico, en presencia de moléculas neutras, usualmente nitrógeno, con el fin de generar colisiones e inducir la fragmentación de los iones, para su posterior análisis. Este segundo modo resulta muy útil, cuando se emplea la ionización suave, e.g., ESI, debido a que los iones obtenidos por este tipo de ionización son predominantemente moléculas protonadas y deprotonadas, y, para propósitos de su identificación, es importante también detectar fragmentos de esta molécula. En muchos equipos, es posible alternar entre estos dos modos de adquisición, lo que permite obtener espectros de masas, con y sin fragmentación de sustancias durante toda la corrida cromatográfica, a este modo de operación, se le conoce como *Full MS – AIF*.

La espectrometría de masas *tándem* (MS/MS), abrió un nuevo campo en el estudio estructural por medio de espectrometría de masas. Uno de los sistemas *tándem* más comunes es un analizador de triple cuadrupolo (QqQ), cuando los cuadrupolos están ubicados en serie, uno tras otro, el primer y tercer cuadrupolo funcionan como un cuadrupolo convencional, que pueden operar tanto en modo *full scan* como en modo SIM, y el segundo cuadrupolo (en el medio) se usa como una cámara de colisiones activadas. Este tipo de adquisición de corrientes iónicas ofrece diferentes modos de registro de datos, entre ellos, figuran los modos de ion-producto, ion-precursor, monitoreo de reacciones múltiples (MRM), pérdida de fragmento neutro, entre otros. A continuación, una breve explicación de cada uno de los modos de adquisición.

MRM es un modo de adquisición MS/MS en donde el primer analizador de masas del equipo trabaja en modo SIM, que “filtra” los iones precursores (F_p), previamente seleccionados, que pasan a una cámara de colisiones en donde se fragmentan, y posteriormente, en el segundo analizador de masas, también trabajando en modo SIM, los iones-producto (F_f) característicos de la fragmentación del compuesto de interés se filtran y se detectan. Este modo de adquisición es altamente selectivo puesto que para que una señal sea detectada, tanto los iones-precursores como los iones-fragmento deben coincidir con los seleccionados. Usualmente dos a tres transiciones de masa $F_p \rightarrow F_f$ son necesarias para identificar un analito. A partir del registro de estas transiciones es posible detectar con un alto grado de confianza la presencia de un analito en una muestra compleja (Stashenko y Martínez, 2010). La optimización de la energía aplicada en la cámara de colisiones activadas permite aumentar la sensibilidad del método MRM.

La selección de estas transiciones de masas, de iones precursores y producto, es un paso crucial para el desarrollo de un método sensible y para evitar reportes de falsos negativos o positivos. Existen algunos criterios de selección para detectar transiciones de masas (Lehotay *et al.*, 2008), entre ellos, figuran: (1) el ion-precursor preferiblemente debe ser el ion-molecular o el producto directo de fragmentación del ion molecular con una masa cercana, transiciones de masa de iones de bajo peso molecular tienden a ser más genéricas, por lo que no son representativas del compuesto de interés; (2) el ion-precursor de la transición de masas debe ser abundante: escoger un ion-precursor con una baja intensidad disminuye la sensibilidad. (3) Hay que evitar seleccionar iones-producto comunes para muchas sustancias, *e.g.*, ion tropilo (m/z 91). Para el estudio de estas transiciones, se usan los modos adquisición de “iones-precursores” y “iones-producto”, ello para estar seguro y confirmar el vínculo “genético” entre los iones seleccionados.

En el modo de adquisición de “iones-producto”, el primer cuadrupolo funciona en modo SIM, permitiendo la entrada de un precursor previamente seleccionado, que se fragmenta en la cámara de colisiones activadas (segundo cuadrupolo) y sus fragmentos (productos) se dirigen al tercer cuadrupolo, que trabaja en modo *full scan*. De esta forma, es posible determinar cuáles son los fragmentos (productos) del precursor seleccionado.

En el modo de adquisición de “iones-precursores”, el primer cuadrupolo funciona en modo *full scan*, los iones se introducen a la cámara de colisiones activadas (segundo cuadrupolo) produciendo fragmentos que se dirigen al tercer cuadrupolo que trabaja en modo SIM que filtra un ion-producto de interés. Esto permite establecer cuáles son los iones-precursores del ion seleccionado en el tercer cuadrupolo.

El *Orbitrap* también ha sido utilizado en combinaciones *tándem*, como en el caso del *Q-Orbitrap*. En esta configuración, un cuadrupolo se sitúa antes de la *C-Trap*, lo que permite filtrar los iones de interés, antes de su almacenamiento en la trampa de iones (*C-Trap*) para su posterior análisis. Un esquema de un equipo con esta configuración se puede observar en la **Figura 7**.

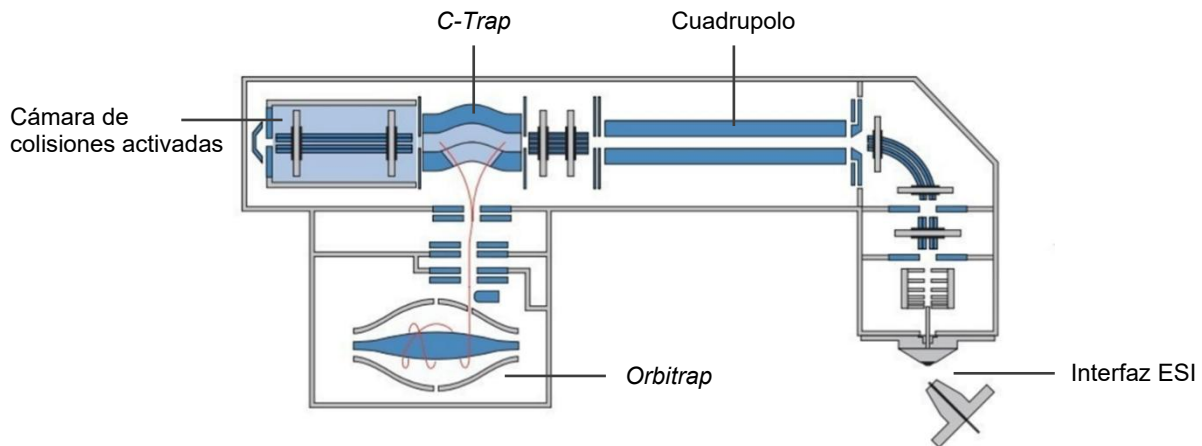


Figura 7. Diagrama del espectrómetro de masas Q-Exacte™. Adaptado de Michalski *et al.*, 2011.

Esta configuración permite el uso de otros modos de adquisición, como SIM, y monitoreo de reacciones paralelas (PRM, *Parallel Reaction Monitoring*, por sus siglas en inglés), que funciona de forma similar al modo de “iones-producto” en el QqQ, cuando iones seleccionados, se filtran por el cuadrupolo, luego se almacenan en la *C-Trap*, para ser enviados a la cámara de colisiones activadas y posterior análisis en el *Orbitrap*.

Otro modo de adquisición es DIA (*Data Independent Analysis*, por sus siglas en inglés), en el cual, el modo de adquisición *full scan* es seguido de la fragmentación secuencial de segmentos del rango de masas seleccionado, lo que mejora la selectividad de los fragmentogramas, debido a que los iones-producto producidos de la fragmentación resultan de un rango menor de iones precursores (Zomer y Mol, 2015). También se encuentra el modo

Full MS – ddMS², cuando el equipo se mantiene en modo *full scan*, hasta detectar un ion previamente seleccionado cuya intensidad supere un umbral determinado, cuando esto ocurre, los iones se filtran por el cuadrupolo, se acumulan en la *C-trap* y se envían a la cámara de colisiones activadas, para su posterior análisis en el *Orbitrap*, generando un fragmentograma para el ion de interés. Posteriormente, el equipo vuelve a operar en *full scan*, hasta que otro de los iones seleccionados se detecte por encima del umbral.

Estos modos de adquisición, en conjunto con *Full MS* - AIF han sido utilizados y comparados para el análisis múltiples residuos de plaguicidas (Rajski *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2019), cada uno con sus ventajas y desventajas. *Full MS* – PRM es preferido para el análisis de compuestos *target*, en los casos donde el número de compuestos para analizar es bajo, ya que un número más alto de analitos aumenta el tiempo del ciclo del método, resultando en una disminución de la cantidad de *scans* necesarios para reconstruir el cromatograma. Alternativamente, *Full MS* - ddMS² puede ser usado cuando el número de compuestos a analizar es alto. *Full MS* – DIA es recomendado en el caso que se desee realizar análisis *no-target* o de *screening*.

La espectrometría de masas es una técnica sumamente versátil, que, dependiendo del tipo de equipo, modo de ionización, analizador y adquisición de datos, puede funcionar como un detector universal, o un detector selectivo o específico, para un sistema cromatográfico. El análisis de plaguicidas, desde el punto de vista regulatorio, suele ser visto como un análisis de compuestos-*target*, cuando se sabe de antemano qué sustancias se requiere detectar. Tradicionalmente, este análisis se ha realizado mediante GC/MS, usando un analizador de triple cuadrupolo (QqQ), operado en el modo MRM. Con la aparición y comercialización de analizadores de masas de alta resolución, como *Orbitrap*, ha sido posible realizar este tipo de

análisis *target*, mediante el uso de modos de adquisición *no-target*, permitiendo el análisis simultáneo de muchos contaminantes manteniendo una sensibilidad y selectividad altas (Rajski *et al.*, 2017, 2019; Wong *et al.*, 2018).

El efecto matriz se define como el efecto combinado de los componentes presentes en la muestra, en la respuesta del analito (Guilbault y Hjelm, 1989), ya sea aumentando o suprimiendo la señal. Para el caso de LC/MS, el efecto matriz se asocia con los procesos que ocurren en la interfaz de ionización. En el caso de ESI, la presencia de interferencias puede alterar la tensión superficial del solvente, cambiando la eficiencia de ionización de los analitos (Gosetti *et al.*, 2010; Kwon *et al.*, 2012).

En GC/MS, el efecto matriz está asociado con el proceso de inyección de la muestra al cromatógrafo de gases (Kwon *et al.*, 2012, 2018). La muestra, que usualmente se encuentra en estado líquido, debe ingresar al cromatógrafo de gases, procurando que los componentes de la muestra no cambien su composición química, por ejemplo, debido a degradación térmica.

El sistema de inyección *split/splitless* es uno de los sistemas más populares para GC (Tipler, 2012). Este permite el uso de dos modos de inyección. El modo *split*, es cuando la muestra se introduce al puerto de inyección, donde sus componentes se vaporizarán en un tubo de vidrio de borosilicato, llamado *liner*, que da lugar hacia la columna cromatográfica. Un gas inerte, helio, actúa como gas de arrastre, empujando los componentes de la muestra hacia y durante su recorrido por la columna cromatográfica. En la inyección *split*, el gas que entra al *liner*, tiene un flujo alto. Sin embargo, una válvula en el puerto de inyección, llamada válvula *split*, se abre, permitiendo que la mayoría del flujo salga por ella. Por ejemplo, para un flujo total de 104 mL/min, 3 mL/min saldrían por una línea de purga, conocida como purga del *septum*, 100 mL/min saldrían por la válvula *split* y 1 mL/min entrará a la columna

cromatográfica. A esta inyección se le llamaría una inyección *split*, puesto que la relación entre el flujo que sale por la válvula *split* y el que entra a la columna cromatográfica = 100:1. Este tipo de inyección permite que la muestra entre rápidamente a la columna cromatográfica, lo que mejora la resolución de los picos. Sin embargo, una gran desventaja de este tipo de inyección es que solo una pequeña fracción de la muestra entra al cromatógrafo de gases, lo que podría generar un resultado falso negativo, en la determinación de analitos que se encuentran a bajas concentraciones. Por esta razón, este tipo de inyección no es recomendable para el análisis de compuestos a nivel de trazas.

En el modo de inyección *splitless*, la válvula *split* se mantiene cerrada, toda la muestra que fue inyectada ingresa al cromatógrafo de gases; el flujo total del gas que entra al sistema es mucho menor que el de una inyección *split*, debido a esto, los componentes de la muestra no entran en el mismo momento a la columna cromatográfica, lo que resulta en un ensanchamiento de los picos cromatográficos. Una forma de compensar esto es programar la temperatura inicial del horno cromatográfico a una temperatura 20 °C por debajo de la temperatura de ebullición del solvente en el cual se encuentra la muestra, con el fin de que los compuestos se condensen al entrar a la columna cromatográfica en un proceso llamado “crioenfocamiento”. Este es el método de inyección usado comúnmente para el análisis de plaguicidas por GC/MS.

En la inyección *splitless*, el flujo bajo del gas de arrastre favorece la interacción de los componentes de la muestra con las paredes del *liner* en el puerto de inyección. A pesar de que el *liner* esté fabricado con materiales inertes, algunos sitios activos en la superficie pueden interactuar con las moléculas inyectadas. Se ha observado, que la presencia de interferencias de la matriz puede generar un aumento en la respuesta de algunos analitos (Bulaić y Kovač,

2023). Esto ocurre porque las interferencias ocupan los sitios activos del *liner*, bloqueando la interacción de estos sitios con los analitos, facilitando la entrada de una mayor cantidad de analito a la columna cromatográfica, generando un efecto matriz positivo, y una sobreestimación de la señal obtenida, en el caso de que se utilice una curva de calibración en solvente para la cuantificación del analito (Erney *et al.*, 1993). El efecto contrario, conocido como efecto matriz negativo, también ha sido observado. En este caso, la introducción de interferencias al puerto de inyección genera más sitios activos, por ejemplo, por la introducción de compuestos no volátiles al puerto de inyección, lo que reduce la cantidad de analito que entra al sistema, disminuyendo la señal (De Sousa *et al.*, 2012; Giacinti *et al.*, 2017).

La determinación del efecto matriz, porcentaje de recuperación, límite de cuantificación, hacen parte de un conjunto de figuras analíticas usadas para demostrar la calidad, comparabilidad y precisión de los resultados, y son consideradas en procesos de validación de métodos analíticos (Codex Alimentarius, 2017; European Commission, 2022).

4.5 Cuantificación

La cuantificación permite determinar la cantidad o la concentración de un analito en una muestra. Existen varias formas de cuantificar un analito, esta puede ser absoluta, semicuantitativa o relativa (Cuadros-Rodríguez *et al.*, 2007; Visconti *et al.*, 2023). La cuantificación absoluta solo es posible en el caso de que se prepare una curva de calibración, ya sea de uno, dos, tres o más puntos, en un blanco de matriz (una matriz libre del compuesto de interés), este tipo de cuantificación se le llama cuantificación externa en matriz, y es el método preferido para la cuantificación de un analito, puesto que el efecto matriz se tiene en cuenta en la determinación de la concentración.

En el caso de no poseer un blanco de matriz, es posible recurrir a hacer una matriz sustituta, por ejemplo, usando la matriz original, realizándole un procedimiento de limpieza para eliminar de ella los compuestos de interés o usando una matriz simulada. Otra opción es usar otro tipo de calibración, como la calibración externa en solvente, en la cual la curva de calibración se construye en solvente. Sin embargo, esta metodología tiene la desventaja de que no se considera el efecto matriz.

Por otro lado, la calibración interna, no requiere de una curva de calibración, en su lugar, la respuesta del analito se compara con la de un estándar interno (ISTD, *Internal Standard*, por sus siglas en inglés) que es añadido al extracto, bajo la presunción de que ambos, analito e ISTD, presenten factores de respuesta similares, por este motivo, ISTD debe ser lo más parecido al analito de interés, idealmente un isotópologo del analito (Cuadros-Rodríguez *et al.*, 2001).

Otra alternativa es el método de adición estándar, en el cual extractos de la muestra son enriquecidos con diferentes cantidades del analito de interés y se crea una curva de calibración en la misma matriz que se desea analizar (Hasegawa *et al.*, 2021).

La normalización simple es un método de calibración relativa, en la que, para el caso de cromatografía, las cantidades de los compuestos se expresan con base en el área del pico cromatográfico sobre la suma de las áreas de todos los picos de los compuestos de la corrida cromatográfica. Este método no es recomendado para la cuantificación de analitos, puesto que cada molécula tendrá un factor de respuesta distinto, y su área no refleja precisamente su concentración en la muestra.

5. Materiales y métodos

5.1 Reactivos y solventes

Durante el proyecto se usaron tubos *Falcon*TM de poli(propileno) de alta densidad (libre de ADN); filtros *Millex-GV*[®] de fluoruro de poli(vinilideno) (PVDF) de tamaño de partícula 0,22 µm se obtuvieron de *Thermo-Fischer Scientific* (Waltham, MA, EE. UU.). Jeringas hipodérmicas estériles de 2 mL se obtuvieron de NIPRO (Bogotá, Colombia). Acetonitrilo, grado LC/MS *Lichrosolv*[®]; metanol, grado LC/MS *Lichrosolv*[®]; acetona, grado GC/MS *Suprasolv*[®]; *n*-hexano, grado GC/MS *Suprasolv*[®]; ácido fórmico *Suprapur*[®]; cloruro de sodio *Emsure*[®] y sulfato de magnesio *Emsure*[®] se obtuvieron de *Merck* (Darmstadt, Alemania). El formiato de amonio se obtuvo de *Alfa Aesar* (Tewksbury, MA, EE. UU.). El citrato disódico sesquihidratado se obtuvo de *Sigma-Aldrich* (St. Louis, MO, EE. UU.). El citrato trisódico dihidratado *ExpertQ*[®] se obtuvo de *Scharlab* (Senmanat, España). La amina primaria/secundaria (PSA, *Primary/Secondary Amine*, por sus siglas en inglés) *ENVIRO-CLEAN*[®] se obtuvo de *United Chemical Technologies* (Bristol, Reino Unido). El agua tipo I se obtuvo usando un sistema de purificación *Synergy*[®] UV de *Millipore* (Molsheim, Francia). El gas nitrógeno (> 99,9 %) se obtuvo de *Messer* (Bogotá, Colombia) y de un generador NM32LA de *Peak Scientific* (Inchinnan, Reino Unido).

5.2 Material de referencia certificado de plaguicidas

En el desarrollo experimental se usaron los siguientes plaguicidas: 2,4-D (99,5 %), carbaril (98,8 %), carbendazim (98,6 %), clorpirifos (99,6%), metil-clorpirifos (98,7 %), deltametrín (99,6 %), dimetoato (98,0 %), diurón (98,7 %), espiromesifén (99,6 %), fipronil (96,6 %), hexaconazol (98,3 %), imidacloprid (98,0 %), lufenurón (99,8 %), malatión (98,3 %), oxifluorfén (98,3 %), pendimetalín (98,8 %), permetrín (99,7 %), metil-pirimifos (95,5 %),

pretilaclor (99,2 %), propiconazol (99,0 %), piriproxifén (99,9 %), tebuconazol (98,8 %), tiametoxam (99,7 %), triadimenol (98,9 %) y vinclozolín (99,5 %) se adquirieron de *Dr. Ehrenstorfer* (Augsburgo, Alemania). Bifentrín (99,0 %), cipermetrín (95,2 %), fenbuconazol (99,5 %), metalaxil (99,0 %), profenofos (98,7 %) se compraron a *Sigma-Aldrich* (St. Louis, MO, EE. UU.). Clomazona (99,7 %), diazinón (99,9 %), difenoconazol (96,3 %), fenitrotión (98,3 %), penconazol (99,1 %) fueron adquiridos de *LGC Standards* (Wesel, Alemania). Miclobutanil (99,3 %) se compró a *Honeywell Fluka* (Seelze, Alemania).

5.3 Equipos

Se realizaron los análisis por GC/MS/MS (QqQ) en un cromatógrafo de gases *Agilent 7890A* (*Agilent Technologies* (AT), Palo Alto, CA, EE. UU.), equipado con una columna capilar de sílice fundida con 5 % -fenil, 95 % -metilpoli(siloxano), de 60 m (L); 0,25 mm (D.I.); 0,25 μm (df), DB-5MS (*J & W Scientific*, Folsom, CA, EE. UU.). Se usó una inyección en modo *splitless*, el volumen de inyección fue 2 μL . La temperatura del puerto de inyección fue de 250 °C. La programación de temperatura del horno cromatográfico fue la siguiente: 100 °C durante 3 min, 100-200 °C a 5 °C/min (20 min), 200 °C durante 10 min, 200-280 °C a 10 °C/min y 280 °C durante 30 min. El gas de arrastre fue helio (99,995 %, Messer, Bogotá, Colombia) con un flujo constante de 1 mL/min. El cromatógrafo se conectó con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (QqQ) *Agilent 7000B* (AT, Palo Alto, CA, EE. UU.) mediante una línea de transferencia con una temperatura de 310 °C. La temperatura en la cámara de ionización por EI fue de 300 °C. El gas de colisión fue helio, con un flujo de 1,5 mL/min. Se usaron cuatro modos de adquisición de corrientes iónicas: *full scan*, iones-producto, iones-precursor y MRM.

El análisis por LC/MS se realizó en un cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia (UHPLC) *Vanquish™ Flex* (*Thermo Scientific*, Waltham, MA, EE. UU.), equipado con una

columna *Zorbax Eclipse XDB-C₁₈* (AT, Santa Clara, CA, EE. UU.), de 50 mm (L), 2,1 mm (D.I.), 1,8 µm de tamaño de partícula. En la fase móvil se usó una fase A con una solución de formiato de amonio (5 mM) y ácido fórmico (0,1 % v/v) en agua tipo I, y una fase B, con una formiato de amonio (5 mM) y ácido fórmico (0,1 % v/v) en metanol, grado LC/MS. El flujo de la fase móvil se mantuvo en 300 µL/min durante toda la corrida cromatográfica. Se usó el modo gradiente, que inicialmente fue 0 % fase B, 0-100 % fase B a 12,5 %/min (8 min), 100 % fase B durante 4 min, 100-0 % fase B a -100 %/min (1 min) y 0 % fase B durante 7 min. El volumen de inyección fue de 2 µL. El cromatógrafo se conectó con un espectrómetro de masas de alta resolución *Q ExactiveTM Orbitrap* mediante una línea de transferencia y una interfaz de ionización por electronebulización *HESI-II* de *Thermo Scientific* (Bremen, Alemania). La temperatura de la línea (capilar) de transferencia de iones se mantuvo en 320 °C. El gas de secado fue nitrógeno con un flujo de 40 unidades arbitrarias, el flujo del gas auxiliar fue de 20 unidades arbitrarias y una temperatura de 350 °C. El flujo de gas de barrido fue de 20 unidades arbitrarias. El voltaje del capilar ESI se varió desde 1,5 kV a 5,5 kV. Se usó el modo de adquisición de masas *Full MS – AIF* con diferentes energías aplicadas en la celda de colisiones activadas (10, 20, 30 y 40 eV) en modo de iones positivos y negativos. También se usó el modo *Full MS – ddMS²* con una energía escalonada en la celda de colisiones activadas de 10, 20 y 40 eV, para los eventos *MS²*, en modo de iones positivos y negativos. El valor del *AGC target* se fijó en 1×10^6 para *full scan*, y 1×10^5 para los eventos *MS²*, el tiempo máximo de inyección de la *C-Trap* fue de 200 ms para *full scan* y 50 ms para los eventos *MS²*.

En la etapa de preparación de las muestras se usó un baño de ultrasonido *Elmasonic S300H* (Singen, Alemania) de 28 L con una frecuencia fija de 25 kHz, un agitador de vórtice *DBLAB Scientific MX-S* (Senai, Malasia), una centrifuga *Thermo Scientific Heraeus Megafuge*

16 (Asheville, NC, EE. UU.), una microcentrífuga *MIKRO 220* (Tuttlingen, Alemania), un liofilizador de bandejas *VirTis Advantage Plus* (Gardiner, NY, EE. UU.) y una balanza analítica *Satorius Entris® II* (Gotinga, Alemania).

5.4 Software

El *software XCalibur 4.0* (*Thermo Scientific*, San José, CA, EE. UU.) se usó para la adquisición y análisis de datos por LC/MS. Para el análisis por GC/MS/MS, se empleó el *software Mass Hunter* (AT, Santa Clara, CA, EE. UU.). El análisis de varianza (ANOVA) fue realizado usando *R*, versión 4.4.1 (Viena, Austria).

6. Metodología

Con base a los objetivos del proyecto de grado, se planteó dividir el trabajo en tres etapas. La primera etapa, consistió en analizar los MRC de plaguicidas por GC/MS/MS (QqQ) y por LC/HRMS, variando algunas condiciones experimentales, como la energía aplicada en la cámara de colisiones activadas en GC/MS/MS (QqQ) y el voltaje de *electrospray* en UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS. En la segunda etapa, se implementaron los métodos de extracción QuEChERS y UAE, para el análisis de residuos de plaguicidas en arándanos, determinando sus porcentajes de recuperación y el efecto matriz. También se variaron algunas condiciones del método de extracción UAE, como la relación muestra solvente (m/s), el tiempo (t) y la temperatura (T) de extracción. En la tercera etapa, se analizaron muestras de arándanos obtenidas comercialmente en Bucaramanga y se determinaron los niveles de residuos de plaguicidas.

6.1 Delimitación de los analitos

Con base en la información sobre los plaguicidas regulados en Colombia, su disponibilidad comercial y algunos reportados en la literatura, se seleccionaron 36 plaguicidas para el desarrollo de esta investigación. Su clasificación y algunas propiedades fisicoquímicas pueden ser encontradas en el **Anexo A**.

6.2 Análisis de MRC de plaguicidas por GC/MS/MS (QqQ)

Inicialmente, se prepararon soluciones individuales de cada uno de los plaguicidas a una concentración de 100 µg/mL en hexano:acetona 50:50 (v/v), que se inyectaron al GC/MS/MS (QqQ) en el modo de adquisición *full scan*, con el fin de obtener la información espectral e índices de retención lineales de cada compuesto, que se compararon con los de la base de datos NIST.

Posteriormente, se preparó una solución de los 36 plaguicidas, cada uno a una concentración de 10 µg/mL en hexano:acetona 50:50 (v/v). Esta se inyectó al GC/MS/MS (QqQ) en modo de adquisición MRM, usando transiciones $F_p \rightarrow F_f$ reportadas en la literatura (Chen *et al.*, 2016; Deveci *et al.*, 2023; Girame *et al.*, 2022; P. Li *et al.*, 2018; X. Li *et al.*, 2019; Wong *et al.*, 2010). Se estudió la respuesta del detector (señal instrumental) con relación a la energía aplicada en la cámara de colisiones activadas, para cada una de las transiciones. Las energías aplicadas fueron 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 eV. Algunos plaguicidas presentaron baja respuesta, por lo que se estudiaron algunas transiciones para masas alternativas (m/z), usando el modo de adquisición de iones-precursor y producto. Información referente a las transiciones se puede encontrar en el **Tabla 7**.

Tras definir las transiciones de masas (m/z) para cada uno de los plaguicidas, se prepararon nueve soluciones de los 36 plaguicidas, con el objetivo de realizar una curva de calibración externa en solvente en concentraciones de 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 100; 500 y 1000 µg/L en hexano:acetona 50:50 (v/v); cada solución se inyectó por triplicado.

6.3 Análisis de MRC de plaguicidas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS

Se prepararon soluciones individuales de cada plaguicida, a 1 µg/mL en acetonitrilo. Estas soluciones se inyectaron al LC/HRMS operado en modo de adquisición *Full MS* – AIF, para observar las especies moleculares ionizadas, reconocer fragmentos con mayor abundancia y determinar el t_R de cada plaguicida. Las corrientes iónicas extraídas (EIC, *Extracted Ion Current*, por sus siglas en inglés) se obtuvieron para cada plaguicida con un error de masas (Δppm) menor de 5 ppm.

Se preparó una solución de los 36 plaguicidas, a una concentración de 1 µg/mL en acetonitrilo. Se varió el voltaje de *electrospray*, ensayando los valores de 1,5, 2,5, 3,5, 4,5 y

5,5 kV, se determinó el voltaje con la respuesta más alta para el mayor número de plaguicidas. Se prepararon ocho soluciones de los 36 plaguicidas, con el objetivo de realizar una curva de calibración en solvente, usando concentraciones de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 100, 500 y 1000 µg/L en acetonitrilo. Cada solución se inyectó por triplicado; el análisis se realizó por LC/HRMS en el modo de adquisición *Full MS* – ddMS².

6.4 Extracción de plaguicidas en matriz de arándanos

Se implementaron dos técnicas de extracción, usadas para el análisis de plaguicidas residuales en frutas, a saber: QuEChERS y UAE. La **Figura 8** muestra un diagrama para cada método de extracción. Se determinaron (1) la eficiencia de extracción y (2) el efecto matriz para cada uno de los analitos, por cada técnica de extracción. Para esto, se prepararon soluciones de los 36 plaguicidas a 100 µg/mL en hexano:acetona 50:50 (v/v) y acetonitrilo, para GC/MS/MS y LC/MS, respectivamente. Para la obtención de extractos de arándano enriquecido, las muestras de arándano sin residuos de plaguicidas, utilizadas como blancos de matriz (~500 g) se homogeneizaron en una licuadora, 10 g de arándanos se pesaron en un tubo *Falcon*TM de 50 mL, y se enriquecieron con 100 µL de una solución de plaguicidas de 10 µg/mL en acetonitrilo, para una concentración de 100 µg/kg, las muestras enriquecidas se agitaron en un vórtice por 1 min y, posteriormente, se almacenaron en una nevera a 4 °C, en la oscuridad durante ~12 h, hasta el momento de la extracción.

Los extractos enriquecidos con plaguicidas (diferentes a los extractos de arándano enriquecido) se obtuvieron adicionando 20 µL de una solución de plaguicidas de 10 µg/mL en acetonitrilo y aforando a 2 mL con el extracto de arándano sin residuos de plaguicidas, para una concentración final de 100 µg/L.

QuEChERS

UAE

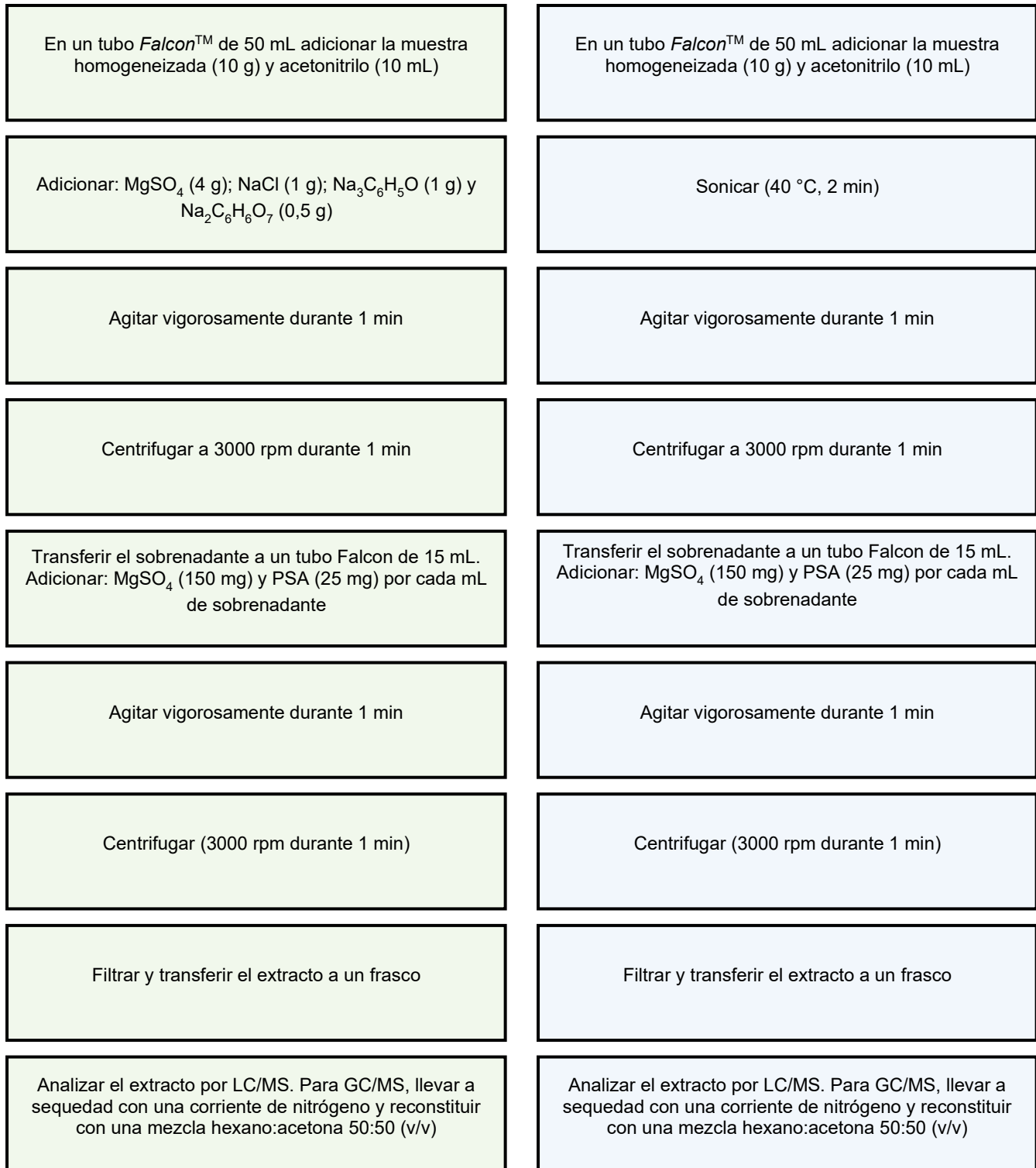


Figura 8. Diagrama de los métodos de extracción QuEChERS y UAE.

El porcentaje de recuperación y el efecto matriz se determinaron, usando las **Ecuaciones 4 y 5**, respectivamente.

$$\text{Recuperación, \%} = \frac{\text{Área}_{\text{Muestra enriquecida}}}{\text{Área}_{\text{Extracto enriquecido}}} * 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$\text{Efecto matriz, \%} = \left(\frac{\text{Área}_{\text{Extracto enriquecido}}}{\text{Área}_{\text{MRC en solvente}}} * 100 \right) - 100 \quad (\text{Ecuación 5})$$

Con el fin de mejorar la eficiencia de extracción, por el método UAE, se llevó a cabo un diseño experimental 2³, usando como variables la temperatura, el tiempo de extracción y la relación muestra/solvente. En cada punto del diseño experimental se hicieron duplicados (Véase **Tabla 6**).

Tabla 6. Variables y niveles del diseño experimental 2³ para la extracción de plaguicidas en arándano.

Siglas	Variable independiente	Unidades	Nivel		
			-1	0	1
T	Temperatura	°C	30	40	50
t	Tiempo de extracción	min	1	3	5
m/s	Relación muestra/solvente	mg/mL	1/2	1	2

El blanco de matriz de arándano (muestras de arándanos sin residuos de plaguicidas) fue aportado por la empresa FLOREZ FUNZA S.A.S. Las muestras de arándanos se almacenaron a una temperatura de -20 °C hasta realizar los procesos de extracción.

6.5 Análisis de muestras adquiridas en el mercado local

Se compraron cinco muestras de arándanos en diferentes supermercados y proveedores en el área metropolitana de Bucaramanga. Se aplicó el método de extracción con mayor eficiencia de extracción lograda para los plaguicidas seleccionados. La determinación de los residuos de plaguicidas en las muestras de arándano se realizó por las técnicas GC/MS/MS (QqQ) y UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.

7. Resultados y discusión

7.1 Análisis de plaguicidas por GC/MS/MS (QqQ)

Se analizaron 36 plaguicidas por GC/MS/MS, de los cuales se detectaron 35; imidacloprid no fue detectado. Carbendazim, carbaril y tiametoxam fueron registrados como productos (artefactos) del proceso de degradación térmica. Estos compuestos, clasificados como carbamatos y neonicotinoides, según su estructura química, son termolábiles y, por tanto, se analizaron por LC/MS (Alder *et al.*, 2006; Di Muccio *et al.*, 2006; Obana *et al.*, 2003). No encontramos reportes del análisis de estos compuestos por GC/MS/MS usando EI, salvo cuando se usaron agentes derivatizantes (Navalón *et al.*, 1997; Nomura *et al.*, 2013). El plaguicida 2,4-D también se observó como su producto de metilación, en la forma de su éster metílico, su espectro de masas puede ser observado en la **Figura 9**. La distribución isotópica del ion molecular $[M]^+$ m/z 234 (48 %), junto con los iones $[M+2]^+$ m/z 236 (32 %) y $[M+4]^+$ m/z 238 (8 %) confirma la presencia de dos átomos de cloro en la molécula. También se registraron fragmentos correspondientes a la pérdida de cloro $[M-Cl]^+$ m/z 199 (100 %), pérdida de metilo $[M-CH_3]^+$ m/z 219 (4 %) y otras pérdidas correspondientes a rupturas simples en el ion molecular.

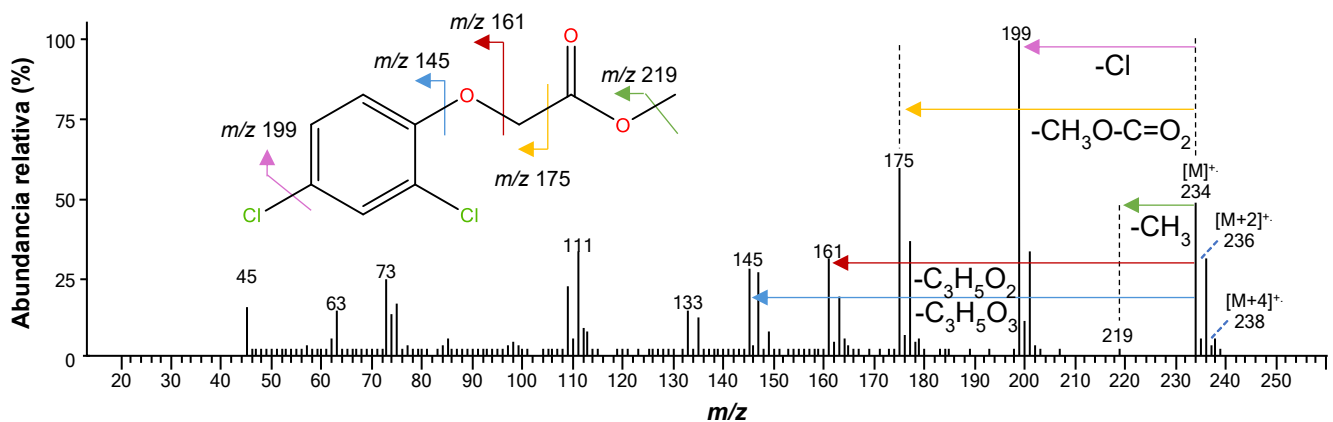
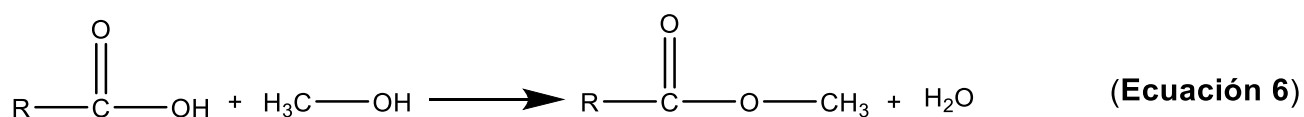


Figura 9. Espectro de masas *full scan* del éster metílico del 2,4-D, obtenido por GC/MS.

La formación del éster metílico del 2,4-D ha sido reportada en el análisis por GC/MS en presencia de metanol (Ranz *et al.*, 2008; Rompa *et al.*, 2003) (Véase la **Ecuación 6**). Sin embargo, en este estudio no se utilizó metanol durante el proceso de la preparación de la muestra. Este compuesto se analizó mediante LC/HRMS y se detectó en su forma no derivatizada, lo que sugiere que la formación del éster metílico es un artefacto del análisis por GC/MS/MS, posiblemente debido a trazas de metanol presentes en la jeringa del puerto de inyección, remanentes del lavado.



En total, 31 compuestos fueron analizados por GC/MS/MS (QqQ) en el modo de adquisición MRM; las transiciones de masas usadas al inicio del estudio pueden ser encontradas en el **Anexo B**. Después de realizar los ensayos de diferentes energías aplicadas en la cámara de colisiones activadas para las transiciones de masas reportadas en la literatura, algunos plaguicidas: cipermetrín, difenoconazol, deltametrín, dimetoato, fenitrotión y profenofos, obtuvieron intensidades bajas para al menos una de sus dos transiciones, por lo tanto, transiciones de masas alternativas se exploraron para estos plaguicidas.

Como un ejemplo, dos transiciones de masas reportadas para el profenofos, *i.e.*, m/z 337 \rightarrow m/z 188 y m/z 337 \rightarrow m/z 269 fueron evaluadas inicialmente, la relación señal/ruido (S/N, *Signal to Noise Ratio*, por sus siglas en inglés) obtenida de la primera transición fue baja (1.4 S/N), y no se registró ninguna señal para la segunda transición. En el espectro de masas *full scan* del profenofos (Véase **Figura 10**), se pueden distinguir la presencia de átomos de cloro y bromo, con base en las intensidades de las señales isotópicas del ion molecular $[\text{M}]^+$: m/z 372 (21 %), $[\text{M}+2]^+$ m/z 374 (26 %) y $[\text{M}+4]^+$ m/z 376 (10 %). Se registraron algunos

fragmentos del profenofos, entre ellos, los iones $[M-Cl-C_2H_4]^+$ m/z 309 (20 %) y $[M-Cl-C_3H_6]^+$ m/z 295 (36 %) generados por reordenamientos McLafferty, los cuales conducen a la formación del ion $[M-Cl-C_2H_4-C_3H_6]^+$ m/z 267 (44 %).

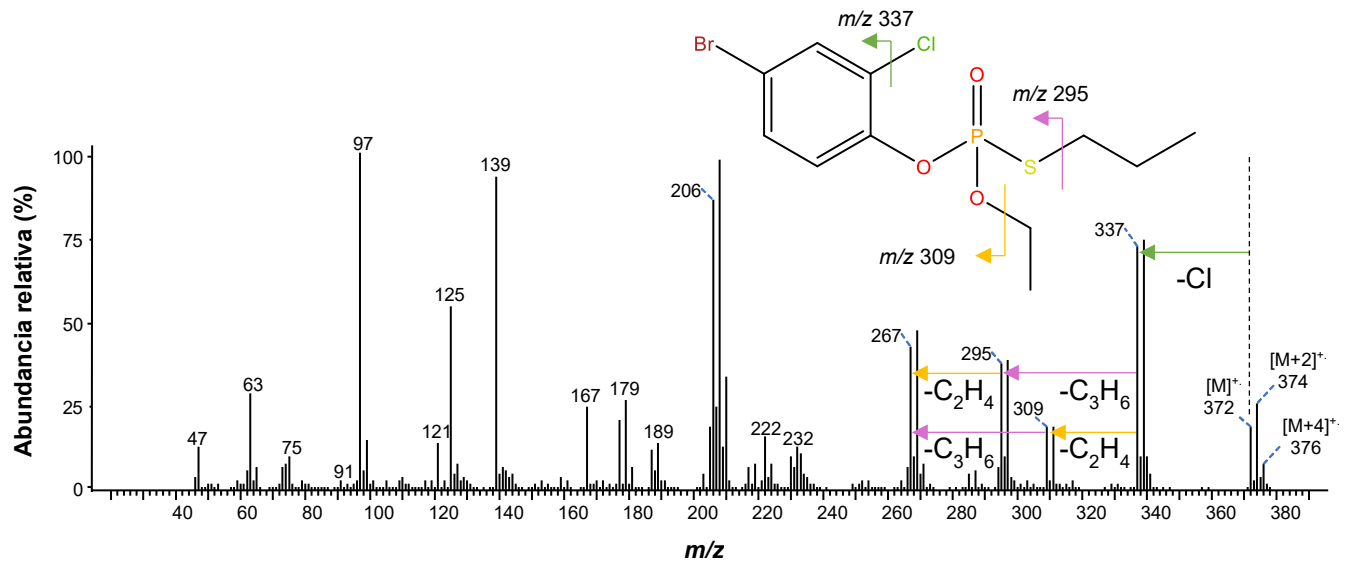


Figura 10. Espectro de masas *full scan* del profenofos, obtenido por GC/MS/MS (QqQ).

Se evaluaron los fragmentos producidos a partir del ion m/z 372 y del ion m/z 337 del profenofos, ya que el primero corresponde al ion molecular y el segundo, a un ion con m/z cercana a la del ion molecular. Ambos presentan una abundancia relativa superior al 10 % en el espectro de masas *full scan*, normalizado con respecto al pico de base. Las **Figuras 11** y **12** muestran el espectro de masas obtenido en modo de adquisición de iones-producto, de los iones precursores m/z 337 y m/z 372 del plaguicida profenofos.

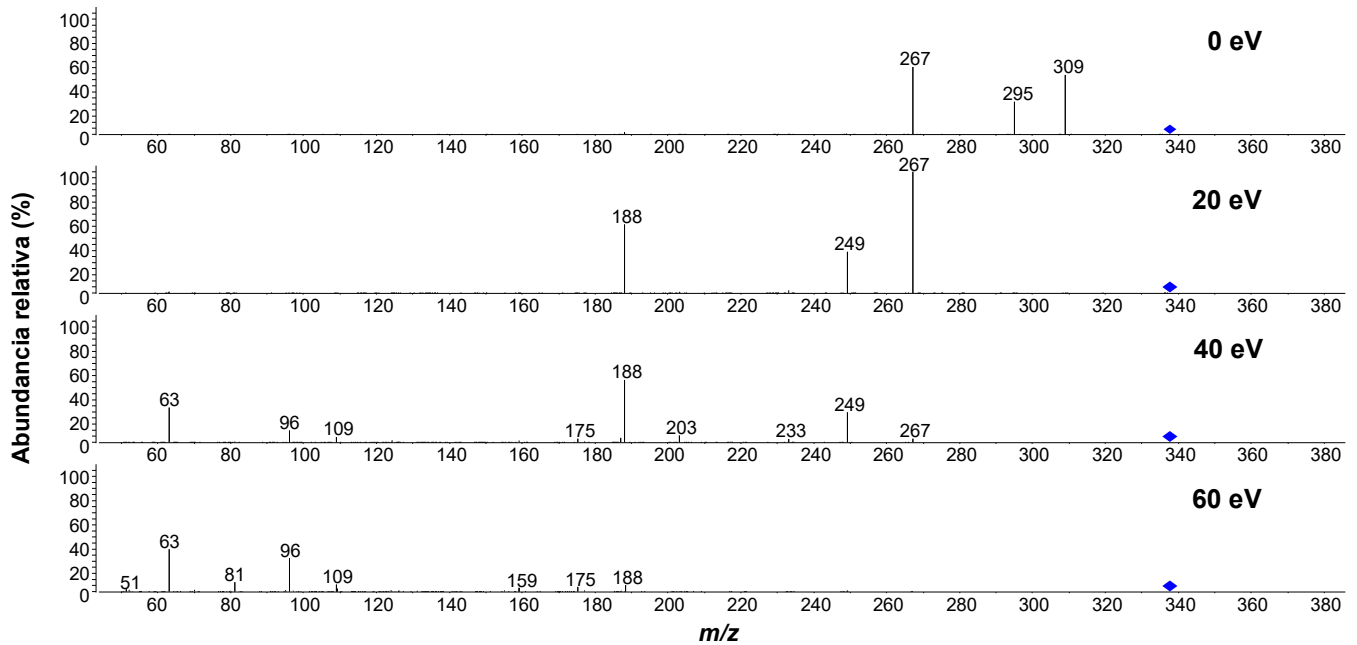


Figura 11. Espectros de masas de iones-producto del ion m/z 337 de profenofos, obtenido por GC/MS/MS (QqQ).

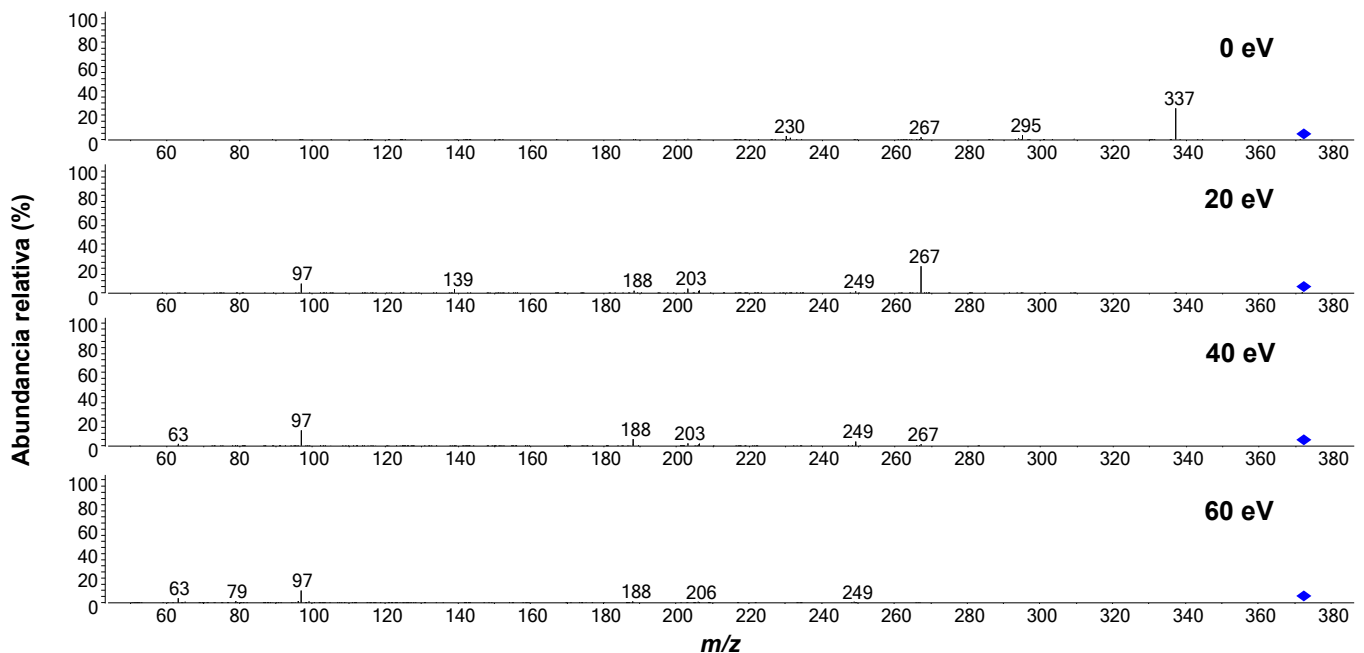


Figura 12. Espectros de masas de iones-producto del ion m/z 372 de profenofos, obtenido por GC/MS/MS (QqQ).

El ion-producto más abundante tras la fragmentación del ion m/z 337 del profenofos, fue el ion m/z 267 al aplicar 20 eV en la cámara de colisiones activadas, por esta razón, la transición m/z 337 \rightarrow m/z 267 fue seleccionada. El segundo ion-producto más abundante fue el 188, pero puesto que la transición m/z 337 \rightarrow m/z 188 previamente mostró tener una relación señal/ruido baja, se optó por escoger la transición m/z 372 \rightarrow m/z 267. En el espectro de masas del ion precursor m/z 267 se confirmó el vínculo entre éste y los iones m/z 337 y m/z 372 (Véase **Figura 13**).

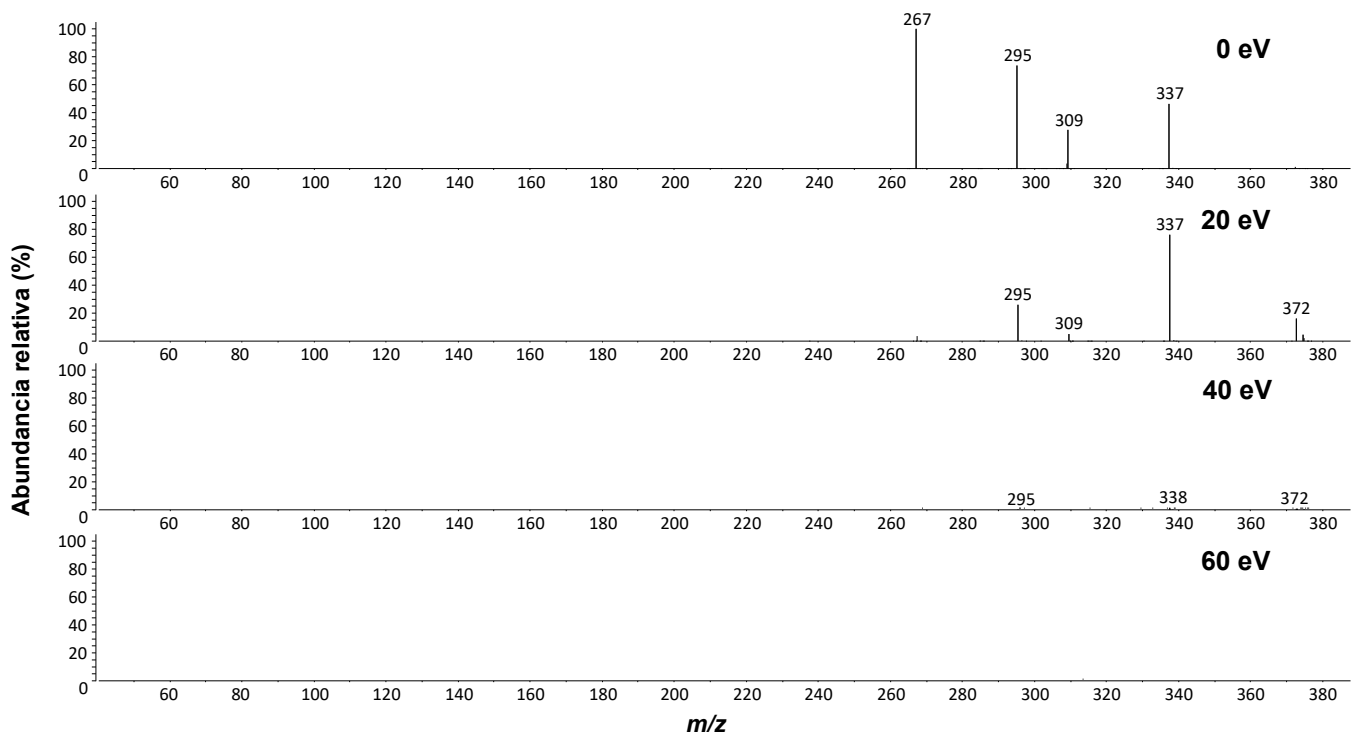


Figura 13. Espectros de masas de iones-precursor del ion m/z 267 de profenofos, obtenido por GC/MS/MS (QqQ).

La **Tabla 7** muestra las transiciones de masas y las energías aplicadas en la cámara de colisiones activadas para cada plaguicida. Estas condiciones se usaron para la determinación de las figuras de mérito y el análisis de muestras de arándanos obtenidas en los mercados de Bucaramanga.

Tabla 7. Transiciones de masas $F_p \rightarrow F_f$, energías de la cámara de colisiones activadas y ventanas de tiempo para MRM de los plaguicidas analizados mediante GC/MS/MS (QqQ).

Analito	t_R , min	Ventanas de MRM	Rango de tiempo, min	Transición 1 ($m/z \rightarrow m/z$)	CE, eV	Transición 2 ($m/z \rightarrow m/z$)	CE, eV
Deltametrín	19,49	1	10,00 - 23,02	172→93	10	253→93	20
Lufenurón	23,63	2	23,03 - 25,11	174→75	40	174→110	10
Dimetoato	24,81			143→111	10	125→79	10
Clomazona	25,40	3	25,12 - 28,60	125→89	20	138→75	20
Diurón	25,40			124→73	10	187→124	20
Diazinón	26,49			304→179	10	179→121	30
Metilclorpirifos	29,31	4	28,61 - 32,20	286→93	20	286→241	20
Vinclozolín	30,04			285→212	10	285→172	30
Metalaxil	30,92			132→117	10	160→130	20
Metilpirimifos	31,94			290→125	30	290→233	10
Fenitrotión	31,81	5	32,21 - 34,37	277→260	0	277→109	20
Malatión	32,60			127→99	0	173→99	10
Clorpirifos	33,20			314→258	10	197→169	10
Pendimetalín	35,65			252→161	10	252→162	10
Penconazol	36,33			6	34,38 - 37,85	159→89	30
Fipronil	36,51	367→213	30			367→255	20
Triadimenol	37,18	7	37,86 - 40,33	112→58	10	128→65	20
Hexaconazol	38,52			214→123	30	214→159	20
Pretilaclor	38,75			202→146	10	202→174	10
Profenofos	38,91			337→267	10	372→267	20
Oxifluorfén	39,34			300→223	20	361→300	10
Miclobutanil	39,34			179→90	30	179→125	10
Propiconazol	41,33	8	40,34 - 43,82	173→74	40	173→109	30
Tebuconazol	42,30			125→89	20	125→99	20
Espiromesifén	42,71			99→57	0	254→209	10
Bifentrín	43,00			181→165	20	181→166	10
Piriproxifén	44,64	9	43,83 - 73,00	136→78	20	136→96	10
Permetrín	47,03			183→128	20	163→127	0
Fenbuconazol	48,73			129→78	20	129→102	10
Cipermetrín	49,83			181→152	10	163→91	20
Difenoconazol	55,25			323→265	10	323→202	30

CE: *collision energy*, energía aplicada en la cámara de colisiones activadas.

La **Tabla 8** muestra los parámetros obtenidos de la curva de calibración en acetonitrilo, para los 31 plaguicidas analizados por GC/MS/MS (QqQ). El coeficiente de determinación (R^2) fue mayor que 0.99 para la mayoría de los plaguicidas; no obstante, los límites de detección (LoD) fueron altos (LoD > 100 $\mu\text{g/L}$) para algunos plaguicidas. *i.e.*, difenoconazol (183,4 $\mu\text{g/L}$), dimetoato (131,3 $\mu\text{g/L}$), diurón (144,9 $\mu\text{g/L}$), y fenbuconazol (105,1 $\mu\text{g/L}$).

Tabla 8. Parámetros obtenidos de la curva de calibración externa en acetonitrilo para los 31 plaguicidas analizados por GC/MS/MS (QqQ).

Analito	Ecuación	R^2	Rango de trabajo, $\mu\text{g/L}$	LoD, $\mu\text{g/L}$	LoQ, $\mu\text{g/L}$
Bifentrín	$y = 3497.7 - 30442.6$	0.9967	0.05 - 1000	14.4	43.6
Cipermetrín	$y = 70.8 - 707.4$	0.9984	5 - 1000	20.7	62.7
Clomazona	$y = 1884.9 - 16234.5$	0.9973	0.1 - 1000	14.9	45.3
Clorpirifos	$y = 367.5 - 4923.2$	0.9962	0.5 - 1000	21.0	63.5
Deltametrín	$y = 3.2 + 102.8$	0.9968	10 - 1000	40.8	123.5
Diazinon	$y = 395.8 - 5477.5$	0.9961	0.5 - 1000	27.8	84.2
Difenoconazol	$y = 1.2 - 161.0$	0.9806	500 - 1000	183.4	555.7
Dimetoato	$y = 4.9 - 2175.0$	0.9900	100 - 1000	131.3	397.9
Diuron	$y = 41.3 - 209.4$	0.9850	100 - 1000	144.9	439.1
Espiromesifén	$y = 21.8 - 679.4$	0.9968	10 - 1000	41.3	125.0
Fenbuconazol	$y = 52.7 - 1398.6$	0.9920	100 - 1000	105.1	318.5
Fenitrothion	$y = 18.2 - 1351.0$	0.9994	100 - 1000	29.2	88.4
Fipronil	$y = 150.3 - 3049.8$	0.9969	5 - 1000	29.4	89.1
Hexaconazol	$y = 49.8 - 1634.2$	0.9954	10 - 1000	49.1	148.8
Lufenurón	$y = 13.4 - 3.0$	0.9956	10 - 1000	47.9	145.1
Malatión	$y = 64.4 - 2381.7$	0.9947	10 - 1000	52.7	159.6
Metalaxil	$y = 379.4 - 5850.8$	0.9978	5 - 1000	24.5	74.1
Metilclorpirifos	$y = 72.3 - 2646.4$	0.9962	10 - 1000	44.5	134.8
Metilpirimifos	$y = 251.2 - 6756.0$	0.9944	5 - 1000	39.5	119.7
Miclobutanil	$y = 924.5 - 18229.5$	0.9944	1 - 1000	30.9	93.7
Oxifluorfen	$y = 54.1 - 1028.9$	0.9976	5 - 1000	25.7	78.0
Penconazol	$y = 912.5 - 21470.2$	0.9954	5 - 1000	35.5	107.6
Pendimetalín	$y = 117.7 - 2570.6$	0.9971	5 - 1000	28.3	85.7
Permetrín	$y = 42.7 - 636.9$	0.9974	10 - 1000	36.7	111.1
Piriproxifén	$y = 567.2 - 5026.4$	0.9971	0.5 - 1000	18.1	54.9
Pretilaclor	$y = 126.7 - 3263.4$	0.9958	5 - 1000	34.2	103.7
Profenofos	$y = 2.6 - 198.0$	0.9941	100 - 1000	90.0	272.9
Propiconazol	$y = 258.9 - 5371.9$	0.9961	5 - 1000	33.0	99.9
Tebuconazol	$y = 104.1 - 1724.1$	0.9964	5 - 1000	31.4	95.2
Triadimenol	$y = 173.4 - 2845.0$	0.9965	5 - 1000	31.3	94.8
Vinclozolin	$y = 292.2 - 4615.5$	0.9984	5 - 1000	21.2	64.1

7.2 Análisis de plaguicidas por LC/HRMS

De los 36 plaguicidas, cinco fueron detectados tanto en modo de iones positivos como negativos; 2,4-D fue el único compuesto detectado exclusivamente en modo de iones negativos. Para algunos plaguicidas se observó la formación de aductos con sodio $[M+Na]^+$ y potasio $[M+K]^+$ (Véase **Figura 14**), sin embargo, estos no se incluyeron durante el análisis puesto que ningún ion de sodio o potasio fue añadido a la fase móvil para promover la formación de estos aductos (Mortier *et al.*, 2004). En el procesamiento de datos solo se registraron los aductos de hidrógeno $[M+H]^+$ y amoniacado $[M+NH_4]^+$ para cada analito.

En la variable del voltaje de *electrospray*, la mayoría de los plaguicidas, incluyendo fenitrotión, plaguicida que obtuvo una menor respuesta, mostraron la mayor intensidad a un voltaje de 4,5 kV. Los resultados pueden ser observados en el **Anexo C**. De los cinco compuestos que fueron observados en modo de iones positivos y negativos, solo el fipronil obtuvo una mayor respuesta analítica en modo de iones negativos.

La **Figura 15** muestra los espectros de masas del imidacloprid evaluados a 100 y 10 $\mu\text{g/L}$, aplicando diferentes modos de adquisición de masas. Se seleccionó el método *Full MS – ddMS²* para el análisis de plaguicidas debido a su ventaja de obtener espectros de masas con menos interferencias, independientemente de la concentración del compuesto, en comparación con los métodos de *Full MS – AIF* y *Full MS – DIA*. Además, *Full MS – ddMS²* permitió registrar un mayor número de puntos que describen los fragmentogramas (Véase **Figura 16**), gracias a una velocidad de adquisición de datos más alta que la de los modos *Full MS – AIF* y *Full MS – DIA*. Los fragmentos de mayor intensidad para cada plaguicida utilizando el modo de adquisición seleccionado pueden ser encontrados en el **Anexo D**.

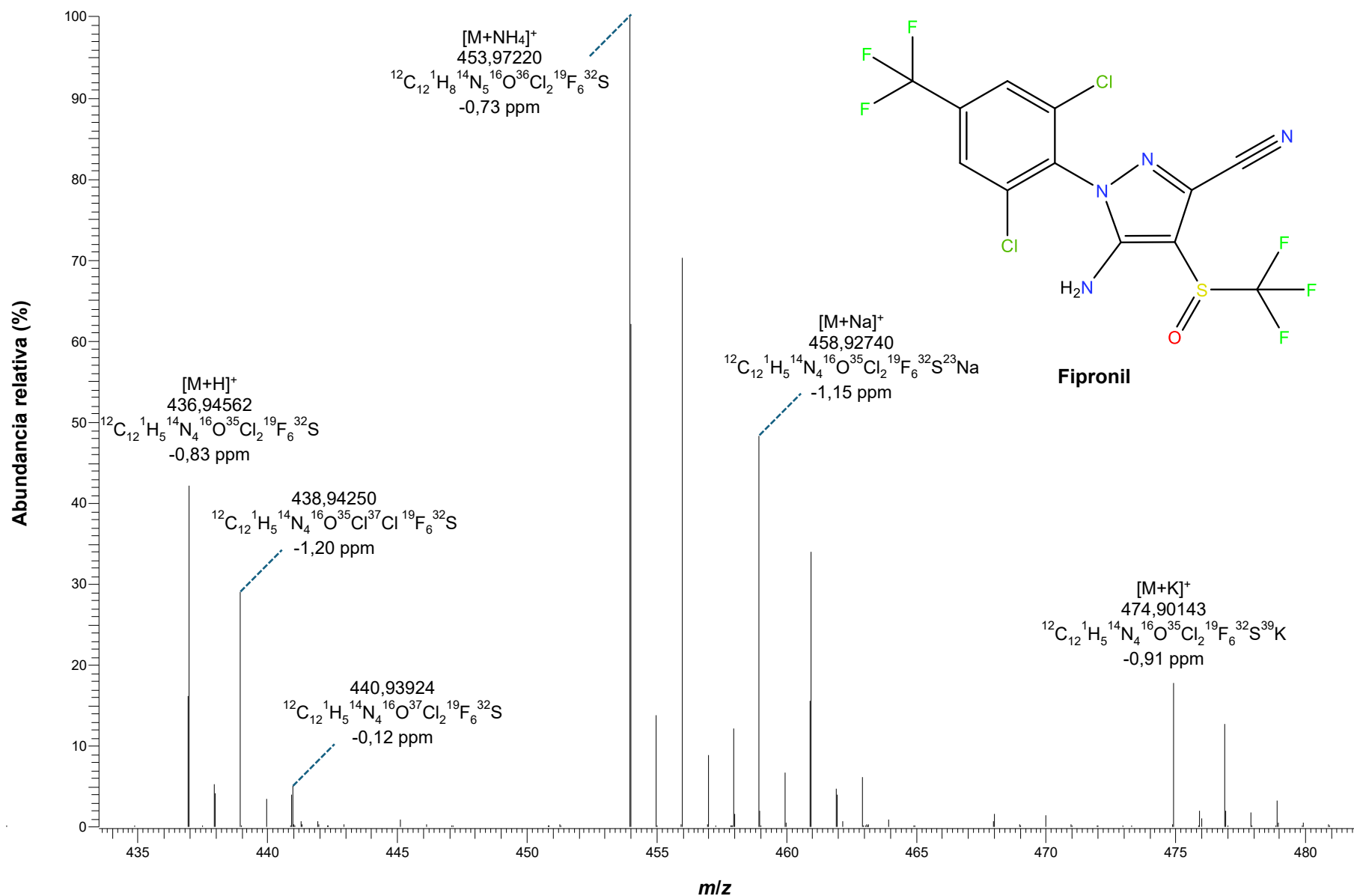


Figura 14. Distribuciones isotópicas para las especies [M+H]⁺, [M+NH₄]⁺, [M+Na]⁺ y [M+K]⁺, obtenidas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS para el plaguicida fipronil (1 mg/L).

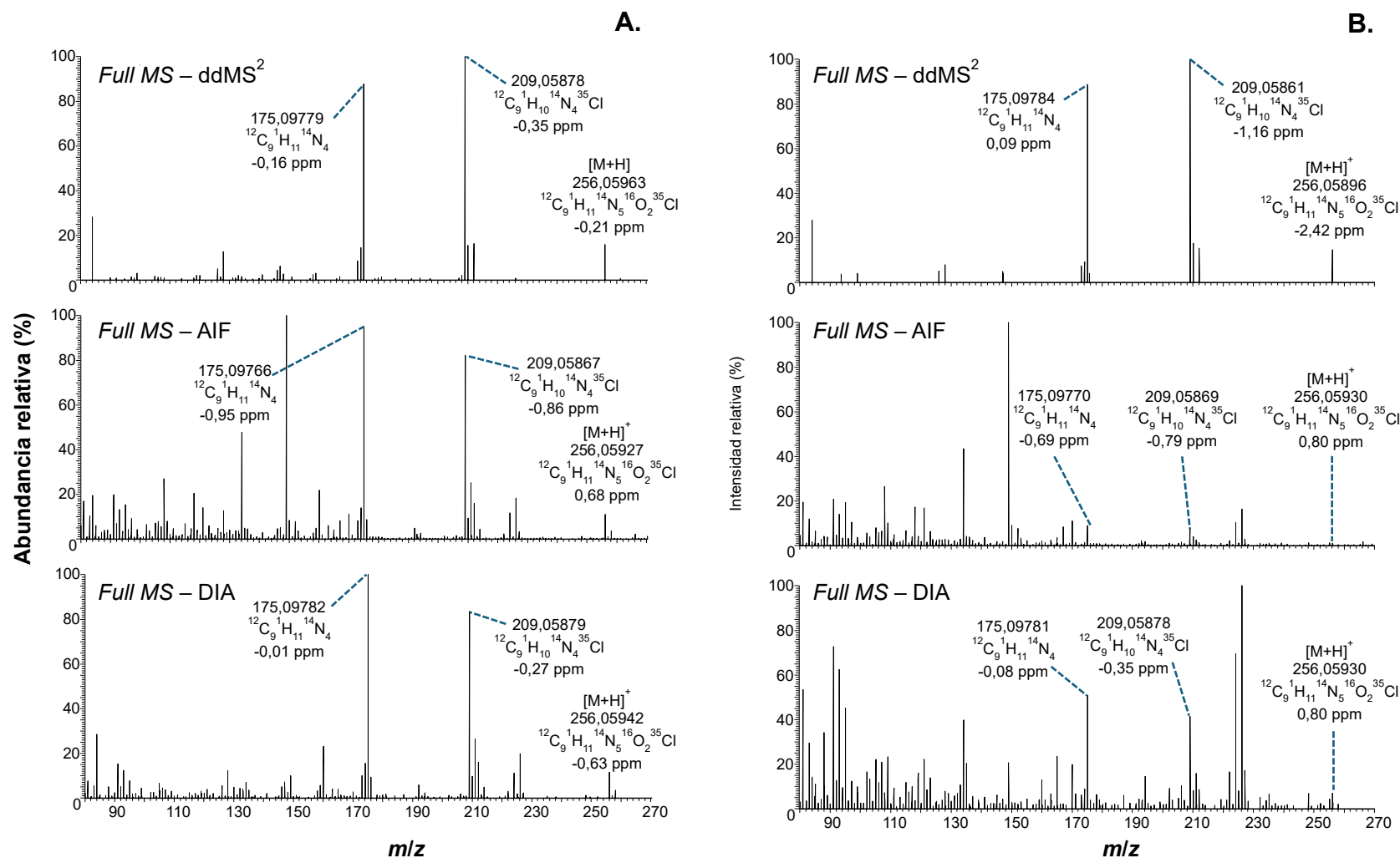


Figura 15. Espectros de masas del imidacloprid, obtenidos por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS, en los modos de adquisición de masas *Full MS – ddMS²*, *Full MS – AIF* y *Full MS – DIA*, con energías escalonadas en la celda de colisiones activadas (10, 20 y 40 eV). **A.** 100 µg/L y **B.** 10 µg/L.

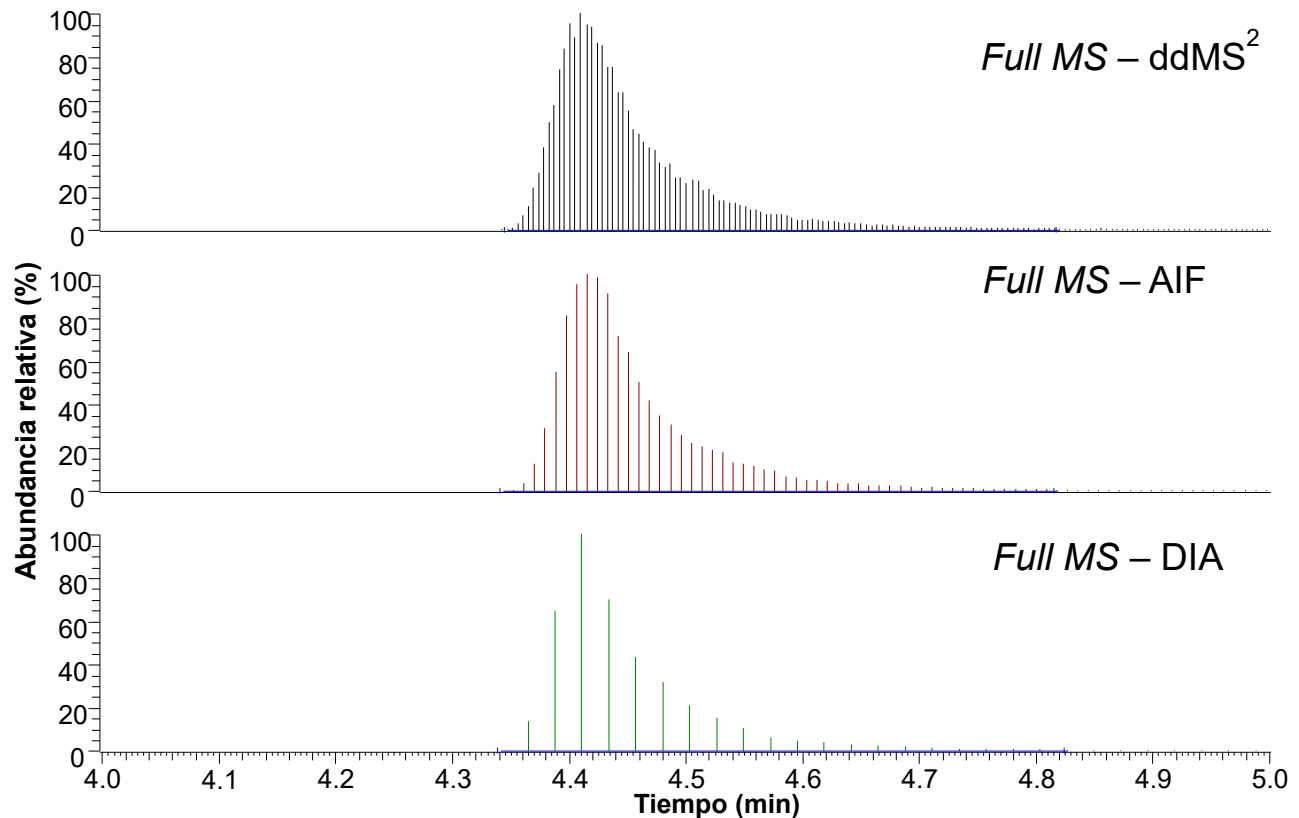


Figura 16. EIC de la molécula protonada $[M+H]^+$ de imidacloprid, obtenida por UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS, con los modos de adquisición de masas *Full MS – ddMS²*, *Full MS – AIF* y *Full MS – DIA*.

La **Tabla 9** muestra algunos parámetros calculados a partir de la curva de calibración en acetonitrilo de los 36 plaguicidas analizados por LC/HRMS. En general, los LoD y LoQ de la mayoría de los plaguicidas lograron valores más bajos que los obtenidos por GC/MS/MS (QqQ), a excepción de fenitrotión, triadimenol, oxifluorfen y vinclozolin. Esto sugiere que la técnica UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS podría ser más recomendada para el análisis de los analitos seleccionados, en comparación con GC/MS/MS (QqQ). Además, LC/HRMS permitió el análisis de un mayor número de plaguicidas.

Tabla 9. Parámetros obtenidos de la curva de calibración externa en acetonitrilo para los 36 plaguicidas analizados por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.

Analito	Ion	Ecuación	R ²	Rango de trabajo, µg/L	LoD, µg/L	LoQ, µg/L
2,4-D	[M-H] ⁻	y = 12117.3 - 183965.3	0.9981	5 - 1000	24.3	73.6
Bifentrín	[M+NH ₄] ⁺	y = 89053.8 - 815379.3	0.9877	10 - 1000	12.8	38.8
Carbaril	[M+H] ⁺	y = 53797.4 - 560800.1	0.9899	10 - 1000	25.0	75.8
Carbendazim	[M+H] ⁺	y = 802946.0 - 16864336.2	0.9969	10 - 1000	23.9	72.5
Cipermetrín	[M+NH ₄] ⁺	y = 78468.7 - 922231.0	0.9929	5 - 1000	18.1	54.8
Clomazona	[M+H] ⁺	y = 1370218.4 - 1047473.2	0.9915	0.05 - 1000	8.1	24.6
Clorpirifos	[M+H] ⁺	y = 522900.0 - 556578.3	0.9893	0.05 - 1000	5.5	16.8
Deltametrín	[M+NH ₄] ⁺	y = 65544.9 - 809838.9	0.9949	5 - 1000	20.7	62.8
Diazinón	[M+H] ⁺	y = 2248200.9 - 8111830.3	0.9905	0.5 - 1000	5.5	16.7
Difenoconazol	[M+H] ⁺	y = 420979.4 - 1468712.4	0.9901	5 - 1000	17.4	52.9
Dimetoato	[M+H] ⁺	y = 230633.2 - 234669.4	0.9872	5 - 1000	27.9	84.4
Diurón	[M+H] ⁺	y = 1257326.4 - 439256.3	0.9862	0.5 - 1000	9.8	29.7
Espiromesifén	[M+H] ⁺	y = 24727.2 - 493536.7	0.9907	10 - 1000	34.9	105.6
Fenbuconazol	[M+H] ⁺	y = 461139.1 - 1854280.5	0.9918	1 - 1000	10.8	32.7
Fenitrotión	[M+H] ⁺	y = 6233.3 - 281662.6	0.9936	100 - 1000	60.7	183.8
Fipronil	[M-H] ⁻	y = 422557.6 - 1549303.8	0.9914	0.05 - 1000	8.5	25.8
Hexaconazol	[M+H] ⁺	y = 418619.2 - 335193.5	0.9853	1 - 1000	9.3	28.2
Imidacloprid	[M+H] ⁺	y = 402934.4 + 1136172.6	0.9800	1 - 1000	19.1	57.9
Lufenurón	[M+H] ⁺	y = 62780.3 - 762158.5	0.9942	5 - 1000	14.1	42.8
Malatión	[M+H] ⁺	y = 230103.0 - 1217936.9	0.9921	5 - 1000	9.8	29.6
Metalaxil	[M+H] ⁺	y = 1501810.5 - 2716224.5	0.9908	0.5 - 1000	9.3	28.1
Metilclorpirifos	[M+H] ⁺	y = 226984.6 - 1676033.4	0.9839	5 - 1000	22.5	68.2
Metilpirimifos	[M+H] ⁺	y = 2774594.9 - 8256183.7	0.9905	0.5 - 1000	9.9	30.1
Miclobutanil	[M+H] ⁺	y = 580756.1 - 1971085.0	0.9958	0.5 - 1000	4.1	12.5
Oxifluorfen	[M+H] ⁺	y = 14227.2 + 143582.1	0.9783	100 - 1000	66.4	201.1
Penconazol	[M+H] ⁺	y = 783774.8 - 696468.7	0.9888	0.5 - 1000	7.2	21.7
Pendimetalín	[M+H] ⁺	y = 74661.1 - 545248.8	0.9813	5 - 1000	11.9	36.0
Permetrín	[M+NH ₄] ⁺	y = 43224.2 - 884738.2	0.9842	10 - 1000	29.8	90.4
Piriproxifén	[M+H] ⁺	y = 2294029.7 - 3506779.3	0.9853	0.5 - 1000	6.3	19.1
Pretilaclor	[M+H] ⁺	y = 1479950.4 - 4008799.7	0.9892	0.1 - 1000	13.0	39.5
Profenofos	[M+H] ⁺	y = 422738.5 - 1848514.8	0.9866	1 - 1000	18.3	55.5
Propiconazol	[M+H] ⁺	y = 550242.5 - 669555.6	0.9891	0.5 - 1000	7.0	21.2
Tebuconazol	[M+H] ⁺	y = 621181.3 - 1229766.8	0.9907	1 - 1000	4.0	12.2
Tiametoxam	[M+H] ⁺	y = 263778.6 + 815848.9	0.9865	5 - 1000	21.0	63.6
Triadimenol	[M+H] ⁺	y = 22424.2 - 2017444.3	0.9929	100 - 1000	38.6	116.9

7.3 Eficiencia de extracción y efecto matriz

Inicialmente, se usó el método de UAE para blancos de matriz de arándano sin agitación o centrifugación. Las áreas de los picos cromatográficos correspondientes a cada plaguicida tuvieron coeficientes de variación (CV) consistentemente altos para todos los plaguicidas, en un rango entre 30 % y 60 % (n=5), y, a su vez, se obtuvieron menores porcentajes de extracción en comparación con el método QuEChERS. El experimento fue repetido con la adición de un paso de agitación y centrifugación previo al proceso de limpieza con PSA. La eficiencia de extracción de los analitos aumentó considerablemente tras la adición de este paso, con $CV < 20\%$ (n=3).

Para evaluar los resultados del diseño experimental 2³, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), para determinar la significancia las variables independientes, *i.e.*, tiempo de extracción, temperatura, relación muestra/solvente y sus efectos combinados sobre el porcentaje de recuperación. El tiempo de extracción mostró no tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) para la mayoría de los plaguicidas (Véase **Figura 17**), mientras que para la relación muestra/solvente y la temperatura sí hubo un efecto significativo para 26 y 31 de los 36 plaguicidas evaluados, respectivamente. Un aumento de la temperatura y de la relación muestra/solvente se asoció con una disminución en la eficiencia de extracción. Un menor tiempo de extracción resultó en mayores porcentajes de recuperación. La **Figura 18** muestra los diagramas de interacción para las variables independientes y sus interacciones para la eficiencia extracción de la clomazona. Los valores de p calculados para determinar la significancia estadística del efecto de las variables independientes sobre el porcentaje de extracción de cada plaguicida se reportan en el **Anexo E**.

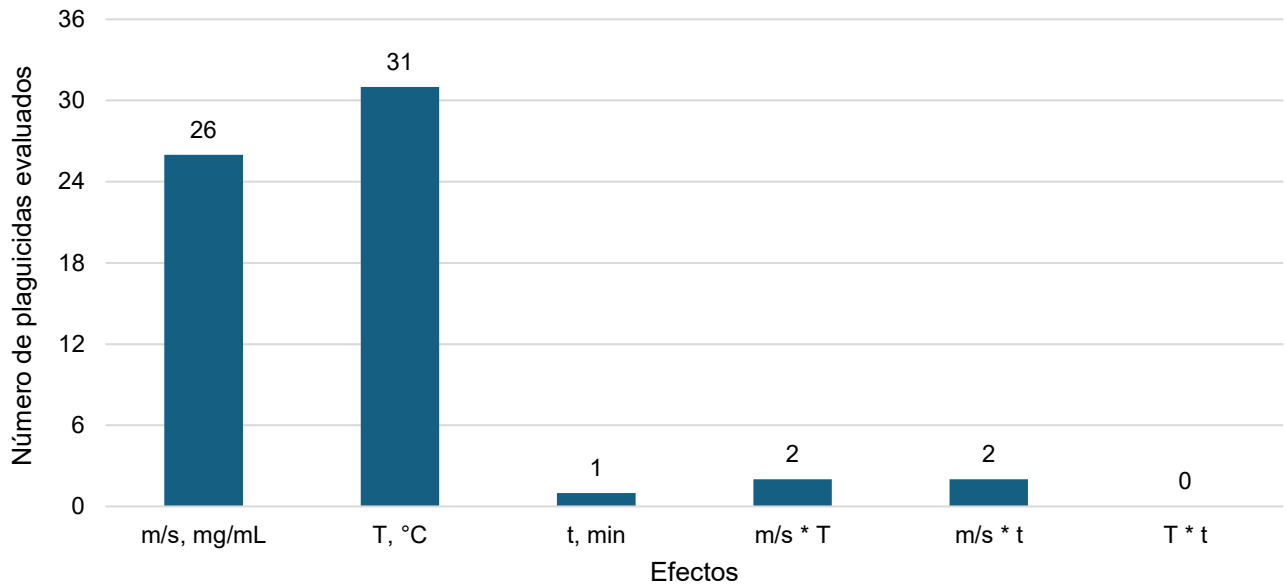


Figura 17. Número de plaguicidas para los cuales se observó un cambio significativo ($p < 0,05$) del porcentaje de recuperación, tras la modificación de las variables independientes.

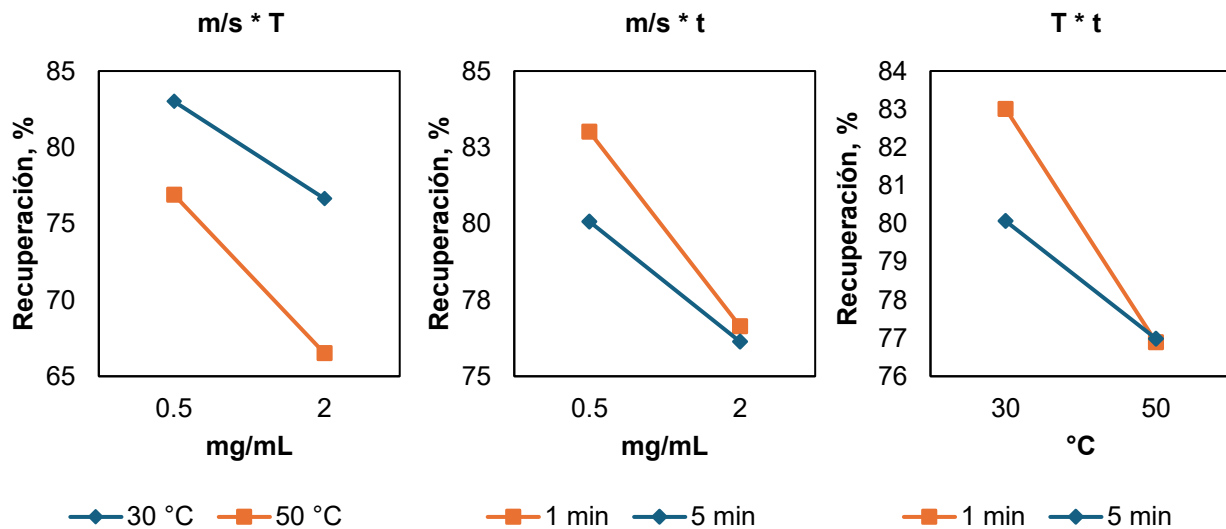


Figura 18. Diagramas de interacción obtenidos a partir del diseño experimental 2^3 para la relación muestra/solvente (m/s), temperatura (T) y tiempo (t) con respecto al porcentaje de recuperación de la clomazona.

A partir de los resultados del diseño experimental 2³, se seleccionaron las siguientes condiciones del método de extracción para el análisis de muestras de arándanos obtenidas en el mercado local: temperatura = 30 °C, tiempo de extracción = 1 min, relación muestra/solvente = 0,5 g/mL. Se determinó el efecto matriz bajo estas condiciones de extracción, sus resultados se muestran en la **Figura 19** y **20** para LC/HRMS y GC/MS/MS, respectivamente. En comparación con el método QuEChERS, con el método de UAE se obtuvieron porcentajes de recuperación equivalentes o superiores para la mayoría de los plaguicidas analizados.

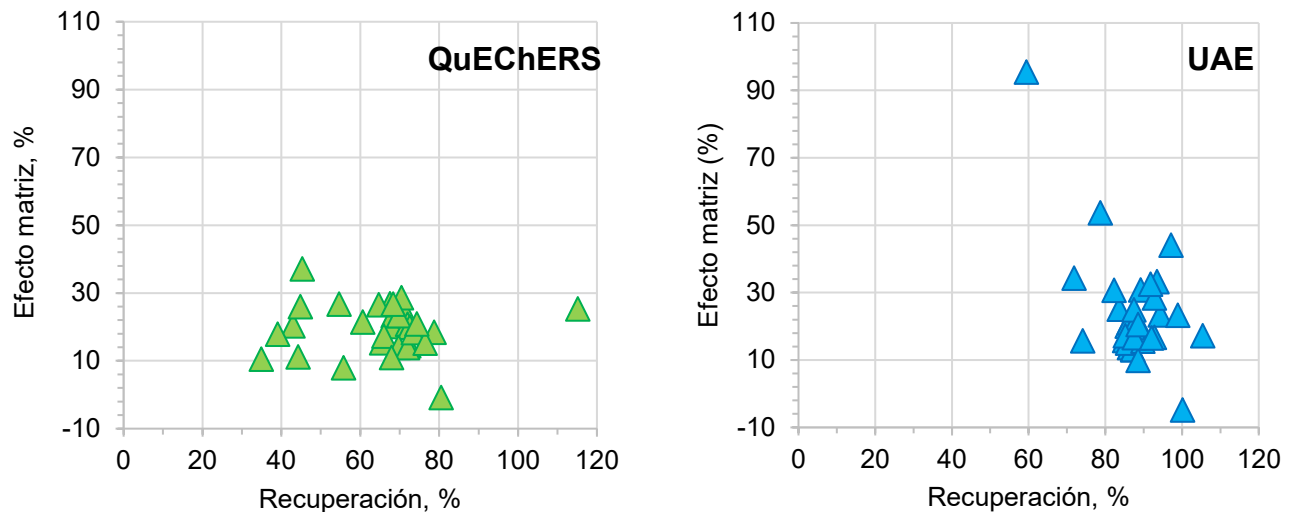


Figura 19. Efecto matriz y porcentaje de recuperación de los métodos de extracción UAE y QuEChERS, para 36 plaguicidas analizados por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.

Mediante el análisis por LC/HRMS, la mayoría de los plaguicidas, con excepción de oxifluorfén para la extracción por UAE; y fipronil, para la extracción por QuEChERS, presentaron un efecto matriz positivo. Es decir, la presencia de interferencias provenientes de la matriz aumentó la respuesta de los analitos. Este efecto está asociado a una disminución de la tensión superficial de las gotas en la interfaz de electronebulización, debido a las

interferencias presentes en la matriz, lo que mejora la eficiencia de ionización de los analitos (Gosetti *et al.*, 2010). El método QuEChERS presentó efectos matriz entre 37 y -1 %, mientras que con el método UAE se obtuvieron efectos matriz en un rango más amplio, entre 95 y -5%.

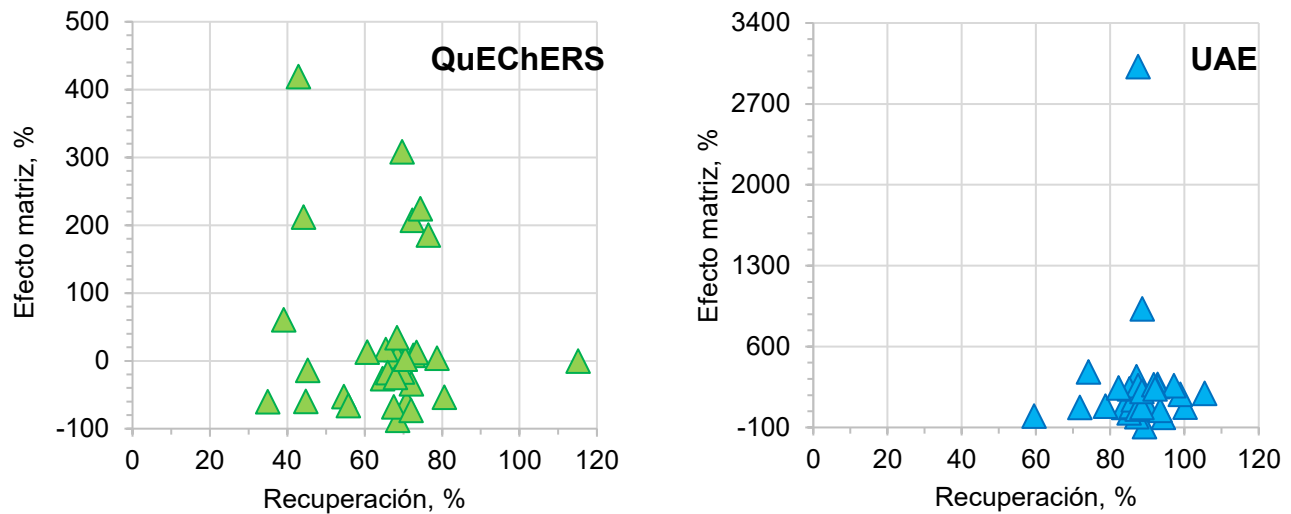


Figura 20. Efecto matriz y porcentaje de recuperación de los métodos de extracción UAE y QuEChERS, para 31 plaguicidas analizados por GC/MS/MS (QqQ).

Para el caso de GC/MS/MS, los plaguicidas presentaron efectos matriz entre 419 % y -87 % para la extracción QuEChERS; y 3022 % y -92 % para UAE (Véase **Figura 20**). El efecto matriz fue positivo para 29 de los 31 compuestos analizados por GC/MS/MS, usando UAE. Mientras que para QuEChERS 16 plaguicidas tuvieron efecto matriz negativo. Los extractos de arándano obtenidos por UAE presentaron efectos matriz altos, en comparación con el método QuEChERS. Si bien, el método de limpieza de los métodos fue el mismo, el método QuEChERS usa *salting-out* con NaCl para favorecer la extracción de compuestos polares, sin embargo, la adición de NaCl a una disolución de acetonitrilo y agua también mejora la partición entre la fase acuosa y la fase orgánica, cambiando el tipo de compuestos que son co-extraídos, entre ellos, azúcares (Anastassiades *et al.*, 2003), esto podría explicar los efectos matriz altos

observados en GC/MS/MS y LC/HRMS para la extracción UAE. LC/HRMS mostró tener efectos matrices moderados (< 50 %), mientras que por GC/MS/MS muchos plaguicidas obtuvieron efectos matriz altos: esta tendencia también se han observado para otros tipos de matrices analizadas por GC/MS/MS (Balkan y Karaağaçlı, 2023; Bulaić y Kovač, 2023). Los resultados muestran la importancia del uso de la calibración externa en matriz, especialmente en el caso de GC/MS/MS. La cuantificación de estos plaguicidas, usando una curva de calibración en solvente puede resultar en errores de cuantificación, debido a una subestimación o sobrestimación de las concentraciones.

Se seleccionó el método UAE, como el método de extracción para usar en el análisis de muestras obtenidas en mercados del área metropolitana de Bucaramanga. El límite de detección, cuantificación y rango de trabajo, para cada uno de los plaguicidas, se muestran en las **Tablas 10** y **11** para GC/MS/MS y LC/HRMS, respectivamente.

Tabla 10. Parámetros de la curva de calibración en matriz usando el método de extracción UAE, y GC/MS/MS (QqQ).

Analito	Ecuación	R ²	Rango de trabajo, µg/kg	LoD, µg/kg	LoQ, µg/kg
Bifentrín	y = 1373.2 + 21377.1	0.9953	0.05 - 1000	21.0	63.7
Cipermetrín	y = 80.7 + 608.4	0.9976	0.5 - 1000	18.4	55.9
Clomazona	y = 1056.5 + 18345.0	0.9948	0.05 - 1000	22.1	67.1
Clorpirifos	y = 156.0 + 1445.6	0.9969	0.05 - 1000	17.1	51.8
Deltametrín	y = 1.3 + 17.3	0.9962	10 - 1000	30.0	91.1
Diazinón	y = 61.7 + 859.5	0.9969	0.1 - 1000	18.9	57.3
Difenoconazol	y = 2.3 - 53.6	0.9949	10 - 1000	34.8	105.5
Dimetoato	y = 10.5 + 50.8	0.9973	100 - 1000	61.2	185.4
Diurón	y = 30.4 + 253.9	0.9989	10 - 1000	16.3	49.5
Espiromesifén	y = 4.9 - 20.3	0.9977	10 - 1000	20.1	61.0
Fenbuconazol	y = 175.7 - 818.4	0.9984	10 - 1000	16.9	51.1
Fenitrotión	y = 7.2 - 66.6	0.9981	10 - 1000	21.1	63.9
Fipronil	y = 68.6 - 765.3	0.9966	0.1 - 1000	19.6	59.5
Hexaconazol	y = 97.7 + 774.8	0.9973	0.05 - 1000	15.8	48.0
Lufenurón	y = 3.2 + 92.1	0.9965	10 - 1000	28.8	87.3
Malatión	y = 80.6 - 370.2	0.9978	0.5 - 1000	17.6	53.4
Metalaxil	y = 120.4 + 2360.9	0.9954	0.1 - 1000	22.9	69.3
Metilclorpirifos	y = 39.4 + 132.2	0.9972	0.5 - 1000	19.9	60.2
Metilpirimifos	y = 80.9 + 625.9	0.9976	0.05 - 1000	15.0	45.4
Miclobutanil	y = 377.7 + 3953.2	0.9966	0.05 - 1000	17.8	54.1
Oxifluorfen	y = 16.0 - 210.8	0.9966	0.5 - 1000	22.0	66.7
Penconazol	y = 487.4 + 4559.6	0.9970	0.05 - 1000	16.9	51.3
Pendimetalín	y = 43.9 - 391.8	0.9964	0.05 - 1000	18.3	55.5
Permetrín	y = 41.1 + 341.5	0.9974	0.5 - 1000	19.1	57.8
Piriproxifén	y = 364.4 + 4796.5	0.9960	0.05 - 1000	19.3	58.5
Pretilaclor	y = 39.2 + 296.2	0.9974	0.5 - 1000	19.3	58.4
Profenofos	y = 2.4 - 2.1	0.9939	10 - 1000	37.9	115.0
Propiconazol	y = 170.1 + 2178.7	0.9962	0.05 - 1000	18.9	57.2
Tebuconazol	y = 221.2 + 1082.9	0.9978	0.1 - 1000	15.9	48.3
Triadimenol	y = 263.7 + 1463.1	0.9977	0.05 - 1000	14.7	44.6
Vinclozolin	y = 51.8 + 849.3	0.9963	0.1-1000	20.5	62.3

Tabla 11. Parámetros de la curva de calibración en matriz usando el método de extracción UAE, y UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.

Analito	Ecuación	R ²	Rango de trabajo, µg/kg	LoD, µg/kg	LoQ, µg/kg
2,4-D	y = 15525.1 - 168744.2	0.9984	5 - 1000	8.9	27.1
Bifentrín	y = 132703.4 - 728237.5	0.9993	5 - 1000	5.8	17.7
Carbaril	y = 98908.4 - 438656.9	0.9990	0.5 - 1000	5.6	17.0
Carbendazim	y = 2149840.5 - 8329177.2	0.9983	0.05 - 1000	6.0	18.1
Cipermetrín	y = 86956.5 - 653243.7	0.9990	5 - 1000	7.1	21.6
Clomazona	y = 1669661.2 - 3658658.5	0.9994	0.05 - 1000	3.7	11.1
Clorpirifos	y = 710916.0 - 1640372.0	0.9990	0.05 - 1000	4.6	14.0
Deltametrín	y = 76411.2 - 718585.2	0.9982	5 - 1000	9.3	28.2
Diazinón	y = 2562309.4 - 6863360.0	0.9993	0.05 - 1000	3.9	11.9
Difenoconazol	y = 463765.0 + 5573869.4	0.9956	0.05 - 1000	9.8	29.6
Dimetoato	y = 370599.5 - 1744092.1	0.9991	0.5 - 1000	5.3	16.0
Diurón	y = 1782215.6 - 2943307.0	0.9994	0.05 - 1000	3.6	11.0
Espiromesifén	y = 38860.8 - 507311.2	0.9982	10 - 1000	10.7	32.3
Fenbuconazol	y = 484881.5 - 1618757.6	0.9992	0.5 - 1000	5.1	15.6
Fenitrotión	y = 8726.6 - 86396.2	0.9971	10 - 1000	13.5	41.1
Fipronil	y = 508369.6 - 2483580.6	0.9983	0.05 - 1000	6.1	18.5
Hexaconazol	y = 469266.9 - 215463.1	0.9990	0.1 - 1000	5.1	15.4
Imidacloprid	y = 626390.0 + 2408147.3	0.9978	0.05 - 1000	6.8	20.7
Lufenurón	y = 72251.8 - 436880.1	0.9987	0.1 - 1000	7.1	21.4
Malatión	y = 270382.3 - 1236710.7	0.9993	0.5 - 1000	4.5	13.7
Metalaxil	y = 1714421.2 - 3560446.0	0.9993	0.05 - 1000	3.9	11.7
Metilclorpirifos	y = 333414.5 - 2064311.9	0.9989	1 - 1000	6.5	19.8
Metilpirimifos	y = 3371414.6 - 6253365.7	0.9992	0.05 - 1000	4.2	12.6
Miclobutanil	y = 580840.6 - 1281708.0	0.9993	0.1 - 1000	4.3	12.9
Oxifluorfén	y = 44329.9 - 188179.7	0.9997	0.05 - 1000	4.1	12.4
Penconazol	y = 954733.0 - 1058373.3	0.9993	0.05 - 1000	4.0	12.0
Pendimetalín	y = 92308.9 - 585259.7	0.9993	5 - 1000	5.8	17.5
Permetrín	y = 59317.2 - 481552.1	0.9990	5 - 1000	7.0	21.3
Piriproxyfén	y = 2611283.7 + 7390897.3	0.9983	1 - 1000	6.0	18.2
Pretilaclor	y = 1670356.2 - 5372253.0	0.9991	0.1 - 1000	4.7	14.3
Profenofos	y = 513029.3 - 2439405.5	0.9990	0.5 - 1000	5.6	16.9
Propiconazol	y = 683128.6 - 1209741.4	0.9992	0.05 - 1000	4.1	12.4
Tebuconazol	y = 706065.8 - 1359980.1	0.9993	0.05 - 1000	3.9	11.8
Tiametoxam	y = 408637.3 + 729265.7	0.9970	0.5 - 1000	9.6	29.1
Triadimenol	y = 30466.4 - 286299.9	0.9986	5 - 1000	8.3	25.1

Los LoD y LoQ obtenidos por LC/HRMS fueron menores que los obtenidos por GC/MS/MS en todos los casos. Cabe destacar que el LoD más alto registrado por LC/HRMS fue incluso más bajo que el LoD más bajo obtenido por GC/MS/MS.

Teniendo en cuenta la relación muestra/solvente, los LoD y LoQ obtenidos usando la curva de calibración en matriz fueron menores que los calculados a partir de la curva de calibración en solvente, tanto para GC/MS/MS (QqQ) como para LC/HRMS, incluso para aquellos compuestos que obtuvieron un efecto matriz negativo. Los LoD más bajos obtenidos por LC/HRMS correspondieron a diurón (3,6 µg/kg), clomazona (3,7 µg/kg) y metalaxil (3,9 µg/kg), mientras que, por GC/MS/MS, fueron triadimenol (14,7 µg/kg), metilpirimifos (15,0 µg/kg) y hexaconazol (15,8 µg/kg).

En el caso de plaguicidas que no cuentan con un LMR establecido, se aplica un LMR base de 10 µg/kg (*European Parliament & Council of the European Union*, 2005). Por ello, los métodos de análisis de plaguicidas deben alcanzar LoD y LoQ por debajo de esta concentración. En este estudio, los LoD de los plaguicidas analizados por LC/HRMS alcanzaron dicho nivel, con la excepción de espiromesifén y fenitrotión. Por GC/MS/MS, ninguno de los LoD obtenidos se encontró por debajo de esta concentración.

Una susceptibilidad menor a los efectos matriz, LoD más bajos y un rango más amplio de analitos que se pueden detectar, son algunas de las ventajas del sistema UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS para el análisis de plaguicidas residuales en frutas, en comparación con métodos convencionales como GC/MS/MS (QqQ) (Hernández-Mesa y Moreno-González, 2022).

7.4 Análisis de muestras adquiridas en el mercado local

Se detectaron siete plaguicidas en las muestras de arándano adquiridas, dos de ellos, carbendazim e imidacloprid, se encontraron en niveles superiores a los LMR establecidos para arándanos en documentos normativos en Colombia (Véase **Tabla 12**). La **Figura 21** muestra una comparación de la corriente iónica extraída del ion $[M+H]^+$ de imidacloprid, y su espectro de masas, en la muestra dos y en un punto de la curva de calibración, nótese que el tiempo retención y los iones-fragmento coinciden con el respectivo MRC.

Tabla 12. Plaguicidas detectados en muestras de arándanos obtenidos comercialmente en el área metropolitana de Bucaramanga.

Muestra	Municipio	Plaguicidas	Concentración, $\mu\text{g}/\text{kg}$	LMR, $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	Piedecuesta	Carbendazim	34,8	1
		Tebuconazol	3,5	6
		Fipronil	<LOQ	N/A
		Clomazona	<LOQ	N/A
		Propiconazol	<LOQ	0,3
2	Bucaramanga	Imidacloprid	71,3	5
3	Girón	-	-	-
4	Floridablanca	-	-	-
5	Floridablanca	Cipermetrín	<LOQ	0,5
		Fipronil	<LOQ	N/A

N/A: No aplica

El INVIMA también ha reportado la presencia de carbendazim, cipermetrín, propiconazol y tebuconazol en muestras de pulpa de frutas obtenidas en establecimientos fabricantes de alimentos a base de frutas, principalmente, en muestras de pulpa de fresa y mora (INVIMA, 2024b). En los estudios del INVIMA, fipronil se encontró dentro de la lista de analitos *target*, sin embargo, no se reportó la presencia de este plaguicida. No encontramos un reporte previo sobre el análisis y detección de clomazona en frutas producidas en Colombia.

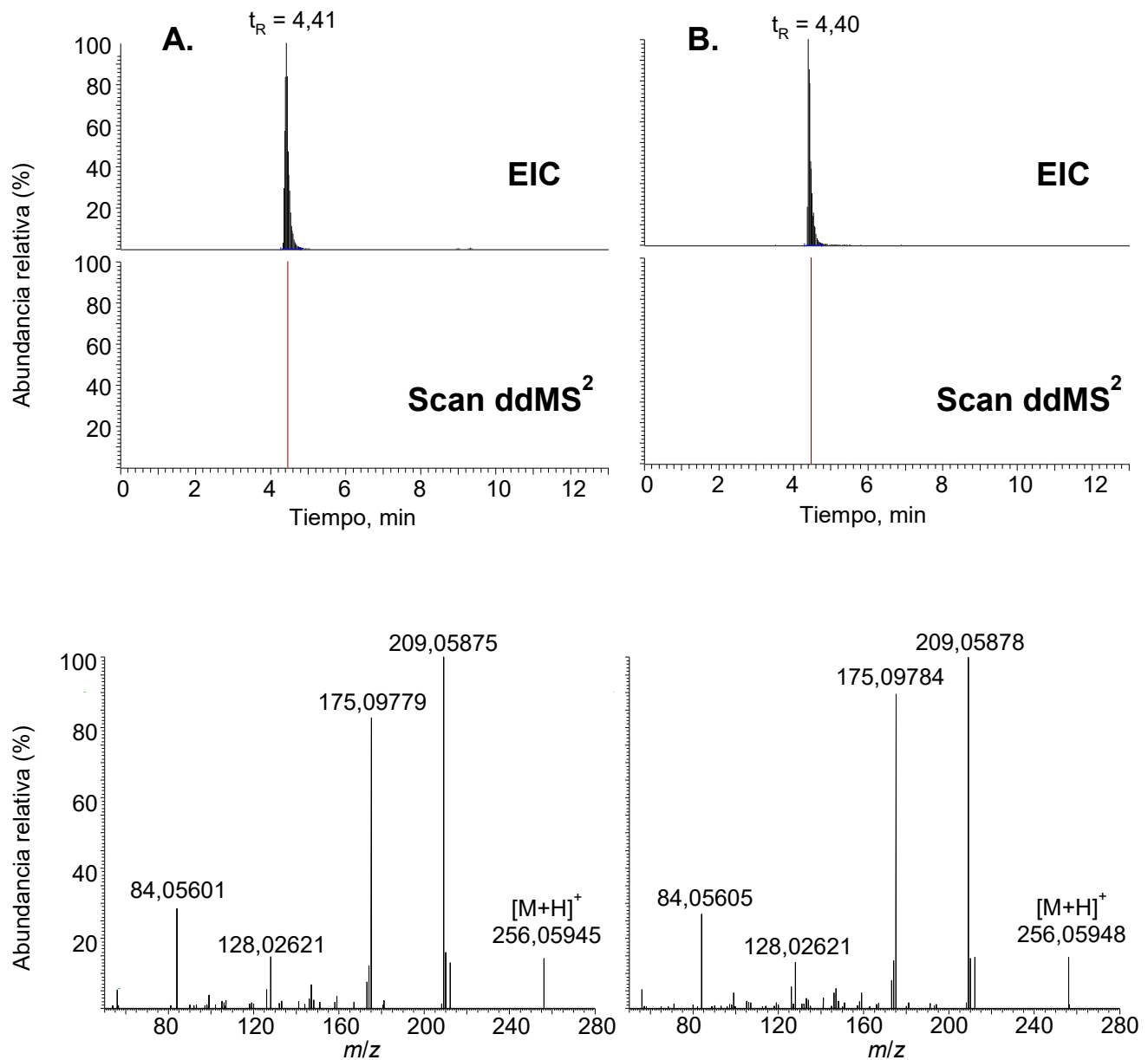


Figura 21. EIC obtenidas mediante UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS del ion $[M+H]^+$ de imidacloprid, usando el modo de adquisición *Full MS* – ddMS², y sus respectivos espectros de masas. **A.** Extracto de arándano, muestra número dos. **B.** MRC de imidacloprid (50 µg/kg) en extracto de matriz.

8. Conclusiones

Se logró mejorar las condiciones de extracción mediante UAE utilizando un diseño experimental 2³. Las siguientes fueron las condiciones a las cuales se obtuvo un mayor porcentaje de recuperación para los plaguicidas evaluados en matriz de arándano: temperatura = 30 °C, tiempo de extracción = 1 min, y relación muestra/solvente = 0,5 g/mL. Bajo estas condiciones, con el método de extracción UAE, se obtuvieron porcentajes de recuperación superiores al 70 %, para la mayoría de los plaguicidas. En comparación con el método QuEChERS, el método UAE obtuvo mayores porcentajes de recuperación. Se determinó el efecto matriz para los plaguicidas extraídos por UAE, sus valores se encontraron entre 95 % y -5 %, usando LC/HRMS, y, para la mayoría de plaguicidas, hubo un efecto matriz positivo.

Se implementaron las técnicas GC/MS/MS (QqQ) en el modo de adquisición MRM, y UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS en el modo *Full MS* – ddMS², para el análisis de 36 plaguicidas en matriz de arándano. Se calcularon los LoD y LoQ de los plaguicidas para cada técnica instrumental, obteniéndose valores más bajos para el método UHPLC-ESI-Q-*Orbitrap*-HRMS.

Siete plaguicidas, carbendazim, cipermetrín, clomazona, fipronil, imidacloprid, propiconazol y tebuconazol, se detectaron en muestras de arándanos adquiridas comercialmente en el área metropolitana de Bucaramanga. Dos plaguicidas *i.e.* imidacloprid (71,3 µg/kg) y carbendazim (34,84 µg/kg), se cuantificaron por encima de los LMR establecidos para arándanos, según la normativa Colombiana.

9. Referencias bibliográficas

- Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C. O., Kala, S., Kryeziu, T. L., Ifemeje, J. C., y Patrick-Iwuanyanwu, K. C. (2020). Pesticides, history, and classification. En: C. Egbuna. y B. Sawicka (Eds.), *Natural remedies for pest, disease and weed control* (1ª Ed.). Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos. 29–42. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00003-8>.
- Ahmad, M. F., Ahmad, F. A., Alsayegh, A. A., Zeyaulah, Md., Al-Shahrani, A. M., Muzammil, K., Saati, A. A., Wahab, S., Elbendary, E. Y., Kambal, N., Abdelrahman, M. H., y Hussain, S. (2024). Pesticides impacts on human health and the environment with their mechanisms of action and possible countermeasures. *Heliyon*, 10 (7), e29128. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29128>.
- Alder, L., Greulich, K., Kempe, G., y Vieth, B. (2006). Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC–MS or LC–MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews*, 25 (6), 838–865. <https://doi.org/10.1002/mas.20091>.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., y Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86 (2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.
- AsocolBlue. (2016). Ventajas competitivas. Consultado en: <https://web.archive.org/web/20240803205621/https://www.asocolblue.com/ventajas-competitivas/>. Fecha de consulta: 4 de abril del 2023.

- Balkan, T., y Karaağaçlı, H. (2023). Determination of 301 pesticide residues in tropical fruits imported to Turkey using LC–MS/MS and GC-MS. *Food Control*, 147, 109576. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109576>.
- Banerjee, S., y Mazumdar, S. (2012). Electrospray ionization mass spectrometry: A technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 1–40. <https://doi.org/10.1155/2012/282574>.
- Beynon, J. H. (1974). Recommendations for symbolism and nomenclature for mass spectrometry. *Pure and Applied Chemistry*, 50 (1), 65–73.
- Brenton, A. G., y Godfrey, A. R. (2010). Accurate mass measurement: Terminology and treatment of data. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 21 (11), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.06.006>.
- Bulaić, M., y Kovač, M. (2023). Matrix effect evaluation in GC/MS-MS analysis of multiple pesticide residues in selected food matrices. *Foods*, 12 (21), 3991. <https://doi.org/10.3390/foods12213991>.
- Bustillo-Álvarez, A. (2018). El cultivo del arándano (*Vaccinium corimbosum*) y su proyección en Colombia (Tesis, pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia.
- Camacho, M. (2023). Peru: Blueberry annual voluntary. Consultado en: <https://www.fas.usda.gov/data/peru-blueberry-annual-voluntary>. Fecha de consulta: 4 de abril del 2023.
- CEN. (2008). Foods of plant origin: Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS-method. EN 15662:2009.

- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., y Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound-assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
- Chen, Y., Lopez, S., Hayward, D. G., Park, H. Y., Wong, J. W., Kim, S. S., Wan, J., Reddy, R. M., Quinn, D. J., y Steiniger, D. (2016). Determination of multiresidue pesticides in botanical dietary supplements using gas chromatography–triple-quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (31), 6125–6132. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00746>.
- Cline, W. O., y Milholland, R. D. (1996). Diseases of blueberry fruit at harvest in North Carolina. *Journal of Small Fruit & Viticulture*, 3 (4), 219–225. https://doi.org/10.1300/J065v03n04_06.
- Codex Alimentarius. (2017). Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed. CXG 90-2017.
- Codex Alimentarius. (2021). Codex pesticide residues in food online database. Consultado en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/>. Fecha de consulta: 1 de abril del 2023.
- Costa, L. G., y Aschner, M. (2014). Organophosphates and carbamates. En: M. J. Aminoff y R. B. Daroff (Eds.), *Encyclopedia of the neurological sciences* (2ª Ed). *Academic Press*. Cambridge, EE. UU. 696–697. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00269-4>.
- Cuadros-Rodríguez, L., Bagur-González, M. G., Sánchez-Viñas, M., González-Casado, A., y Gómez-Sáez, A. M. (2007). Principles of analytical calibration/quantification for the

separation sciences. *Journal of Chromatography A*, 1158 (1–2), 33–46.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.030>.

Cuadros-Rodríguez, L., Gámiz-Gracia, L., Almansa-López, E. M., y Bosque-Sendra, J. M. (2001). Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. *Trends in Analytical Chemistry*, 20 (11), 620–636. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(01\)00111-X](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(01)00111-X).

De Sousa, F. A., Guido Costa, A. I., De Queiroz, M. E. L. R., Teófilo, R. F., Neves, A. A., y De Pinho, G. P. (2012). Evaluation of matrix effect on the GC response of eleven pesticides by PCA. *Food Chemistry*, 135 (1), 179–185.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.063>.

Deveci, B., Golge, O., y Kabak, B. (2023). Quantification of 363 pesticides in leafy vegetables (dill, rocket and parsley) in the Turkey market by using QuEChERS with LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Foods*, 12 (5), 1034. <https://doi.org/10.3390/foods12051034>.

Di Muccio, A., Fidente, P., Barbini, D. A., Dommarco, R., Seccia, S., y Morrica, P. (2006). Application of solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry to the determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1108 (1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.111>.

Douglas, D. J. (2009). Linear quadrupoles in mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 28 (6), 937–960. <https://doi.org/10.1002/mas.20249>.

Du, Y., Wang, Q., Yang, G., y Han, F. (2022). Determination of 43 pesticide residues in intact grape berries (*Vitis vinifera* L.) by using an ultrasound-assisted acetonitrile extraction method followed by LC–MS/MS. *Food Control*, 140, 109123.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109123>.

- Erney, D. R., Gillespie, A. M., Gilvydis, D. M., y Poole, C. F. (1993). Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. *Journal of Chromatography A*, 638, 57–63. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)85007-T](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)85007-T).
- Eskenazi, B., Chevrier, J., Rosas, L. G., Anderson, H. A., Bornman, M. S., Bouwman, H., Chen, A., Cohn, B. A., De Jager, C., Henshel, D. S., Leipzig, F., Leipzig, J. S., Lorenz, E. C., Snedeker, S. M., y Stapleton, D. (2009). The Pine River statement: Human health consequences of DDT use. *Environmental Health Perspectives*, 117 (9), 1359–1367. <https://doi.org/10.1289/ehp.11748>.
- España-Amórtegui, J. C., y Guerrero-Dallos, J. A. (2014). Comparison of QuEChERS official methodologies for the analysis of pesticide residues on Colombian fruit by GC-MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31 (4), 676–687. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.885660>.
- European Commission. (2022). Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. SANTE 11312/2021.
- European Parliament & Council of the European Union. (2005). Maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin. Regulation (EC) 396/2005.
- Famiglioni, G., Palma, P., Pierini, E., Trufelli, H., y Cappiello, A. (2008). Organochlorine pesticides by LC-MS. *Analytical Chemistry*, 80 (9), 3445–3449. <https://doi.org/10.1021/ac8000435>.

- Famiglini, G., Palma, P., Termopoli, V., y Cappiello, A. (2021). The history of electron ionization in LC-MS, from the early days to modern technologies: a review. *Analytica Chimica Acta*, 1167, 338–350. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338350>.
- Fenn, J. B., Mann, M., Meng, C. K., Wong, S. F., y Whitehouse, C. M. (1989). Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science*, 246 (4926), 64–71. <https://doi.org/10.1126/science.2675315>.
- Giacinti, G., Raynaud, C., Capblancq, S., y Simon, V. (2017). Evaluation and prevention of the negative matrix effect of terpenoids on pesticides in apples quantification by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1483, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.056>.
- Girame, R., Shabeer, T. P. A., Ghosh, B., Hingmire, S., Natarajan, R., y Dubey, P. N. (2022). Multi-residue method validation and safety evaluation of pesticide residues in seed spices cumin (*Cuminum cyminum*) and coriander (*Coriandrum sativum*) by gas chromatography tandem mass spectrometry (GC–MS/MS). *Food Chemistry*, 374, 131782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131782>.
- Gosetti, F., Mazzucco, E., Zampieri, D., y Gennaro, M. C. (2010). Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (25), 3929–3937. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.060>.
- Granados-Povedano, M., Domínguez, I., Egea-González, F., Garrido Frenich, A., y Arrebola, F. J. (2023). Unified method for target and non-target monitoring of pesticide residues in fruits and fruit juices by gas chromatography-high resolution mass spectrometry. *Foods*, 12 (4), 739. <https://doi.org/10.3390/foods12040739>.

- Gross, J. H. (2017). Instrumentation. En: J. H. Gross (Ed.), *Mass spectrometry: a textbook* (1ª Ed.). *Springer International Publishing*. Berlin, Alemania. 151–292.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-54398-7_4.
- Guilbault, G. G., y Hjelm, M. (1989). Nomenclature for automated and mechanised analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 61 (9), 1657–1664. <https://doi.org/10.1515/iupac.61.0062>
- Gupta, R. C. (2006). Classification and uses of organophosphates and carbamates. En: R. C. Gupta (Ed.), *Toxicology of organophosphate and carbamate compounds* (1ª Ed.). *Academic Press*. Cambridge, EE. UU. 5–24. <https://doi.org/10.1016/B978-012088523-7/50003-X>.
- Gupta, R. C. (2014). Carbamate pesticides. En: P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of toxicology* (1ª Ed.). *Elsevier*. Ámsterdam, Países Bajos. 661–664. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00106-8>.
- Hancock, J. F., Erb, W. A., Goulart, B. L., y Scheerens, J. C. (1996). Utilization of wild blueberry germplasm. *Journal of Small Fruit & Viticulture*, 3 (2–3), 1–16.
https://doi.org/10.1300/J065v03n02_01.
- Hasegawa, K., Minakata, K., Suzuki, M., y Suzuki, O. (2021). The standard addition method and its validation in forensic toxicology. *Forensic Toxicology*, 39 (2), 311–333.
<https://doi.org/10.1007/s11419-021-00585-8>.
- Hassaan, M. A., y El-Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46 (3), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>.

- Hennion, M. C. (1999). Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856 (1–2), 3–54. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00832-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00832-8).
- Hernández-Mesa, M., Lara, F. J., Moreno-González, D., Del Olmo-Iruela, M., y García-Campaña, A. M. (2020). Trends in multiresidue analysis. En: R. A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of analytical chemistry* (1ª Ed.). Wiley. Hoboken, EE. UU. 1–48. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9520.pub2>.
- Hernández-Mesa, M., y Moreno-González, D. (2022). Current role of mass spectrometry in the determination of pesticide residues in food. *Separations*, 9 (6), 148. <https://doi.org/10.3390/separations9060148>.
- Holčapek, M., Jirásko, R., y Lísa, M. (2010). Basic rules for the interpretation of atmospheric pressure ionization mass spectra of small molecules. *Journal of Chromatography A*, 1217 (25), 3908–3921. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.049>.
- Hristova-Cherbadzhi, M. M. (2022). Pesticides and sunflower breeding. En: M. L. Larramendy y S. Soloneski (Eds.), *Pesticides—Updates on toxicity, efficacy and risk assessment* (1ª Ed.). *IntechOpen*. Londres, Reino Unido. 36-60. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104478>.
- IBO. (2022). State of the blueberry industry report. Consultado en: https://agronometrics.com/ibo/sotir2022/top_10. Fecha de consulta: 4 de abril del 2023.
- ICA. (2022). Informe de producción, importación y exportación de insumos agrícolas—2022. Consultado en: <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/inocuidad/programas/regulacion-y-control-de-plaguicidas-quimicos/estadisticas>. Fecha de consulta: 9 de abril del 2023.

ICA. (2023). Plaguicidas químicos. Consultado en:

<https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/regulacion-y-control-de-plaguicidas-quimicos>. Fecha de consulta: 9 de abril del 2023.

INVIMA. (2024a). Plan nacional de vigilancia y control de residuos de plaguicidas y metales pesados en alimentos de origen vegetal—pulpa de frutas 2024. Consultado en:

<https://www.invima.gov.co/productos-vigilados/alimentos-y-bebidas-alcoholicas/otros-alimentos-y-bebidas>. Fecha de consulta: 25 de marzo del 2025.

INVIMA. (2024b). Resultados del plan nacional de vigilancia y control de residuos de plaguicidas y metales pesados en alimentos de origen vegetal—pulpa de frutas 2023.

Consultado en: <https://www.invima.gov.co/productos-vigilados/alimentos-y-bebidas-alcoholicas/otros-alimentos-y-bebidas>. Fecha de consulta: 25 de marzo del 2025.

Kind, T., y Fiehn, O. (2007). Seven golden rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry. *BMC Bioinformatics*, 8 (1), 105.

<https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-105>.

King, A. M., y Aaron, C. K. (2015). Organophosphate and carbamate poisoning. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 33 (1), 133–151.

<https://doi.org/10.1016/j.emc.2014.09.010>.

Kwon, H., Anastassiades, M., Dörk, D., Hong, S. M., y Moon, B. C. (2018). Compensation for matrix effects in GC analysis of pesticides by using cucumber extract. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410 (22), 5481–5489. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1197-1>.

Kwon, H., Lehotay, S. J., y Geis-Asteggiant, L. (2012). Variability of matrix effects in liquid and gas chromatography–mass spectrometry analysis of pesticide residues after

QuEChERS sample preparation of different food crops. *Journal of Chromatography A*, 1270, 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.059>.

Lebelo, K., Malebo, N., Mochane, M. J., y Masinde, M. (2021). Chemical contamination pathways and the food safety implications along the various stages of food production: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (11), 5795. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115795>.

Lehotay, S. J. (2007). Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 90 (2), 485–520. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485>.

Lehotay, S. J., Mastovska, K., Amirav, A., Fialkov, A. B., Martos, P. A., Kok, A. D., y Fernández-Alba, A. R. (2008). Identification and confirmation of chemical residues in food by chromatography-mass spectrometry and other techniques. *Trends in Analytical Chemistry*, 27 (11), 1070–1090. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.10.004>.

Lehotay, S. J., Son, K. A., Kwon, H., Koesukwiwat, U., Fu, W., Mastovska, K., Hoh, E., y Leepipatpiboon, N. (2010). Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1217 (16), 2548–2560. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.044>.

Li, C., Chu, S., Tan, S., Yin, X., Jiang, Y., Dai, X., Gong, X., Fang, X., y Tian, D. (2021). Towards higher sensitivity of mass spectrometry: A perspective from the mass analyzers. *Frontiers in Chemistry*, 9, 813359. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.813359>.

Li, P., Duan, Y., Ge, H., Zhang, Y., y Wu, X. (2018). Multiresidue analysis of 113 pesticides in different maturity levels of mangoes using an optimized QuEChERS method with GC-

MS/MS and UHPLC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 11 (10), 2742–2757.

<https://doi.org/10.1007/s12161-018-1263-5>.

Li, X., Li, H., Ma, W., Guo, Z., Li, X., Song, S., Tang, H., Li, X., y Zhang, Q. (2019). Development of precise GC-EI-MS method to determine the residual fipronil and its metabolites in chicken egg. *Food Chemistry*, 281, 85–90.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.041>.

Makarov, A. (2000). Electrostatic axially harmonic orbital trapping: a high-performance technique of mass analysis. *Analytical Chemistry*, 72 (6), 1156–1162.

<https://doi.org/10.1021/ac991131p>.

Mandal, S., Poi, R., Hazra, D. K., Ansary, I., Bhattacharyya, S., y Karmakar, R. (2023). Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: challenges and anticipations. *Journal of Chromatography B*, 1215, 123587.

<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123587>.

March, R. E. y Todd J. F. J. (2005). Theory of quadrupole instruments. En: *Quadrupole ion trap mass spectrometry* (2ª Ed.). Wiley. Hoboken, EE. UU. 165, 34–72.

<https://doi.org/10.1002/0471717983.ch2>.

Martínez-Mejía, M. J. (2010). Implementación de un método HS/SPME-GC para el análisis de residuos de pesticidas en leche (Tesis, Maestría). Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

McLafferty, F. W., y Tureček, F. (1993). Interpretation of mass spectra (4ª Ed.). *University Science Books*. Sausalito, EE. UU.

- Michalski, A., Damoc, E., Hauschild, J. P., Lange, O., Wiegand, A., Makarov, A., Nagaraj, N., Cox, J., Mann, M., y Horning, S. (2011). Mass spectrometry-based proteomics using Q Exactive, a high-performance benchtop quadrupole Orbitrap mass spectrometer. *Molecular & Cellular Proteomics*, 10(9), M111.011015.
<https://doi.org/10.1074/mcp.M111.011015>.
- Ministerio de Comercio, Industria y Turismo. (2022). Perfil: arándanos. Consultado en: <https://www.mincit.gov.co/estudios-economicos/estadisticas-e-informes/informes-perfiles-sectoriales>. Fecha de consulta: 3 de abril del 2023.
- Ministerio de la Protección Social. (2007). Límites máximos de residuos de plaguicidas—LMR en alimentos para consumo humano y en piensos o forrajes. Resolución número 2906 de 2007.
- Montes, R., Quintana, J. B., Ramil, M., y Rodil, R. (2020). Environmental applications (water). En: C. F. Poole (Ed.), *Solid-phase extraction* (1ª Ed.). Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos. 609-645 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816906-3.00023-6>.
- Mortier, K. A., Zhang, G. F., Van Peteghem, C. H., y Lambert, W. E. (2004). Adduct formation in quantitative bioanalysis: Effect of ionization conditions on paclitaxel. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 15 (4), 585–592.
<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2003.12.013>.
- Murray, K. K. (2022). Resolution and resolving power in mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 33 (12), 2342–2347.
<https://doi.org/10.1021/jasms.2c00216>.

- Nakhjavan, B., Bland, J., y Khosravifard, M. (2021). Optimization of a multiresidue analysis of 65 pesticides in surface water using solid-phase extraction by LC-MS/MS. *Molecules*, 26 (21), 6627. <https://doi.org/10.3390/molecules26216627>.
- Navalón, A., González-Casado, A., El-Khattabi, R., Vilchez, J. L., y Fernández-Alba, A. R. (1997). Determination of imidacloprid in vegetable samples by gas chromatography–mass spectrometry. *The Analyst*, 122 (6), 579–581. <https://doi.org/10.1039/a607950d>.
- Niessen, W. M. A. (2010). Group-specific fragmentation of pesticides and related compounds in liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (25), 4061–4070. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.058>.
- Nomura, H., Ueyama, J., Kondo, T., Saito, I., Murata, K., Iwata, T., Wakusawa, S., y Kamijima, M. (2013). Quantitation of neonicotinoid metabolites in human urine using GC-MS. *Journal of Chromatography B*, 941, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.10.012>.
- Obana, H., Okihashi, M., Akutsu, K., Kitagawa, Y., y Hori, S. (2003). Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (9), 2501–2505. <https://doi.org/10.1021/jf0261102>.
- OMS. (2020). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification (2019 Edition) (2ª Ed.). Ginebra, Suiza.
- Pang, G. F. (2018). Analytical methods for 793 pesticides and related chemical residues in products of plant origin. En: G. F. Pang, Q. Y. Chang, C. L. Fan, Y. Z. Cao y Y. M. Liu (Eds.), *Analytical methods for food safety by mass spectrometry*

(1ª Ed.). *Elsevier*. Ámsterdam, Países Bajos. 11–149 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814167-0.00002-8>.

Pareja, L., Cesio, V., Heinzen, H., y Fernández-Alba, A. R. (2011). Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC–MS/MS. *Talanta*, 83 (5), 1613–1622. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.052>.

Paul, W. (1990). Electromagnetic Traps for Charged and Neutral Particles (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International*, 29, 739–748. <https://doi.org/10.1002/anie.199007391>.

Perestrelo, R., Silva, P., Porto-Figueira, P., Pereira, J. A. M., Silva, C., Medina, S., y Câmara, J. S. (2019). QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. *Analytica Chimica Acta*, 1070, 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>.

Pérez, R. A., y Alberó, B. (2023). Ultrasound-assisted extraction methods for the determination of organic contaminants in solid and liquid samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 166, 117204. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117204>.

Rajski, Ł., Del Mar Gómez Ramos, M., y Fernández-Alba, A. R. (2017). Evaluation of MS² workflows in LC-Q-Orbitrap for pesticide multi-residue methods in fruits and vegetables. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409 (23), 5389–5400. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0220-2>.

Rajski, Ł., Martínez-Bueno, M. J., Ferrer, C., y Fernández-Alba, A. R. (2019). LC-ESI-QOrbitrapTM MS/MS within pesticide residue analysis in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry*, 118, 587–596. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.032>.

- Ranz, A., Korpecka, J., y Lankmayr, E. (2008). Optimized derivatization of acidic herbicides with trimethylsilyldiazomethane for GC analysis. *Journal of Separation Science*, 31 (4), 746–752. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700437>.
- Rejczak, T., y Tuzimski, T. (2015). Recent trends in sample preparation and liquid chromatography/mass spectrometry for pesticide residue analysis in food and related matrixes. *Journal of AOAC International*, 98 (5), 1143–1162. https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE1_Rejczak.
- Retamales, J., y Hancock, J. (2012). The blueberry industry. En: Blueberries (1ª Ed.). *Center for Agricultural Bioscience International*. Wallingford, Reino Unido. 1–19. <https://doi.org/10.1079/9781845939045.0000>.
- Rompa, M., Kremer, E., y Zygmunt, B. (2003). Derivatization in gas chromatographic determination of acidic herbicides in aqueous environmental samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377 (4), 590–599. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-2117-5>.
- Sannino, A. (2008). Pesticide residues. En: Y. Pico (Ed.), *Comprehensive analytical chemistry* (1ª Ed.). *Elsevier*. Ámsterdam, Países Bajos. 51, 257–305. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(08\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(08)00009-3).
- Seifert, J. (2014). Neonicotinoids. En: P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of toxicology* (1ª Ed.). *Elsevier*. Ámsterdam, Países Bajos. 477–482. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00168-8>.
- Sergazina, M., Vazquez, L., Llompert, M., y Dagnac, T. (2021). Occurrence of fungicides in vineyard and the surrounding environment. *Molecules*, 26 (20), 6152. <https://doi.org/10.3390/molecules26206152>.

- Sleno, L. (2012). The use of mass defect in modern mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 47 (2), 226–236. <https://doi.org/10.1002/jms.2953>.
- Spiers, J. M., Stringer, S. J., Draper, A. D., y Gupton, C. L. (2002). “Biloxi” southern highbush blueberry. *Acta Horticulturae*, 574, 153–155.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.574.21>.
- Stachniuk, A., y Fornal, E. (2016). Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food. *Food Analytical Methods*, 9 (6), 1654–1665.
<https://doi.org/10.1007/s12161-015-0342-0>.
- Stashenko, E. E. (2017). Identification of essential oil components. En: S. M. B. Hashemi, A. Mousavi Khaneghah, y A. D. S. Sant’Ana (Eds.), *Essential oils in food processing* (1ª Ed.). Wiley. Hoboken, EE. UU. 57–117. <https://doi.org/10.1002/9781119149392.ch3>.
- Stashenko, E. E., y Martínez, J. R. (2009). Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*, 1 (3), 29–45.
- Stashenko, E. E., y Martínez, J. R. (2010). GC-MS: Más de un analizador de masas, ¿para qué? *Scientia Chromatographica*, 2 (4), 25–48.
- Stashenko, E. E., y Martínez, J. R. (2011). Preparación de la muestra: Un paso crucial para el análisis por GC-MS. *Scientia Chromatographica*, 3 (1), 25–49.
<https://doi.org/10.4322/sc.2011.003>.
- Stoev, G., y Mihailova, A. (2004). Multiple-detector responses or multiple-retention times: What is more informative for gas chromatography peak identification? *Journal of Chromatography A*, 1047 (2), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.069>.

- Tadeo, J. L., Sánchez-Brunete, C., Albero, B., y García-Valcárcel, A. I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1217 (16), 2415–2440.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.066>.
- Tipler, A. (2012). Sample introduction methods. En: C. F. Poole (Ed.), *Gas chromatography* (1ª Ed.). Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos. 217–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820675-1.00008-3>.
- Tsai, W. T. (2014). Organochlorine insecticides. En: P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of toxicology* (1ª Ed.). Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos. 711–713. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00172-X>.
- Tubbs, C. W. (2016). California condors and DDT: examining the effects of endocrine disrupting chemicals in a critically endangered species. *Endocrine Disruptors*, 4 (1), e1173766.
<https://doi.org/10.1080/23273747.2016.1173766>.
- Universidad de Hertfordshire. (2025). Pesticide properties database. Consultado en: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>. Fecha de consulta: 10 de mayo del 2023.
- US EPA. (2022). Basic information about pesticide ingredients. Consultado en: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>. Fecha de consulta: 6 de abril del 2025.
- Vargas-Pérez, M., Domínguez, I., González, F. J. E., y Frenich, A. G. (2020). Application of full scan gas chromatography high resolution mass spectrometry data to quantify targeted-pesticide residues and to screen for additional substances of concern in fresh-food commodities. *Journal of Chromatography A*, 1622, 461118.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461118>.

- Visconti, G., Boccard, J., Feinberg, M., y Rudaz, S. (2023). From fundamentals in calibration to modern methodologies: a tutorial for small molecules quantification in liquid chromatography–mass spectrometry bioanalysis. *Analytica Chimica Acta*, 1240, 340711. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340711>.
- Wang, J., Chow, W., Chang, J., y Wong, J. W. (2014). Ultrahigh-performance liquid chromatography electrospray ionization Q-Orbitrap mass spectrometry for the analysis of 451 pesticide residues in fruits and vegetables: method development and validation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (42), 10375–10391. <https://doi.org/10.1021/jf503778c>.
- Wang, J., Chow, W., Chang, J., y Wong, J. W. (2017). Development and validation of a qualitative method for target screening of 448 pesticide residues in fruits and vegetables using UHPLC/ESI Q-Orbitrap based on data-independent acquisition and compound database. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (2), 473–493. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05034>.
- Wong, J. W., Wang, J., Chow, W., Carlson, R., Jia, Z., Zhang, K., Hayward, D. G., y Chang, J. S. (2018). Perspectives on liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry for pesticide screening in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (37), 9573–9581. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03468>.
- Wong, J. W., Wang, J., Zhang, K., Hayward, D. G., Yang, P., y Wittenberg, J. B. (2019). Pesticides: An update on mass spectrometry approaches. En: L. Melton, F. Shahidi, y P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of food chemistry* (1ª Ed.). Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos. 433–448. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21813-1>.

- Wong, J. W., Zhang, K., Tech, K., Hayward, D. G., Makovi, C. M., Krynitsky, A. J., Schenck, F. J., Banerjee, K., Dasgupta, S., y Brown, D. (2010). Multiresidue pesticide analysis in fresh produce by capillary gas chromatography–mass spectrometry/selective ion monitoring (GC-MS/SIM) and –tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (10), 5868–5883. <https://doi.org/10.1021/jf903854n>.
- Wu, I., Turnipseed, S. B., Storey, J. M., Andersen, W. C., y Madson, M. R. (2020). Comparison of data acquisition modes with Orbitrap high-resolution mass spectrometry for targeted and non-targeted residue screening in aquacultured eel. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 34 (7), e8642. <https://doi.org/10.1002/rcm.8642>.
- Xie, G. R., Huang, J. T., Sung, G., Chang, J., y Chen, H. J. (2022). Traceable and integrated pesticide screening (TIPS), a systematic and retrospective strategy for screening 900 pesticides and unknown metabolites in tea. *Analytical Chemistry*, 94 (48), 16647–16657. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c02758>.
- Zacharia, J. T. (2011). Identity, physical and chemical properties of pesticides. En: M. Stoytcheva y M. Stoytcheva (Eds.), *Pesticides in the modern world—Trends in pesticides analysis (1ª Ed.)*. InTech. Londres, Reino Unido. 1-18. <https://doi.org/10.5772/17513>.
- Zhang, Z., y Pawliszyn, J. (1993). Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 65 (14), 1843–1852. <https://doi.org/10.1021/ac00062a008>.
- Zhorov, B. S., y Dong, K. (2017). Elucidation of pyrethroid and DDT receptor sites in the voltage-gated sodium channel. *Neuro Toxicology*, 60, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.08.013>.
- Zhou, H., Cao, Y. M., Miao, S., Lan, L., Chen, M., Li, W. T., Mao, X. H., y Ji, S. (2019). Qualitative screening and quantitative determination of 569 pesticide residues in honeysuckle using

ultrahigh-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1606, 460374. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460374>.

Zomer, P., y Mol, H. G. J. (2015). Simultaneous quantitative determination, identification and qualitative screening of pesticides in fruits and vegetables using LC-Q-Orbitrap™-MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32 (10), 1628–1636. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1085652>.

Zubarev, R. A., y Makarov, A. (2013). Orbitrap mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 85 (11), 5288–5296. <https://doi.org/10.1021/ac4001223>.

Anexo A.

Propiedades fisicoquímicas y clasificación de 36 plaguicidas. Adaptado de Universidad de Hertfordshire, 2025.

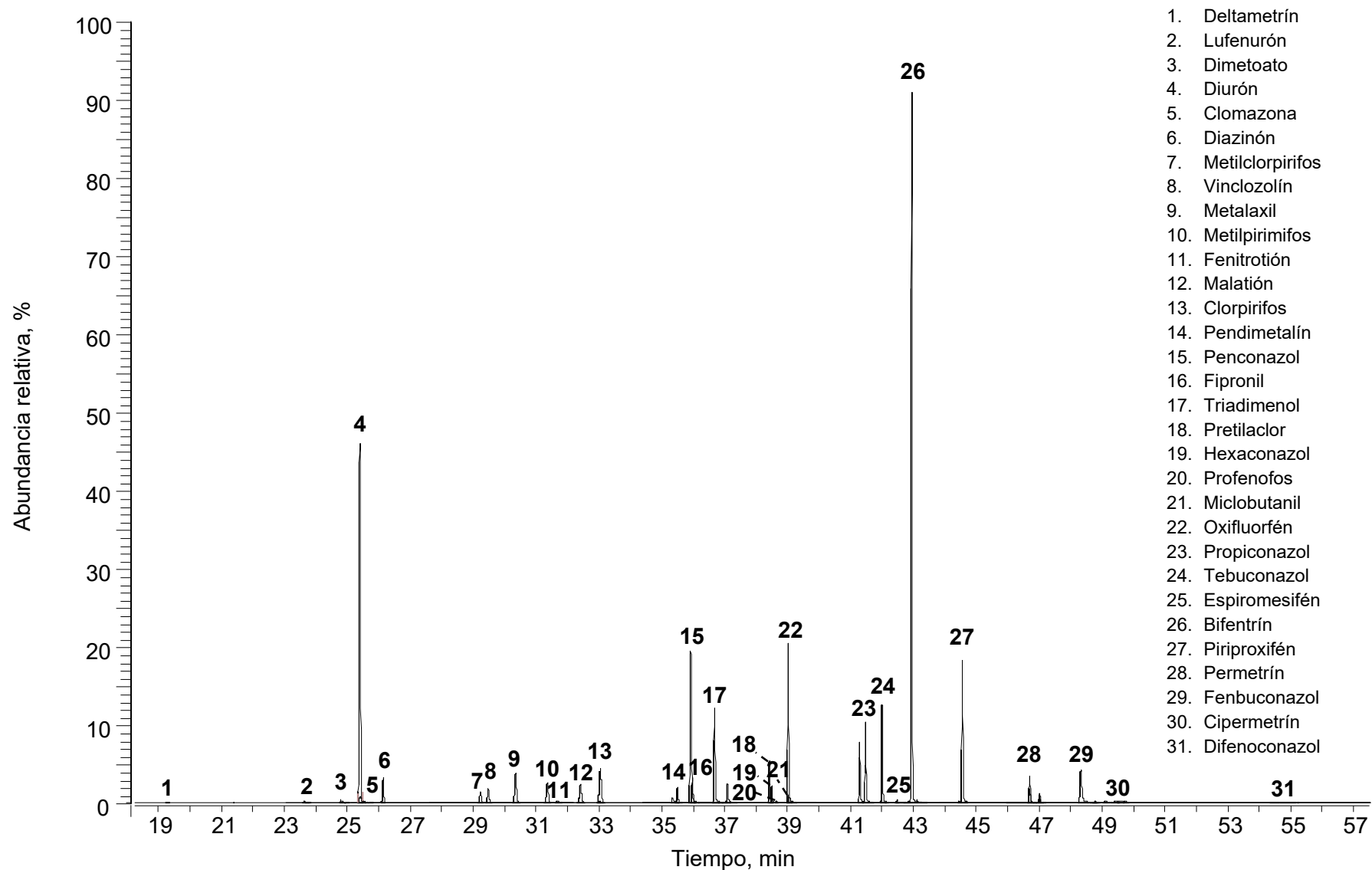
Analito	Fórmula molecular	Masa molecular	Clasificación según			DL ₅₀ , mg/kg	Log P _{ow}	Temperatura de ebullición, °C
			Uso	Estructura química	Toxicidad			
2,4-D	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	221,04	Herbicida	Derivado de ácido fenoxiacético	II	375	-0,82	273
Bifentrín	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	422,87	Insecticida	Piretroides	II	55	6,60	280*
Carbaril	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201,22	Insecticida	Carbamato	II	300	2,36	210
Carbendazim	C ₈ H ₉ N ₃ O ₂	191,21	Fungicida	Carbamato	U	>10000	1,48	305*
Cipermetrín	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	416,30	Insecticida	Piretroides	II	250	5,55	220*
Clomazona	C ₁₂ H ₁₄ CINO ₂	239,70	Herbicida	Oxazolidona	II	1369	2,58	282
Clorpirifos	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	350,58	Insecticida	Organofosforados	II	135	4,70	170*
Metilclorpirifos	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	322,53	Insecticida	Organofosforados	III	>3000	4,00	175*
Deltametrín	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	505,20	Insecticida	Piretroides	II	135	4,60	-
Diazinón	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304,35	Insecticida	Organofosforados	II	300	3,69	140*
Difenoconazol	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	406,26	Fungicida	Triazol	II	1453	4,36	101
Dimetoato	C ₈ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229,26	Insecticida	Organofosforados	II	150	0,75	113*
Diurón	C ₈ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	233,09	Herbicida	Fenilurea	III	3400	2,87	330
Espiromesifén	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	370,48	Insecticida	Derivado de ácido tetrónico	-	-	4,55	375
Fenbuconazol	C ₁₉ H ₁₇ CIN ₄	336,82	Fungicida	Triazol	III	>2000	3,79	360*
Fenitrotión	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	277,23	Insecticida	Organofosforados	II	503	3,32	210*
Fipronil	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	437,15	Insecticida	Pirazol	II	92	3,75	230*
Hexaconazol	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	314,21	Fungicida	Triazol	III	2180	3,90	-
Imidacloprid	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255,66	Insecticida	Neonicotinoide	II	450	0,57	230*
Lufenurón	C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃	511,16	Insecticida	Benzoilurea	III	>2000	5,12	242*
Malatión	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330,36	Insecticida	Organofosforados	III	2100	2,75	174*
Metalaxil	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279,33	Fungicida	Carbamato	II	670	1,75	394
Miclobutanil	C ₁₅ H ₁₇ CIN ₄	288,78	Fungicida	Triazol	II	1600	2,89	391
Oxfluorfen	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	361,70	Herbicida	Difenil eter	U	>5000	4,86	331*
Penconazol	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	284,18	Fungicida	Triazol	III	2120	3,72	415
Pendimetalín	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281,31	Herbicida	Dinitroanilina	II	1050	5,40	246
Permetrín	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	391,29	Insecticida	Piretroides	II	220	6,10	466
Piriproxifén	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃	321,37	Insecticida	Piridina	U	>5000	5,37	318
Metilpirimifos	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	305,33	Insecticida	Organofosforados	II	1667	4,20	162*
Pretilaclor	C ₁₇ H ₂₆ CINO ₂	311,85	Herbicida	Benzoilurea	U	6100	4,08	442
Profenofos	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	373,63	Insecticida	Organofosforados	II	358	1,70	-
Propiconazol	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	342,22	Fungicida	Triazol	II	1520	3,72	355*
Tebuconazol	C ₁₆ H ₂₂ CIN ₃ O	307,82	Fungicida	Triazol	II	1700	3,70	350
Tiametoxam	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	291,71	Insecticida	Neonicotinoide	II	871	-0,13	147*
Triadimenol	C ₁₄ H ₁₆ CIN ₃ O ₂	295,76	Fungicida	Triazol	II	900	3,18	270*
Vinclozolin	C ₁₂ H ₉ Cl ₂ NO ₃	286,11	Fungicida	Dicarboximida	U	10000	3,02	-

Anexo B.Transiciones de masas $F_p \rightarrow F_f$ reportadas en la literatura.

Analito	t_R , min	Ventanas de MRM	Rango de tiempo, min	Transición 1 ($m/z \rightarrow m/z$)	Transición 2 ($m/z \rightarrow m/z$)	Referencias
Deltametrín	19.55			172→93	251→93	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Lufenurón	24.01			174→75	174→110	(Girame <i>et al.</i> , 2022)
Dimetoato	25.14	1	10,00 - 26,33	143→111	125→79	(Li <i>et al.</i> , 2018)
Diurón	25.86			124→73	187→124	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Clomazona	25.97			125→89	138→75	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Diazinón	26.69			304→179	179→121	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Metilclorpirifos	29.83	2	26,34 - 31,85	286→93	286→241	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Vinclozólín	30.48			285→212	285→172	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Metalaxil	31.38			132→117	160→130	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Metilpirimifos	32.32			290→125	290→233	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Fenitrotión	32.43	3	31,86- 35,05	277→109	277→127	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Malatión	33.18			127→99	173→99	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Clorpirifos	33.90			314→258	197→169	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Pendimetalín	36.19			252→161	252→162	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Penconazol	36.40	4	35,06 - 38,10	159→89	248→157	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Fipronil	36.79			367→213	367→255	(Li <i>et al.</i> , 2019)
Triadimenol	37.28			112→58	128→65	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Pretilaclor	38.93			202→146	202→174	(Li <i>et al.</i> , 2018)
Hexaconazol	38.94			214→123	214→159	(Chen <i>et al.</i> , 2016)
Profenofos	38.97	5	38,11 - 40,55	337→188	337→269	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Miclobutanil	39.41			179→90	179→125	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Oxifluorfen	39.49			300→223	361→300	(Chen <i>et al.</i> , 2016)
Propiconazol	41.61			173→74	173→109	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Tebuconazol	42.41			125→89	125→99	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Espiromesifén	42.90	6	40,56 - 46,08	99→57	254→209	(Li <i>et al.</i> , 2018)
Bifentrin	43.32			181→165	181→166	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Piriproxifén	44.99			136→78	136→96	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Permetrín	47.18			183→128	163→127	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Fenbuconazol	48.87	7	46,09 - 52,50	129→78	129→102	(Li <i>et al.</i> , 2018; Girame <i>et al.</i> , 2022)
Cipermetrín	49.91			163→91	163→127	(Wong <i>et al.</i> , 2010)
Difenoconazol	55.10	8	52,51 - 73,00	323→265	323→202	(Deveci <i>et al.</i> , 2023)

Continuación. **Anexo B.**

EIC de transiciones de masas $F_p \rightarrow F_f$ de 31 plaguicidas, obtenidas por GC/MS/MS (QqQ), usando el modo de adquisición MRM.



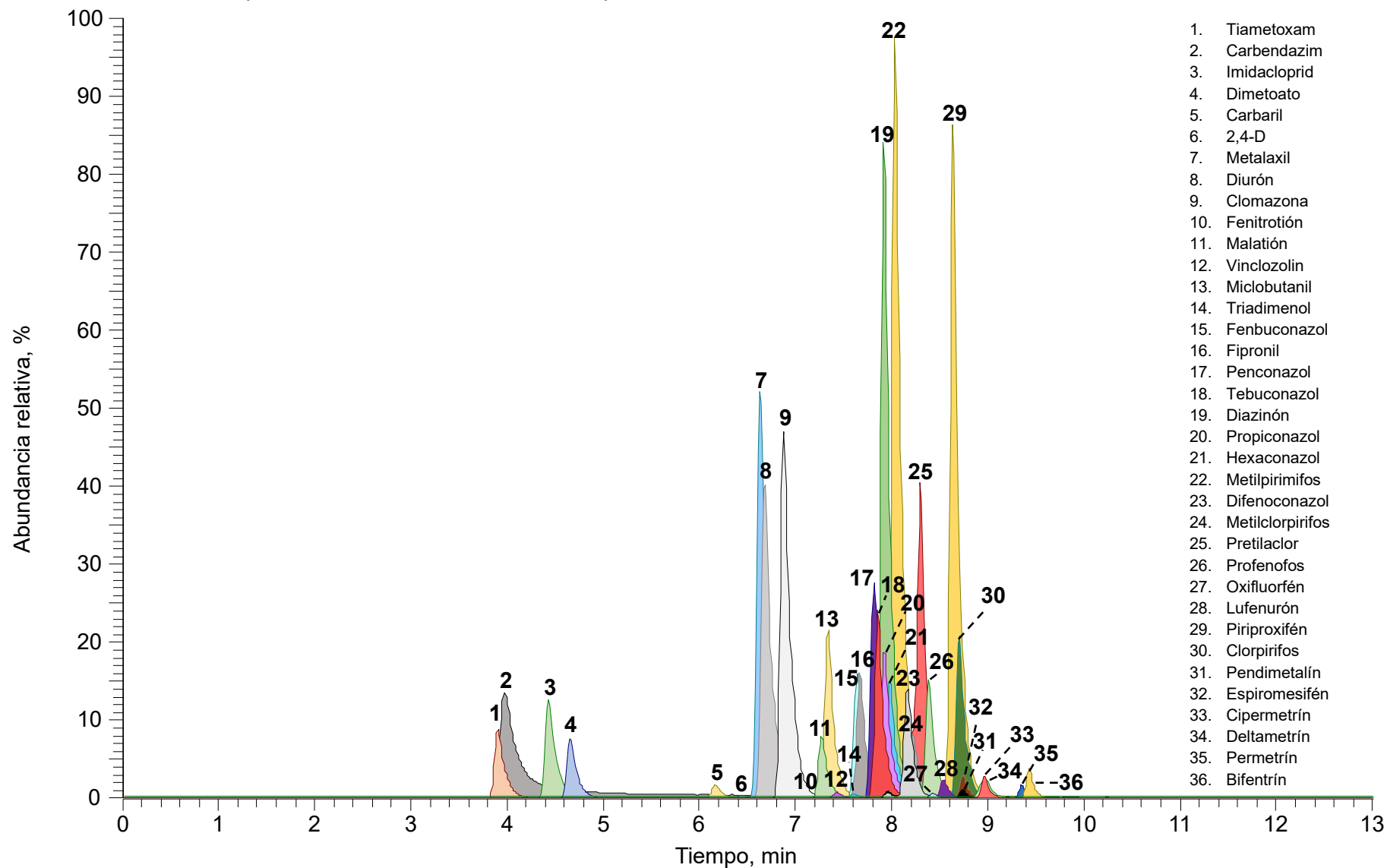
Anexo C.

Área cromatográficas de las corrientes iónicas extraídas de las moléculas protonadas, moléculas deprotonadas y aductos de 36 plaguicidas, a diferentes voltajes de *electrospray* de la interfaz ESI.

Análito	Fórmula molecular	Ion	Masa exacta	t _R , min	Áreas cromatográficas a diferentes voltajes del capilar de la interfaz de ionización por <i>electrospray</i> (ESI), cuentas x10 ⁶ (n=3)				
					1,5 kV	2,5 kV	3,5 kV	4,5 kV	5,5 kV
Carbendazim	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	192,07675	3,8	963,6 ± 71,2	982,3 ± 52,1	1339,5 ± 142,2	1220,3 ± 191,3	1038,4 ± 95,2
Tiametoxam	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	[M+H] ⁺	292,02656	3,9	206,2 ± 7,3	211,2 ± 10,5	265,6 ± 7,7	302,3 ± 13,5	266,6 ± 15,1
Imidacloprid	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	[M+H] ⁺	256,05958	4,4	273,9 ± 10,1	310,2 ± 19,0	376,2 ± 2,4	442,6 ± 5,3	405,3 ± 17,2
		[M-H] ⁻	254,04393	4,4	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	4,2 ± 1,2	4,4 ± 0,2	4,3 ± 0,5
Dimetoato	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	[M+H] ⁺	230,00690	4,6	241,4 ± 11,1	265,5 ± 7,7	303,0 ± 10,7	345,4 ± 10,1	293,4 ± 5,4
Carbaril	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	202,08626	6,0	67,9 ± 4,1	71,9 ± 4,9	66,6 ± 31,5	78,1 ± 20,2	81,0 ± 3,0
2,4-D	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	[M-H] ⁻	218,96103	6,4	19,6 ± 0,5	17,5 ± 1,3	23,6 ± 2,4	26,4 ± 0,1	25,4 ± 2,1
Metalaxil	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	[M+H] ⁺	280,15433	6,5	1311,1 ± 92,7	1356,6 ± 77,3	1658,9 ± 6,7	1953,2 ± 55,7	1615,2 ± 53,7
Diurón	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	[M+H] ⁺	233,02429	6,5	1038,8 ± 8,3	1115,9 ± 67,4	1275,6 ± 51,5	1479,5 ± 22,0	1255,5 ± 36,0
		[M-H] ⁻	231,00864	6,6	25,5 ± 0,9	31,4 ± 1,0	51,4 ± 10,8	60,6 ± 1,3	61,9 ± 1,7
Clomazona	C ₁₂ H ₁₄ ClNO ₂	[M+H] ⁺	240,07858	6,7	1080,4 ± 35,5	1099,7 ± 102,6	1383,2 ± 31,0	1560,3 ± 17,9	1331,7 ± 48,3
Fenitrotión	C ₉ H ₁₂ NO ₃ PS	[M+H] ⁺	278,02466	7,0	4,9 ± 0,1	5,4 ± 0,8	5,6 ± 0,1	6,5 ± 0,1	5,6 ± 0,3
Malatión	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	[M+H] ⁺	331,04334	7,1	200,9 ± 5,9	241,4 ± 15,5	255,7 ± 3,1	301,3 ± 8,4	259,6 ± 5,3
Vinclozolin	C ₁₂ H ₉ Cl ₂ NO ₃	[M+H] ⁺	286,00323	7,1	20,5 ± 0,4	24,9 ± 0,6	25,4 ± 1,0	31,1 ± 1,7	26,3 ± 0,9
Miclobutanil	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	[M+H] ⁺	289,12145	7,2	496,2 ± 18,7	477,9 ± 17,5	606,9 ± 54,3	673,3 ± 9,4	572,1 ± 49,1
Triadimenol	C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂	[M+H] ⁺	296,11603	7,3	24,9 ± 0,4	22,0 ± 2,0	27,8 ± 0,4	29,3 ± 1,5	23,9 ± 2,9
Fenbuconazol	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄	[M+H] ⁺	337,12145	7,5	475,7 ± 72,8	417,2 ± 10,4	489,3 ± 60,6	542,7 ± 0,9	448,4 ± 27,4
Fipronil	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₈ N ₄ OS	[M+NH ₄] ⁺	453,97253	7,6	50,1 ± 1,8	61,3 ± 0,7	73,6 ± 6,0	85,5 ± 2,1	73,5 ± 5,2
		[M+H] ⁺	436,94598	7,6	28,9 ± 4,4	24,0 ± 0,4	29,7 ± 3,2	35,5 ± 1,6	29,9 ± 3,7
		[M-H] ⁻	434,93033	7,6	432,5 ± 48,8	355,6 ± 30,2	446,0 ± 33,2	498,3 ± 14,0	557,1 ± 24,6
Tebuconazol	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	[M+H] ⁺	308,15242	7,7	416,6 ± 31,2	421,6 ± 30,4	504,1 ± 34,7	590,3 ± 7,5	493,7 ± 42,6
Diazinón	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	[M+H] ⁺	305,10833	7,7	1848,3 ± 157,6	1655,6 ± 104,4	1919,0 ± 82,9	2225,8 ± 46,2	1893,1 ± 87,1
Penconazol	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	[M+H] ⁺	284,07158	7,7	630,9 ± 71,7	524,0 ± 91,5	647,3 ± 43,8	725,0 ± 8,2	627,5 ± 31,2
Metilpirimifos	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	[M+H] ⁺	306,10358	7,7	2033,1 ± 446,2	1932,8 ± 85,1	2368,4 ± 141,7	2730,7 ± 149,6	2349,2 ± 68,7
Propiconazol	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	342,07706	7,7	417,6 ± 51,7	398,7 ± 23,3	475,5 ± 24,9	531,8 ± 20,2	462,9 ± 34,2
Hexaconazol	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	[M+H] ⁺	314,08214	7,8	326,8 ± 11,7	312,6 ± 12,1	383,8 ± 29,1	413,7 ± 6,2	368,2 ± 33,5
Metilclorpirifos	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	[M+H] ⁺	321,90226	7,9	70,7 ± 5,3	83,6 ± 4,5	99,3 ± 8,7	118,2 ± 10,2	98,1 ± 9,1
Difenoconazol	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	[M+H] ⁺	406,07197	8,0	349,6 ± 8,5	344,9 ± 8,9	381,2 ± 6,1	457,0 ± 8,8	392,3 ± 19,4
Pretilaclor	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₂	[M+H] ⁺	312,17248	8,1	1186,7 ± 22,1	1231,5 ± 21,2	1443,6 ± 30,3	1742,3 ± 6,2	1469,9 ± 37,4
Profenofos	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	[M+H] ⁺	372,94242	8,2	298,7 ± 11,3	312,0 ± 24,7	366,6 ± 9,1	406,8 ± 7,0	378,3 ± 17,9
Oxifluorfen	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	[M+H] ⁺	362,04015	8,2	2,4 ± 0,2	3,8 ± 0,1	5,3 ± 0,5	6,9 ± 0,3	5,3 ± 0,8
Piriproxyfen	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃	[M+H] ⁺	322,14377	8,3	1722,2 ± 23,1	1843,9 ± 70,6	2090,6 ± 93,0	2498,4 ± 59,7	2125,7 ± 104,2
Lufenurón	C ₁₇ H ₆ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃	[M+H] ⁺	510,98570	8,4	13,7 ± 0,2	19,6 ± 1,4	30,5 ± 0,8	32,2 ± 2,3	29,3 ± 2,2
		[M-H] ⁻	508,97004	8,3	38,5 ± 2,7	30,6 ± 1,6	37,9 ± 4,3	44,1 ± 0,6	42,9 ± 3,1
Clorpirifos	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	[M+H] ⁺	349,93356	8,4	276,1 ± 15,0	296,2 ± 4,0	364,8 ± 24,8	386,5 ± 1,0	359,3 ± 2,4
Pendimetalin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	[M+H] ⁺	282,14483	8,4	62,1 ± 0,9	59,8 ± 4,2	70,9 ± 4,0	71,2 ± 3,0	68,5 ± 5,0
Espiromesifen	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	[M+H] ⁺	371,22169	8,5	23,6 ± 1,8	25,7 ± 1,1	29,4 ± 4,5	30,8 ± 2,6	27,6 ± 0,4
Deltametrin	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	[M+NH ₄] ⁺	521,00699	8,7	49,0 ± 2,4	53,4 ± 2,7	60,6 ± 6,7	66,6 ± 2,1	62,7 ± 3,0
		[M+H] ⁺	503,98044	8,7	8,1 ± 0,4	8,1 ± 0,5	9,7 ± 1,0	10,9 ± 0,2	10,2 ± 0,7
Cipermetrin	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	[M+NH ₄] ⁺	433,10802	8,7	59,4 ± 2,7	63,9 ± 0,6	76,7 ± 3,0	85,9 ± 0,8	71,4 ± 3,1
		[M+H] ⁺	416,08147	8,7	17,5 ± 0,3	19,7 ± 0,3	24,3 ± 1,5	28,2 ± 1,5	23,4 ± 0,6
Permetrin	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	[M+NH ₄] ⁺	408,11277	9,0	41,2 ± 1,8	44,3 ± 1,5	49,1 ± 1,9	51,5 ± 3,3	43,9 ± 2,9
		[M+H] ⁺	391,08622	9,0	16,8 ± 0,9	19,3 ± 0,7	20,4 ± 1,1	23,9 ± 1,2	19,1 ± 1,3
Bifentrin	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	440,15987	9,1	54,6 ± 3,3	76,1 ± 16,3	69,9 ± 4,9	81,1 ± 2,7	68,8 ± 1,7

Continuación. **Anexo C.**

EIC de las moléculas protonadas $[M+H]^+$, deprotonadas $[M-H]^-$ y aductos $[M+NH_4]^+$ de 36 plaguicidas, obtenidas por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS, usando el modo de adquisición de masas *Full MS* – ddMS².



Anexo D.

Masas exactas de las moléculas protonadas $[M+H]^+$, deprotonadas $[M-H]^-$, aductos e iones-fragmento obtenidos por UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-HRMS.

Analito	Fórmula	Ion	Masa exacta, m/z	Fragmentos, m/z	Intensidad relativa, %
2,4-D	$C_8H_6Cl_2O_3$	$[M-H]^-$	218.96212	160.95509	74
				124.97887	100
Bifentrín	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	$[M+NH_4]^+$	440.15987	181.10144	100
Carbaril	$C_{12}H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	202.08626	102.09167	75
Carbendazim	$C_9H_9N_3O_2$	$[M+H]^+$	192.07675	160.05064	100
Cipermetrín	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	$[M+NH_4]^+$	433.10802	191.00253	100
				127.03107	15
Clomazona	$C_{12}H_{14}ClNO_2$	$[M+H]^+$	240.07858	125.01537	100
Clorpirifos	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	$[M+H]^+$	349.93356	197.92754	88
				114.96157	100
Deltametrín	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	$[M+NH_4]^+$	521.00699	278.90182	100
Diazinón	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	$[M+H]^+$	305.10833	169.07942	90
				153.10228	57
				114.96156	83
Difenoconazol	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	$[M+H]^+$	406.07197	337.03928	100
				251.00246	11
Dimetoato	$C_5H_{12}NO_3PS_2$	$[M+H]^+$	230.00690	198.9648	31
				170.96989	33
				142.99263	100
Diurón	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$	$[M+H]^+$	233.02429	72.04494	100
Espiromesifén	$C_{23}H_{30}O_4$	$[M+H]^+$	371.22169	355.06982	76
				301.05936	53
				167.05553	79
Fenbuconazol	$C_{19}H_{17}ClN_4$	$[M+H]^+$	337.12145	125.01543	79
				70.04055	100
Fenitrotión	$C_9H_{12}NO_5PS$	$[M+H]^+$	278.02466	142.99301	36
Fipronil	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$	$[M-H]^-$	434.93143	183.01686	100
				170.00897	67
Hexaconazol	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	$[M+H]^+$	314.08214	158.97635	10
				70.04055	100
Imidacloprid	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	$[M+H]^+$	256.05958	209.05888	100
				175.0979	83
Lufenurón	$C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$	$[M+H]^+$	510.98570	158.04126	100
				141.01471	39
Malatión	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	$[M+H]^+$	331.04334	142.99281	35
				127.03915	77
				99.00804	100
Metalaxil	$C_{15}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	280.15433	220.13322	100
				192.13835	74
				160.11215	50

Continuación. **Anexo D.**

Analito	Fórmula	Ion	Masa exacta, <i>m/z</i>	Fragmentos, <i>m/z</i>	Intensidad relativa, %
Metilclorpirifos	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	[M+H] ⁺	321.90226	289.87595	31
				142.99275	100
Metilpirimifos	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	[M+H] ⁺	306.10358	164.11835	26
Miclobutanil	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	[M+H] ⁺	289.12145	125.01543	27
Oxifluorfen	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	[M+H] ⁺	362.04015	315.99841	80
				237.98831	46
Penconazol	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	[M+H] ⁺	284.07158	158.979627	53
				70.04054	100
Pendimetalín	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	[M+H] ⁺	282.14483	134.09643	43
Permetrín	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	[M+NH ₄] ⁺	408.11277	183.08047	81
				149.02342	100
Piriproxifén	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃	[M+H] ⁺	322.14377	227.10655	12
				185.05972	12
				96.04476	100
Pretilaclor	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₂	[M+H] ⁺	312.17248	252.11494	100
Profenofos	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	[M+H] ⁺	372.94242	344.91095	36
				302.86401	100
Propiconazol	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	342.07706	158.97636	79
				69.07047	40
Tebuconazol	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	[M+H] ⁺	308.15242	125.01535	6
				70.04057	100
Tiametoxam	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	[M+H] ⁺	292.02656	211.06487	100
				131.96704	61

Anexo E.

Valores de p y coeficientes de determinación (R^2) obtenidos a partir del diseño experimental 2^3 de la extracción UAE, para las variables independientes de temperatura (T), tiempo de extracción (t) y relación muestra/solvente (m/s).

Análito	R^2	Valor de p					
		m/s, mg/mL	T, °C	t, min	m/s * T	m/s * t	T * t
2,4-D	0.919	<0,0001	0.019	0.337	0.018	0.301	0.175
Bifentrín	0.857	<0,0001	0.168	0.341	0.134	0.493	0.598
Carbaril	0.650	0.010	0.065	0.759	0.639	0.389	0.504
Carbendazim	0.604	0.606	0.025	0.201	0.536	0.919	0.079
Cipermetrín	0.969	<0,0001	0.039	0.364	0.817	0.805	0.864
Clomazona	0.653	0.017	0.024	0.829	0.382	0.750	0.668
Clorpirifos	0.936	<0,0001	0.012	0.715	0.804	0.651	0.566
Deltametrín	0.990	<0,0001	0.007	0.132	0.618	0.190	0.191
Diazinón	0.530	0.406	0.023	0.742	0.358	0.658	0.446
Difenoconazol	0.740	0.002	0.042	0.811	0.535	0.411	0.391
Dimetoato	0.678	0.018	0.015	0.573	0.387	0.804	0.586
Diurón	0.736	0.005	0.013	0.734	0.217	0.867	0.550
Espiromesifén	0.849	0.000	0.044	0.343	0.367	0.551	0.772
Fenbuconazol	0.634	0.044	0.020	0.712	0.336	0.776	0.377
Fenitrotión	0.955	<0,0001	0.063	0.542	0.894	0.153	0.714
Fipronil	0.853	<0,0001	0.072	0.821	0.272	0.935	0.477
Hexaconazol	0.666	0.063	0.013	0.576	0.185	0.534	0.304
Imidacloprid	0.518	0.601	0.019	0.683	0.997	0.575	0.429
Lufenurón	0.976	<0,0001	0.015	0.562	0.418	0.611	0.345
Malatión	0.628	0.045	0.021	0.985	0.523	0.341	0.461
Metalaxil	0.636	0.463	0.008	0.953	0.160	0.637	0.379
Metil-Clorpirifos	0.771	0.001	0.024	0.864	0.456	0.837	0.305
Metil-pirimifos	0.581	0.121	0.019	0.674	0.501	0.709	0.494
Miclobutanil	0.584	0.942	0.010	0.781	0.263	0.818	0.594
Oxifluorfén	0.954	<0,0001	0.039	0.626	0.574	0.445	0.089
Penconazol	0.560	0.217	0.021	0.779	0.450	0.687	0.337
Pendimetalín	0.966	<0,0001	0.002	0.187	0.928	0.634	0.386
Permetrín	0.996	<0,0001	0.003	0.005	0.026	0.003	0.863
Piriproxyfén	0.824	0.000	0.013	0.704	0.652	0.232	0.575
Pretilaclor	0.664	0.064	0.008	0.646	0.397	0.561	0.440
Profenofos	0.778	0.001	0.020	0.681	0.405	0.743	0.432
Propiconazol	0.503	0.435	0.032	0.967	0.346	0.475	0.497
Tebuconazol	0.828	0.000	0.015	0.553	0.752	0.285	0.477
Tiametoxam	0.756	0.004	0.015	0.318	0.872	0.715	0.139
Triadimenol	0.949	<0,0001	0.002	0.180	0.942	0.009	0.937
Vinclozolin	0.908	>0,0001	0.549	0.535	0.674	0.515	0.336