

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de una Técnica Colorimétrica para Detección de Organofosforados en Frutas y Verduras en el Municipio de Saltillo, Coahuila, México

Por:

UBILFRIDO VÁSQUEZ GUTIÉRREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de una Técnica Colorimétrica para Detección de Organofosforados en Frutas y Verduras en el Municipio de Saltillo, Coahuila, México

Por:

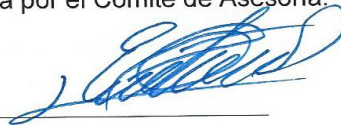
UBILFRIDO VÁSQUEZ GUTIÉRREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ernesto Cerna Chávez
Asesor Principal



MC. Irasema del R. Malacara Herrera
Coasesor



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes
Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2021

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos: Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Ubilfrido Vásquez Gutiérrez

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por brindarme hospitalidad, apoyo y oportunidad para forjar mis estudios de Licenciatura.

Al **Departamento de Parasitología Agrícola**, por poner a mi disposición las herramientas necesarias para emprender mi carrera profesional y por la disponibilidad en tiempo de pandemia, para realizar mis estudios de investigación.

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez** por la disponibilidad dada, en realizar mi proyecto de investigación en inicios de tiempos de pandemia.

A la **Dra. Irasema del Rosario Malacara** por su disposición, apoyo y comprensión brindado durante el proceso de los experimentos realizados.

A la **Dra. Jazmín Janeth Velázquez Guerrero**, por su atención y apoyo durante el desarrollo de este proyecto y por formar parte del jurado.

DEDICATORIAS

A DIOS TODOPODEROSO

Por brindarme iluminación, sabiduría en mi camino y no dejarme recaer antes adversidades en la vida.

A MI MADRE Y PADRE

GISELA GUTIÉRREZ VÁSQUEZ Y FLORIBERTO VÁSQUEZ GUTIÉRREZ, por brindarme la vida, apoyarme en momentos propensos y ser de mi un motor para seguir adelante. No tengo palabras para explicar los agradecimientos que les debo a ustedes. Sus desvelos, oraciones de cada día y noche, me han brindado lo que hoy tengo “Una profesión”. El camino no fue tan fácil madre querida, pero desde el momento que salí de casa, no sólo me llevé un mar de esperanzas, sino también de sueños y apoyo moral por parte de ustedes. A esto y mucho, les agradezco.

A MI DIFUNTO HERMANO

GUADALUPE, por brindarme cariño, amor y apoyo cuando era pequeño.

A MI HERMANOS

OCTAVIO, ESMERALDA, FERNANDO, BULMARO Y XANDER por enseñarme que el primer hermano debe ser la lección de los anteriores.

RESUMEN

Uno de los principales grupos de plaguicidas mayormente utilizados en México, son los organofosforados; destacando principalmente por su modo de acción, amplio espectro, efectividad en mayoría de plagas y por su aplicación en diversos sectores agrícolas, pecuarios, urbanos y de salud. Considerados inhibidores de la Acetilcolinesterasa (AChE), tóxicos al ambiente y a los seres vivos. El uso excesivo de estos insecticidas, ha perjudicado gravemente a los productores, reduciendo la exportación de frutas y verduras a Estados Unidos de América (EUA). Los estándares y normativas son cada día más exigentes con los productos cruzados a EUA, exigiendo que los límites máximos de residuos plaguicidas (LMR) no superen la residualidad (ppm) emitida por el Código Electrónico de Regulaciones Federales (E-CFR) de la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar los niveles detectables por organofosforados, utilizando una técnica colorimétrica económica, para brindar apoyo a los productores, en el monitoreo de residuos en productos hortícolas y frutales. Para ello se realizaron diversos ensayos de estandarización a diferentes concentraciones del insecticida Diazinon, así mismo de la enzima AChE. Posteriormente se probaron diversas frutas y verduras siguiendo la metodología de preparación y extracción de las muestras, para someterlas a un proceso de lectura, utilizando como herramienta un Lector de microplacas Elx 800. De la misma forma, se realizó una comparación de los datos obtenidos por el Lector y el Cromatógrafo Líquido de Alta Eficacia (HPLC) para cuantificar la cantidad de residuo albergada en las muestras analizadas. Los resultados obtenidos demuestran que la validación de dicha técnica, puede ser aplicada como método de detección de residuos, antes del envío de productos a EUA, brindando un mayor cumplimiento ante las normativas estipuladas.

Palabras clave: organofosforados, Acetilcolinesterasa, insecticidas, residualidad, monitoreo y estandarización.

ABSTRACT

One of the main groups of pesticides widely used in Mexico are the organophosphorus pesticides; they stand out mainly for their mode of action, broad spectrum, effectiveness in most pests and for their application in various agricultural, livestock, urban and health sectors. They are considered acetylcholinesterase (AChE) inhibitors, toxic to the environment and living beings. The excessive use of these insecticides has seriously harmed producers, reducing the export of fruits and vegetables to the United States of America (USA). The standards and regulations are becoming more and more demanding with the products crossed to the USA, demanding that the maximum pesticide residue limits (MRL) do not exceed the residual (ppm) issued by the Electronic Code of Federal Regulations (E-CFR) of the Environmental Protection Agency (EPA). Therefore, the objective of this research was to determine the detectable levels of organophosphates, using an economical colorimetric technique, to support growers in monitoring residues in horticultural and fruit products. For this purpose, several standardization tests were carried out at different concentrations of the insecticide Diazinon, as well as of the enzyme AChE. Subsequently, different fruits and vegetables were tested following the methodology of preparation and extraction of the samples, to submit them to a reading process, using an Elx 800 microplate reader as a tool. In the same way, a comparison of the data obtained by the reader and the High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) was carried out to quantify the amount of residue in the analyzed samples. The results obtained show that the validation of this technique can be applied as a residue detection method before the shipment of products to the USA, providing greater compliance with the stipulated regulations.

Key words: organophosphates, acetylcholinesterase, insecticides, residuality, monitoring and standardization.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis	3
Objetivos	3
Objetivos específicos	3
Justificación	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Producción de Frutas y Verduras en México	4
México un país exportador	4
Principales Cultivos Hortícolas y Frutales de Exportación	5
Límites máximos permitidos de Diazinon para cultivos de exportación	6
Métodos de detección de residuos de plaguicidas	6
Principales frutas y verduras de exportación en México	7
Arándano <i>Vaccinium myrtillus</i> L.	7
Uva <i>Vitis vinífera</i> L.	7
Tomate <i>Solanum lycopersicum</i> L.	7
Frambuesa <i>Rubus idaeus</i> L.	8
	v

Cebollín <i>Allium choenoprasum</i> L.	8
Lechuga <i>Lactuca sativa</i> L.	8
Pimiento morrón <i>Capsicum annuum</i> L.	9
Ciruela <i>Prunus domestica</i> L.	9
Actividades de Mejora para la Calidad de los Productos	9
Buenas prácticas agrícolas (BPA)	10
Tratamientos de frutas y verduras para la desinfección de residuos de plaguicidas	11
Control Químico como Método Principal para Plagas	12
Manejo de alimentos en postcosecha	13
Plaguicidas Inhibidores de la Acetilcolinesterasa	14
Enzima	14
Acetilcolina (ACh)	14
Enzima acetilcolinesterasa	15
Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa	15
Utilización en la medicina	16
Utilización en la agricultura	16
Plaguicidas inhibidores de la enzima AChE	16
Organofosforados (OF)	17
Diazinon	18
Impacto ambiental tras la utilización de organofosforados en la producción de alimentos	19
Tácticas de Cumplimiento para Puntos Críticos en el Sector Agroalimentaria	20
Inocuidad alimentaria de frutas y hortalizas	20
Aplicación de estándares y normativas de calidad en México	20

Código de reglamento Internacional de la EPA	21
Técnicas Usadas para la Detección de Plaguicidas	21
Determinación por técnica de cromatografía de Gases (CG)	21
Determinación por cromatografía líquida (CL)	22
Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)	22
Espectrometría de masas (MS)	22
Pruebas colorimétricas para detección de residuos plaguicidas	22
Técnica de placas Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)	23
Método Ellman	23
Reacción	24
MATERIALES Y MÉTODOS:	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CONCLUSIÓN	41
LITERATURA CITADA	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites máximos permitidos de Diazinon para cultivos de exportación.	6
Tabla 2. Resultados (%) inhibición de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCRCP) en verduras.....	30
Tabla 3. Resultados (%) inhibición de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCRCP) en frutas.....	32
Tabla 4. Resultados (mg/ kg) de los análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en muestras de frutas.	35
Tabla 5. Resultados (mg/ kg) de los análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en muestras de verduras.	36
Tabla 6. Comparación de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCRCP) con el Análisis Cromatográfico Líquido de Alta Resolución (CLAR) en muestras de verduras.	39
Tabla 7. Comparación de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCRCP) con el Análisis Cromatográfico Líquido de Alta Resolución (CLARC) en muestras de frutas.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estimación Porcentual de Ganancia total (millones de dólares) por exportaciones.....	5
Figura 2. Principales Plaguicidas Pertenecientes al Grupo de los Organofosforados y Carbamatos CICLOPLAFEST (1991).	17
Figura 3. Estructura Química del Diazinon	18
Figura 4. Elevación y descenso de la expresión colorimétrica conforme al aumento de la concentración de insecticida en lechuga respecto al tiempo.....	32

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), tras los años 40's y 50's los plaguicidas eran vistos como sustancias milagrosas, ya que frenaban plagas devastadoras de cultivos, por ello eran utilizados sin medida alguna (Codex, 2020). Tal es el caso que la Organización mundial de la salud (OMS) en el año 2020 menciona que el uso de plaguicidas sin presencia residual en productos alimentarios es considerado imposible, por lo que se han empleado límites máximos de residuos que estandarizan los productos inocuos a comercializar. (Ramos, 2021) actualmente los métodos convencionales para detectar residuos de plaguicidas son muy costosos y difíciles de realizar, por ello la evaluación de una técnica más económica, accesible y de fácil utilización sería la principal opción para todos los productores. (Ureta, 2021) menciona que nuevos compuestos de insecticidas salen al mercado y el desarrollo de moléculas más biomagnificantes tienden a producirse. En la actualidad existen equipos más modernos y eficaces, como el cromatógrafo de gases (CG), el cromatógrafo líquido de alta eficacia (HPLC) y el Espectrofotómetro de masas (ES), que son algunas técnicas utilizadas para analizar residuos de insecticidas (Klein, 2006). El principal precursor de la acción de detección de estos insecticidas, es la enzima acetilcolinesterasa (AChE) que se encuentra en el neurosistema de los insectos y mamíferos, es inhibida por un grupo específico de insecticidas Organofosforados (OF) y Carbamatos, que son demasiados tóxicos en la aplicación (Tejada *et al.*, 1998). Existen enzimas sintéticas que se obtienen de grupos de colinesterasas proveniente de vertebrados, conocido como colinesterasa "verdadera" su estructura molecular proviene de la anguila *Electrophorus electricus* Linneo., válida para diversidades de especies estudiadas (Sánchez y Salceda, 2008). Para el desarrollo de este procedimiento analítico, se estudió la metodología de Ellman, asimiló y posteriormente se adaptó. Ellman y otros colaboradores en 1961 utilizaron para medir actividad AChE en una diversidad de especies, empleando el ácido 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoico) (DTNB, también llamado Reactivo de Ellman) como sonda para hacer un seguimiento de la reacción catalizada por la enzima AChE,

utilizando como sustrato alternativo a la molécula de acetiltiocolina (ACh). Por lo cual se realizó diversas cuantificaciones y estandarizaciones para adaptarlo al objetivo previsto. La aplicación de una técnica capaz de determinar plaguicidas OF, depende de factores de gran importancia como; efectividad, rapidez, fiabilidad, selectividad, sensibilidad, disponibilidad con el medio ambiente y capacidad de análisis.

Hipótesis

Obtener un método de fácil aplicación, rápida, económica y sensible, mediante una técnica colorimétrica que permita determinar los residuos de plaguicidas organofosforados, en alimentos hortofrutícolas.

Objetivos

Determinar los niveles detectables de organofosforados, mediante una técnica colorimétrica, accesible, económica y de fácil aplicación para el monitoreo de residuos de plaguicidas en frutas y verduras.

Objetivos específicos

1. Estandarización de los niveles detectables de Diazinon en muestras de frutas y verduras mediante la técnica colorimétrica.
2. Evaluación de la técnica colorimétrica para el monitoreo de residuos de plaguicidas organofosforados en frutas y verduras.
3. Comparación de la técnica colorimétrica con un método cromatográfico.

Justificación

La preocupación que enfrentan los productores al no poder exportar sus productos hortofrutícolas, tiene un impacto en la comercialización a nivel nacional, debido a un requisito fundamental basado en comercio de productos libres de residuos, el elevado costo de los métodos convencionales, para el análisis de residuos plaguicidas en frutas y verduras; propicia el desarrollo de una metodología económica, accesible y de fácil aplicación para el apoyo a agricultores.

REVISIÓN DE LITERATURA

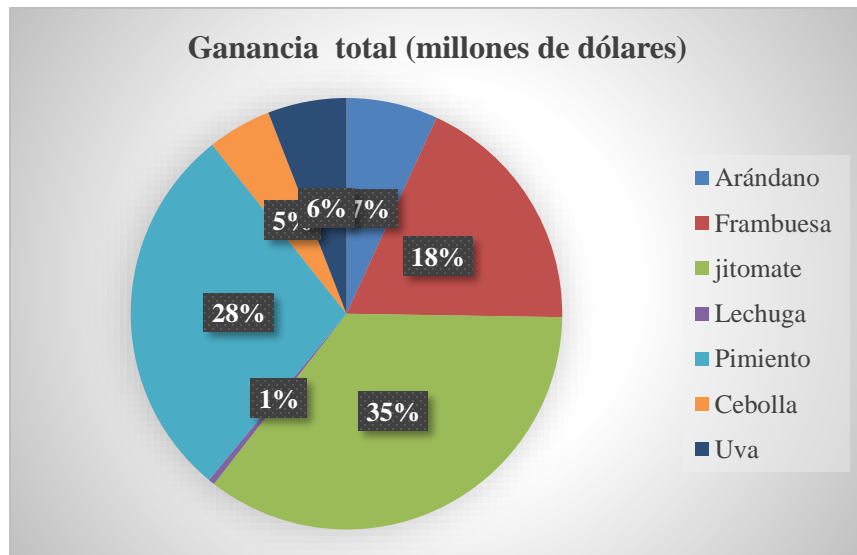
Producción de Frutas y Verduras en México

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) informó en el 2020, que México a principios del 2019 se colocó en el 7° lugar en producción agroalimentaria aportando el 2%, así mismo posee el 6° lugar con 48,800 toneladas (t) a nivel internacional como productor de arándano, el 2° productor universal de Frambuesa con 128, 000 t y el 28° en uva fruta, donde el cliente principal es Estados Unidos (SIAP, 2020). El Servicio de Administración Tributaria (SAT) en el 2020, mencionó que nuestro país fue posicionado como 9° productor mundial de Jitomate, 9° productor de Lechuga, representando el 1.8% del volumen mundial de las hortalizas, 12° productor mundial de Cebolla, en cuanto a pimienta se reporta un total de 1,407 millones de dólares (mdd) en el año 2019.

México un país exportador

Avendaño (2008) y Macías (2010) señalaron que México fue el principal proveedor de productos agropecuarios en Estados Unidos de América (EUA), ascendiendo un valor de las exportaciones mexicanas hacia ese país de 7,450 millones de dólares (md). Según el SIAP en el 2020, México es caracterizado un país exportador, aportando un valor de 23 mil millones de dólares (mmd) en el año 2019, como se muestra en la figura 1, donde el cliente principal es EUA, pero también comercializa con Japón, China, Singapur, Países Bajos, Canadá, Bélgica, Italia, Emiratos Árabes Unidos, Arabia Saudita, y muy pronto al Reino Unido.

Figura 1. Estimación Porcentual de Ganancia total (millones de dólares) por exportaciones.



Fuente: Elaboración Propia. Porcentaje de la Ganancia Total por Exportaciones de Principales Frutas y Verduras.

Principales Cultivos Hortícolas y Frutales de Exportación

Según la FAO en el 2010, los productores de frutas y hortalizas se encontraban muy interesados en una liberalización inmediata para que sus productos pudieran ser fácilmente exportados. En el año de 1980 comenzó la apertura comercial, confirmada por el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN), tras ello se empezaron a realizar cambios con la demanda del mercado, mejoraron la sustitución de cultivos que brindó como resultado un nuevo patrón de la producción (Yúnez, 2006). A principios del año 2019 y los años posteriores, se le atribuye gran importancia a las frutas y verduras con alta demanda en el mercado estadounidense y europeo (SIAP, 2021), 8 de estas se harán mención a continuación.

Límites máximos permitidos de Diazinon para cultivos de exportación

El codex alimentarius (Codex), el Código de Regulaciones Federales (CFR) perteneciente a la United States Environmental Protection Agency (EPA) en el 2021, establece los siguientes límites máximos de residuos (LMR) de Diazinon para las siguientes frutas y verduras, como se determina en la tabla 1.

Tabla 1. Límites máximos permitidos de Diazinon para cultivos de exportación.

FRUTAS Y VERDURAS	LMR PERMISIBLE POR E- CFR/ EPA. Partes por millón (ppm)	LMR PERMISIBLE POR EL CODEX ALIMENTARIUS (mg/kg)
Arándano	0.50 ppm	0.2 mg/ kg
Uva	0.75 ppm	5 mg/ kg
Tomate	0.75 ppm	0.5 mg/kg
Frambuesa	0.75 ppm	0.02 mg/kg
Cebollín	0.20 ppm	1 mg/kg
Lechuga	0.70 ppm	0.5 mg/kg
Pimiento morrón	0.5 ppm	0.5 mg/kg
Ciruela	0.20 ppm	0.2 mg/kg

*E-CFR: The Electronic Code of Federal Regulations, por sus siglas en español Código Electrónico de regulaciones Federales.

*EPA: Environmental Protection Agency, por sus siglas en español Agencia de Protección Ambiental.

*mg/kg: miligramo/kilogramo.

Métodos de detección de residuos de plaguicidas

La producción y la distribución de alimentos inocuos son palabras claves que surgen tras la preocupación de interés mundial, buscando la protección de cultivos, pero así mismo minimizar las pérdidas ocasionadas por plaguicidas (Guerrero y Herrera, 2016). Dicho uso repercute en la utilización de miles de sustancias en el mundo para el control de plagas, esto ha llevado a la adopción, desarrollo, creación de técnicas y métodos para el análisis de detección de residuos plaguicidas (Barco y Dallos, 2018).

La validación de metodologías de análisis es una herramienta objetiva que busca garantizar la efectividad de un método de análisis que genere resultados confiables bajo condiciones de trabajo disponibles en laboratorios; de otra forma busca determinar un alcance en la metodología (Ahumada, 2012).

Principales frutas y verduras de exportación en México

Arándano *Vaccinium myrtillus* L.

El país mantiene una producción de 36,700 toneladas de arándanos azules al año, en los estados de Jalisco, Michoacán y Sinaloa, según (SADER, 2018). El arándano considerado la fruta más cotizada en el mercado mundial de las berries, se establece como cultivo tecnificado en la región Norte de Jalisco (SADER, 2021).

Uva *Vitis vinífera* L.

México aporta 350 millones de toneladas de uva, dentro la república el mayor productor es el estado de Sonora, con un valor estimado a los 3 mil 800 millones de pesos. Estados Unidos, Venezuela y Costa Rica son los principales mercados de exportación de este fruto mexicano (SENASICA, 2016).

Tomate *Solanum lycopersicum* L.

FIRA (2017) afirmó que la producción y el consumo mundial de tomate rojo es una prioridad en el movimiento del mercado. (SIAP, 2020) México el principal exportador de este alimento, la producción de tomate rojo descendió a un promedio anual de 4.8% en el año 2016, sobrepasando un récord mundial de 3.3 millones de toneladas. Según datos por Latin American Pesticide Residue Workshop Food and Environment (LAPRWFE) y afirmado por Vryzas y Sans (2020), mencionaron que los plaguicidas mayormente utilizados son los Organofosforados, representando una gran parte de las aplicaciones en el crecimiento y desarrollo del tomate en campo y en invernadero, dado a las aplicaciones desmesurados de plaguicidas OF, la FAO establece ciertos

estándares de límites máximos de residuos, que son aplicados durante la exportación de esta hortaliza, para la viabilidad y el consumo humano.

Frambuesa *Rubus idaeus* L.

El cultivo de frambuesa en México se ha ampliado en los últimos años, los principales estados que se les atribuye esta producción son Jalisco, Michoacán y Baja California, el estado de México fue uno de los productores de frambuesa de invierno, en el 2010 (SIAP, 2011). Durante el año 2015 se exportó 390,583 toneladas a nivel nacional, con un valor de 1,500 millones de dólares (SIAP, 2015).

Cebollín *Allium choenoprasum* L.

El principal productor y exportador de cebollín son los estados de Baja California, durante el ciclo agrícola primavera-verano 2019, en el Valle de Mexicali se sembraron y cosecharon un total de 1,796 hectáreas (ha) dejando consigo una producción de 23,949 t de cebollín y un beneficio económico superior a los \$385 millones de pesos, en aproximación, se precisó que el 90 % del cebollín producido en el Valle de Mexicali se exportó a Estados Unidos, mientras que la producción restante se destinó para abastecer la demanda de Inglaterra y la industria restaurantera local (SADER, 2020).

Lechuga *Lactuca sativa* L.

Los principales estados con mayor producción de lechuga son Guanajuato, Zacatecas y Aguascalientes según datos del SIAP (2018) el volumen alcanzado en el 2017 en 22 entidades fue de 466,803 toneladas, 6.1% superior al 2016, para el año 2018 se mantuvo una superficie sembrada de 22.4 mil hectáreas, obteniendo una producción de 521.6 mil toneladas, con un 11.7% por arriba de lo generado en el 2017. Dado a esto, la familiaridad con los plaguicidas ha mostrado una cotidianidad con el estilo alimentario, desde hace 35 años se reporta la presencia de diazinon, clorpirifos y leptofos en lechuga (var. capita), tan sólo en México; a pesar de haberse prohibido ciertos plaguicidas todavía se siguen utilizando en algunos países, con datos anuales

de monitoreo del Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes (CNRPYC) señala el uso de Diazinon en diversos cultivos; aun conociendo el límite máximo de residuos (LMR) para la combinación plaguicida-cultivo (Pérez *et al.*, 2013).

Pimiento morrón *Capsicum annuum* L.

En México el 50% de la producción es bajo agricultura protegida; el principal productor de pimiento a cielo abierto es Sinaloa aportando anualmente 166 mil t de este producto, así mismo el país ocupa el primer lugar a nivel internacional en la exportación de pimientos (SIAP, 2018). La problemática principal que enfrentan los productores sinaloenses, es la determinación de residuos plaguicidas en el morrón, ya que el uso de plaguicidas OF suele ser rutinario en los campos agrícolas de Sinaloa, Sonora y Guanajuato, los ingredientes más utilizados en el sector hortícola son: diazinón, disystón, metilparatión, malatión, paratión y etión (Márquez, 2015).

Ciruela *Prunus domestica* L.

Los estados pioneros de ciruela que destacan, son: Chiapas, Michoacán y Jalisco, aportando una producción anual de 84 mil t; así mismo el avance no manejable de nuevos compuestos de insecticidas OF, ha conducido a la contaminación de frutos obtenidos después de postcosecha, lo que ha producido pérdidas graduales en los productores (SADER, 2014).

Actividades de Mejora para la Calidad de los Productos

La calidad de las hortalizas es fundamento importante para el mercado a exportar; el consumidor de frutas y verduras establece criterios muy importantes de selección, uno de ellos es la elección de cultivares, la madurez, la frescura, el sabor, el aspecto, y sobre todo el valor nutritivo; en el contexto agroindustrial las técnicas de producción, exigen calidad, obligando cada día una mejora general en la producción de frutos y hortalizas, con el objetivo de competir con éxito en los diferentes mercados que son

cada vez más selectivos, con exigencias de confiabilidad y mejora en los productos (González *et al.*, 2010). En los últimos años se ha percibido la pérdida de calidad en tomate, debido a la interacción por patógenos, lo que provoca el deterioro de los frutos (Mallor, 2021). El uso de la biotecnología mediante modificación de vías metabólicas involucradas en la maduración de fruto, para producción de plántulas resistentes a plagas patológicas, producen materiales transgénicos que aún no han sido aceptados por los consumidores. (Cagigas, 2018). Entramos en un punto crítico de la necesidad de romper la asociación entre producción y degradación ambiental, planificando los agroecosistemas, de tal forma que se puedan satisfacer las necesidades de las futuras generaciones, reduciendo el impacto ambiental con el uso de plaguicidas, promoviendo el uso de plaguicidas con extractos vegetales y de microorganismos (Prudente, 2021). La implementación de sistemas de asociación, junto con el mejoramiento genético por selección combinada, permite reducir las aplicaciones de plaguicidas, el mejoramiento de suelo y así mismo el aumento de la producción de fruto maduro de buena calidad, representa una alternativa que permite incrementar los ingresos económicos de los productores (Meneses *et al.*, 2009).

Buenas prácticas agrícolas (BPA)

Con la implementación adecuada de Buenas prácticas Agrícolas (BPA) es posible reducir el uso de plaguicidas, creando una estrategia de producción agrícola que garantice sostenibilidad y competitividad, que busquen producir bienes agrícolas de manera sustentable con el medio ambiente, considerando la salud de los trabajadores como de los consumidores, por lo que productores y personal de la cadena agroalimentaria deben tomar conciencia de la importancia de adoptarlas en los cultivos, con el objetivo de ampliar las oportunidades de comercialización internacional (Bernal, 2010). Reino Unido, Israel, Chile, y Brasil han empezado protocolos para la producción de frutas y verduras con estrategia segura y ambientalmente responsable, reduciendo consigo los productos químicos utilizados, la convivencia con ellos, ha obligado a realizar estimaciones de estudios con presencia en los medios de interacción que nos rodea “alimento, agua y aire” (Díaz, 2008). La evaluación del riesgo

por ingesta de residuos químicos, permite demostrar el efecto tóxico no carcinogénico (ENC), y los riesgos asociados con la exposición a residuos químicos. Los efectos negativos en la salud son a corto y largo plazo, según criterios de la OMS, la mala utilización de estos compuestos produce un millón de intoxicaciones agudas al año (Yengle *et al.*, 2008). El 25% de la carga mundial de intoxicaciones y el 23% de las muertes se les atribuyen a factores relacionados con el ambiente (Uribe *et al.*, 2012). Existen alrededor de 70,000 sustancias químicas que se venden a diario, pero de todos ellos los plaguicidas son los más importantes para el control de plagas. (Lepori *et al.*, 2013) La incorporación de nuevos paquetes biotecnológicos, junto con la aplicación de métodos de cultivos de granos genéticamente modificados causa importantes incrementos de usos de plaguicidas.

Tratamientos de frutas y verduras para la desinfección de residuos de plaguicidas

Debido a la alta producción y exportación de frutas y verduras, el aseguramiento de la calidad e inocuidad de estos, es necesario minimizar la contaminación por residuos de plaguicidas, por ello se han empleado métodos y tratamiento capaces y efectivos de reducir la cantidad de residuo en los alimentos; el agua electrolizada se obtiene por la electrolisis proveniente de una solución de cloro, su principal característica es la elevada cantidad de ácido hipocloroso, se puede usar como agente desinfectante que actúa reduciendo la concentración de plaguicidas en frutas y verduras. García y colaboradores (2016) descubrieron otro tipo de oxidante que también se puede utilizar para la descontaminación y la reducción del contenido de plaguicidas en los alimentos hortofrutícolas es el dióxido de cloro, tiene acción antimicrobiana y como alternativa el hipoclorito sódico, además es mucho más estable, menos peligroso y más selectivo a comparación del ozono y el cloro, permitiéndose usar en menos concentración y dosis sin causar efectos en las características fenotípicas y en el sabor de los alimentos (Soriano, 2020). Existen diversas soluciones de lavado como solución de cloro, agua ozonizada y ácido fuerte que han sido probadas en contra de la eliminación de residuos de plaguicidas hidrofóbicos durante la etapa de poscosecha (Ong *et al.*, 1996). Otros autores mencionan que la solubilidad en agua de los compuestos insecticidas no juega

un papel importante, con lavarlos correctamente el índice de residuo reduce significativamente (Cabras *et al.*, 1997). El motivo por el cual en los centros de salud no existen costos atribuidos a las intoxicaciones por plaguicidas es porque en los centros de salud local no diagnostican síntomas de exposición adversa a plaguicidas (Ngowi *et al.*, 2002).

Control Químico como Método Principal para Plagas

Todos los productores entran en la controversia, del momento de aparición y evolución de los problemas fitosanitarios y así llevar a cabo estrategias de un manejo efectivo, que reduzca el daño en el ambiente y que no perjudique el rendimiento y calidad del cultivo, el empleo de la toma de decisión de un tipo de control siguiendo la afectación del umbral y del nivel de daño económico (Farinós, 2021). Un buen monitoreo permite brindar un diagnóstico del nivel de infección o infestación del patógeno partiendo de los principios fundamentales ya mencionados, también se considerarán realizar las actividades de control correspondientes en tiempo y forma, para reducir la infestación del grado de la plaga, sobre todo, cuando se tienen esquemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), con esto moderar la aplicación de insecticidas para la disminución de resistencia de plagas a compuestos tóxicos en el mamíferos y plantas (Hernández *et al.*, 2019).

Martínez (2010) cita que la correcta aplicación de plaguicidas con el propósito de eliminar las plagas y enfermedades que atacan a los cultivos, logran garantizar una mayor productividad del campo y obtener mejores beneficios económicos, ya que los daños ocasionados por las plagas pueden provocar pérdidas económicas hasta un 40% de la producción total, por ello se le ha dado mucha importancia al uso de plaguicidas para protección de los cultivos, pero así mismo la incorrecta aplicación del mal manejo de estos plaguicidas para el control de plagas, ha provocado desestabilizaciones en el ambiente (Jiménez *et al.*, 2009) intoxicaciones agudas y crónicas sobre la salud humana. La Organización de las Naciones Unidas (ONU) en el

2020 asegura que la emisión de gases de efecto invernadero en el 2030, serian a consecuencia de la mala utilización de altas cantidades de plaguicidas en los cultivos.

Manejo de alimentos en postcosecha

Es necesario el manejo de poscosecha de productos de origen vegetal ya que los principios de calidad del alimento, pueden perderse sino se proporciona un adecuado manejo que involucre manipulación (Alpuche *et al.*, 2011) La creciente preocupación por parte de los consumidores de países capitalistas por la inocuidad de los alimentos, los posibles impactos ambientales en los productos exportados (Retamales y Defilippi., 2000), las pérdidas ocasionadas por organismos patológicos en frutas y verduras, durante la cosecha y almacenamiento, la aparición de cepas resistentes a fungicidas, y las exigencias de producir alimentos inocuos, generan medidas de control con sustancias no contaminantes y de rápida degradación, como la aplicación de antagonismos microbianos. (Martín *et al.*, 2007) el empleo del tratamiento mayormente utilizado para la desinfección de frutas y verduras es el baño químico, comprende la adición de ácidos orgánicos con sales de calcio, magnesio sodio, ofreciendo un mayor control de pH en el alimento, reduciendo la actividad de microorganismos y así mismo la prolongación de vida anaquel de los alimentos. (Visintin *et al.*, 2010) a pesar de la efectividad de los métodos empleados para la protección e higiene, y la desinfección de equipos e instalaciones con el objetivo de reducir la población patógena, no se cumple al 100% la inocuidad de las frutas y verduras proporcionadas al consumidor. (Castillo, 2021) el uso de la aplicación del ozono a diferentes concentraciones bajas y tiempos de contacto cortos, reduce la activación de microorganismos, potencializa la efectividad de la calidad del producto agrícola y aumenta su resistencia a factores ambientales. (Suárez y Piñeros, 2013) otra de las técnicas importantes es la irradiación ultravioleta (UV-C), utilizada para la esterilización química con el efecto específico de la reducción de microorganismos, además que induce mecanismo de defensa vegetal, el uso de la luz UV, como proceso de desinfección, no produce residuos en los alimentos y no existen restricciones legales para su utilización.

Plaguicidas Inhibidores de la Acetilcolinesterasa

El empleo de los plaguicidas debe ser considerado como principal elemento de la producción agrícola y de la producción cosechada, sin embargo la aplicación de plaguicidas de uso restringido por su daño en la salud humana y al ambiente, trae consigo la acumulación de estos residuos en alimentos, rebasando los límites máximos permisibles y produciendo intoxicaciones agudas y crónicas a los consumidores (Badii y Varela, 2015). Los plaguicidas inhibidores de la AChE se pueden clasificar en 2 grupos; organofosforados y carbamatos con características similares en su parte clínica, pero con aspectos diferentes en la forma de utilizarlos (Paz y Quinaluisa, 2021). Son sustancias muy utilizadas en el campo de la agricultura, debido a su bajo costo, baja persistencia en el ambiente y su alta efectividad (Solis, 2021). Los carbamatos, son agentes inhibidores de la enzima AChE, lo cual actúa provocando la acumulación de acetilcolina, siendo el principal mecanismo de toxicidad crónica de los insecticidas, produciendo disturbios en la función reproductiva masculina, daños sobre el material genético que a lo largo ocasiona un deterioro en la función de los espermatozoides (Mármol *et al.*, 2003)

Enzima

Las enzimas son conjuntos de polímeros de aminoácidos, que se componen de una estructura tridimensional definida, su actividad principal recae en la interacción con el sustrato, por mucho tiempo hemos tenido contacto con ellas, pero hasta hace un siglo que los científicos descubrieron que eran proteínas, que nuestro propio cuerpo produce diariamente; pero así mismo cumplen con un papel importante dentro de las células, se encargan de la degradación de azúcares, de sintetizar grasas y aminoácidos, copian la información genética, y por último degradan subproductos tóxicos (Ramírez y Ayala, 2014).

Acetilcolina (ACh)

El concepto neurotransmisor fue postulado por Langley y Dale, La Acetilcolina (ACh) participa en la regulación de diversas funciones como fenómenos de activación

cortical, el paso de sueño a vigilia y procesos de memoria y asociación, La ACh se sintetiza a partir de la colina y del acetil CoA, en una reacción catalizada por la colina acetiltransferasa (CAT), existen mecanismos que regulan de manera precisa su síntesis y liberación, así mismo la ACh tiene receptores que están distribuidos en diferentes áreas del Sistema Nervioso Central (SNC) y en el Sistema Nervioso Periferico (SNP), en donde cada uno de ellos presenta un patrón de expresión temporal y espacial particular, los cuales pueden sobreponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la acetilcolina (Flores y Segura-Torres, 2005)

Enzima acetilcolinesterasa

Galindo y otros colaboradores en el 2019 enfatizaron, que pertenecen al grupo de las hidrolasas, presente en la mayoría de los seres vivos primordialmente vertebrados, incluyendo a los seres humanos, también invertebrados como los insectos. La enzima acetilcolinesterasa, conocida como enzima polifuncional, es la que culmina con el efecto neurotransmisor de la acetilcolina y junto con la butirilcolinesterasa (BChE) pertenece al grupo de enzimas denominadas colinesterasas (ChEs), codificadas por genes diferentes (Sánchez y Salceda, 2008); su estructura molecular de la AChE se estableció por el órgano eléctrico de la anguila *Electrophorus electricus* L., siendo válida para todos los tejidos y especies estudiados. (Fishel, 2012) cita que la AChE en el cuerpo inactiva el químico mensajero acetilcolina, cuando existe alta inhibición los niveles de colinesterasa bajan, lo que perjudica su funcionamiento del sistema nervioso.

Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa

Hodgson y Robert en el 2001 señalaron que el proceso de la inhibición de la AChE provoca la acumulación de la ACh durante la unión sináptica y la interrupción de la transmisión normal de los impulsos nerviosos, lo que causa en ciertas ocasiones muerte por envenenamiento con organofosforados, asociada en general con la asfixia y el fallo respiratorio. (Gibson y Sket, 2001) suscribieron que el mecanismo de toxicidad de los OF produce la inhibición de la AChE.

Utilización en la medicina

El objeto principal de la utilización de estas enzimas, es como bioindicador (Fishel, 2012). Se han utilizado ensayos para medir la actividad de la enzima AChE dentro del área de la medicina en muestras biológicas con importancia en los estudios fisiológicos, en el diseño de drogas, analgésicos y medicamentos para patologías fisiológicas, neurodegenerativas como el caso del Alzheimer (Pohanka, 2011) se han creado métodos que son utilizados como bioindicador de contaminación con residuos de plaguicidas en mamíferos (Tecles y Cerón, 2003). Se realizó un estudio para determinar la influencia de la exposición ocupacional a organofosforados sobre el daño oxidativo y actividad de AChE en los trabajadores agrícolas, mediante la evaluación de la actividad AChE lipoperoxidación y capacidad antioxidante total en plasma, además se evaluaron diferentes concentraciones de colesterol, triglicéridos, glucosa (Ortega *et al.*, 2016).

Utilización en la agricultura

El estudio de los inhibidores de la enzima AChE es importante desde el testeo de nuevos ingredientes con actividad plaguicida, la gran mayoría de los principios activos en los plaguicidas actuales se basan en la inhibición de esta enzima (Defrieri *et al.*, 2005). Lo que causa el envenenamiento colinérgico y muerte del insecto (Roberts y Reigart, 2013). Más sin embargo tras la interacción de nuevos compuestos con efectos carcinogénicos en los seres vivos y la utilización de estos en la agricultura, se han desarrollado diferentes métodos de reacción *in vitro* para disminuir la presencia de insecticidas OF, carbamatos, metales pesados y detergentes (Pohanka, 2011).

Plaguicidas inhibidores de la enzima AChE

En el uso de plaguicidas es importante resaltar el elevado porcentaje de aplicación de insecticidas categoría I (extremadamente tóxicos) y II (altamente tóxicos), entre estos destacan los grupos químicos organofosforados y carbamatos, por la característica de amplio espectro que se le confiere (Cárdenas *et al.*, 2005); los ingredientes activos se muestran en la figura 2. Algunos de los insecticidas altamente peligrosos autorizados y utilizados en México, tenemos al paratión metílico con 166 registros, uno de los

primeros insecticidas que entraron al mercado internacional después de la Segunda Guerra Mundial, posteriormente tenemos al clorpirifos etil con 165 registros, autorizado para uso agrícola, doméstico, pecuario, urbano e industrial, considerado como perturbador endocrino, por lo que entra en la lista de Red de Acción de Plaguicidas (Nava *et al.*, 2019). La agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos ha descartado su uso en la agricultura, y la propia empresa creadora de este compuesto ha denegado su uso en la jardinería (Watts, 2013).

Figura 2. Principales Plaguicidas Pertenecientes al Grupo de los Organofosforados y Carbamatos CICLOPLAFEST (1991).

ORGANOFOSFORADOS (OF)

Azinfos metílico, carbofenotión, coumafos, clorfenvinfos, clorpirifos, diazinon, dicrotofos, dimetoato, dioxiatión disulfotón, edifenfos, epn, ethion, etoprofos, fenitrotión, fentión, fonofos, fosalone, fosfamidon, fosmet, foxim, isofenfos, malatión, metamidofos, metidatión, mevinfos, monocrotofos, naled, ometoato, oxidemetón metil, paratión etílico, paratión metílico, pirimifos metil, profenofos, sulprofos, temefos, triazofos, tiributil tritidato de fósforo y triclorfon.

CARBAMATOS (C)

Mancozeb, maneb, zineb, molinate, pebulato, vernolato, eptc, tiobencarbo, butilato, aldicarb, carbofuran y metomilo, bendiocarb, carbarilo, pirimicarb, propoxur, tiodicarb.

Fuente: Elaboración propia.

Organofosforados (OF)

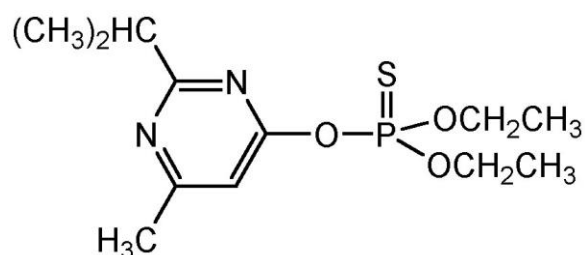
Los organofosforados son compuestos polares y apolares, algunos son liposoluble, de modo que pueden penetrar con mayor facilidad en la piel, causando toxicidad retardada, en ciertos casos son volátiles, facilitando absorción inhalatoria durante las aspersiones en campo, son estables químicamente, sufren reacciones químicas como hidrólisis y oxidación a la exposición de luz ultravioleta (CICLOPLAFEST, 1991). La mayoría son insecticidas, solo una menor proporción son acaricidas, su forma de acción contra los insectos y los ácaros es por contacto y por ingestión; existen algunos sistémicos y algunos otros tienen acción fumigante. Francis y Betancourt en el 2007

dictaron que los OF son compuestos de ésteres de fosforo combinados variablemente con el oxígeno, carbono, azufre y nitrógeno, su principal acción es de forma neurotóxica, causando una gran toxicidad en los vertebrados, con composición químicamente inestable, algunos ingredientes no son tan persistentes como los organoclorados (OC). Rasile en el 2013 experimentó que en los mamíferos actúan inhibiendo la función de ciertas enzimas en el sistema nervioso central, produciendo la alteración anormal de los impulsos nerviosos, la inhalación repetida o el contacto con la piel aumenta la susceptibilidad a la intoxicación, los signos y síntomas durante la exposición aparecen en un lapso de 12 horas después de la última exposición, dependiendo de la dosis y vía de absorción.

Diazinon

Un plaguicida mayormente usado en la agricultura es el Diazinón O, Odietyl O-(6-metil-2-{1-metiletil}-4-pirimidinilfosforotioato, C₁₂H₂₁N₂O₃PS (figura. 3), Gysin lo describió en 1952 pero fue registrado hasta 1956 como controlador de insectos plagas para cultivos hortofrutícolas, cereales y leguminosas, pero también como uso efectivo en la industria urbana (Calixto *et al.*, 2018).

Figura 3. Estructura Química del Diazinon



Fuente: Rey *et al.* (2018).

Clasificado como moderadamente toxico, dentro de la categoría III y IV, por su tiempo de degradación (CICLOPLAFEST, 1991) en condiciones de baja humedad, menor temperatura, exceso de alcalinidad y falta de degradadores biológicos adecuados, puede permanecer biológicamente activo hasta por seis o diez semanas (Al-Otaibi *et*

al., 2018). El diazinon (Ayşegül y Aydin, 2020) tiene una amplia variedad de usos por lo tanto ejerce toxicidad sobre humanos, invertebrados, plantas y mamíferos. Ponce y colaboradores en el 2006 mencionan que pertenece al grupo de los ésteres sencillos del ácido fosfórico, con respecto a su intervalo de toxicidad para la Dosis Letal DL_{50} se mantiene en 108-250 mg/ kg⁻¹ de rata.

Impacto ambiental tras la utilización de organofosforados en la producción de alimentos

La mayoría de los organoclorados fueron reemplazados por organofosforados y carbamatos, durante la década de 1970 y 1980 por su alto efecto de muerte, resultaron ser devastadores para muchas poblaciones de aves migratorias, tras la ingesta de semillas o granos tratados con estos insecticidas (White y Kolbe 1985). Durante este periodo, el uso de gránulos de carbofurán en los campos de maíz en América del Norte, tuvo un efecto devastador en especies de aves de granja, en consecuencia, los beneficios que ha aportado en la productividad son negativos sobre la salud humana (Leyva *et al.*, 2017); entre los efectos ocasionados por la utilización de estos compuestos recaen casos de malformaciones hereditarias (Castillo *et al.*, 2017). Algunos autores mencionaron que la contaminación masiva de estos compuestos en el aire puede ser sintetizada de esta manera: contaminación de recursos abióticos, el desequilibrio de las poblaciones, la pérdida de biodiversidad, la contaminación de cadenas tróficas, la bioacumulación y la biomagnificación de residuos en alimentos (Pozo *et al.*, 2017). Arellano y colaboradores (2016) realizaron monitoreos en diez cuerpos de agua en Sinaloa, reportando cantidades elevadas de diazinon, disulfotón, y metil paratión, mevinfos y clorpirifos en el Río El Fuerte. De León (2013) señaló que los efectos contaminantes de los residuos organofosforados forman compuestos de sinergismos xenobioticos en diferentes etapas del cultivo, amplificando su persistencia en el suelo.

Tácticas de Cumplimiento para Puntos Críticos en el Sector Agroalimentaria

Inocuidad alimentaria de frutas y hortalizas

La inocuidad alimentaria se puede simplificar como el desarrollo y aplicación de medidas que reducen puntos específicos de riesgos provenientes de adversidades biológicas, químicos y físicos, por ejemplo; aditivos alimenticios, residuos de plaguicidas que ostentan contra la vida del consumidor (Roberts y Orden, 1999). La Agencia para la Administración de Drogas y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) tiene como propósito realizar una estimación del incremento en los costos para la implementación de la FSMA en productos alimentarios (Segerson, 2013). Las frutas y verduras cumplen un importante punto en el total de exportaciones agroalimentarias mexicanas, a medida que las empresas crecen y se desarrollan, surgen mayores estándares a cumplir, el hecho de implementar y certificar sus productos mediante programas de inocuidad alimentaria, con el objetivo de cumplir los procedimientos de reducción de riesgos de contaminación y brotes epidemiológicos favorecen las ventas en el mercado (SENASICA, 2014). La inocuidad alimentaria cobra mayor vigencia, cuando el ámbito nacional dispone de alimentos de buena calidad sanitaria causando un reclamo y un aumento en la demanda con países exportadores, en la actualidad, la comercialización de alimentos con altos estándares, se está convirtiendo en una clave del éxito dentro del comercio internacional, mientras sigan cumpliendo con las regulaciones y normas establecidas, existirá cierta garantización para que los alimentos provenientes de otras fronteras sean tan seguros como los nacionales (Avendaño *et.al.*, 2006).

Aplicación de estándares y normativas de calidad en México

La normativa GlobalG.A.P., busca reforzar los sistemas nacionales de sanidad agropecuaria e inocuidad de los alimentos, considerada una de las normas en el mercado agroalimentario, que garantiza a los consumidores la calidad del producto que está comprando (Bogotá, 2014) es un programa con referencia global dedicado a las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), se trata de una normativa que señala los

requisitos de inocuidad para la aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP), sus principios se basan en los procedimientos de higiene y la reducción de riesgos por contaminación de peligros químicos, físicos y biológicos; durante todo el proceso productivo hasta la cosecha (TUV, 2015). El motivo de realizar la certificación por GlobalG.A.P., es para verificar el proceso de BPA durante toda la cadena de producción del cultivo (Céspedes *et al.*, 2017).

Código de reglamento Internacional de la EPA

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos de América, creada el 2 de diciembre de 1970, con el objetivo de consolidar una agencia centralizada en diferentes actividades federales y su relación al ambiente, para lidiar con problemas que perjudiquen a su nación, como son los lugares contaminados, y los efectos adversos en la flora y fauna causado por el uso desmesurado de plaguicidas (EPA, 2021) dicho programa establece tolerancias, donde estipula cierta cantidad máxima de plaguicida permisible en un alimento, estas tolerancias son denominadas límites máximos de residuos (LMR). La edición anual del Código de Regulaciones Federales (CFR) es el procesamiento de reglas generales y permanentes en donde se establecen datos de tolerancias por residuos de insecticidas para todos los tipos de cultivos permitidos por el EPA.

Técnicas Usadas para la Detección de Plaguicidas

Determinación por técnica de cromatografía de Gases (CG)

Barquero en el 2006 explica que esta técnica se basa principalmente en la separación de las mezclas compuestas con excelente volatilidad y con cierto grado de sensibilidad, ocasionando que los componentes de la muestra formen una separación en bandas, de las cuales se pueden identificar cuantitativamente. Fernández y Mañes (2003) lo consideraron una técnica con un elevado poder de resolución capaz de separar un gran número de compuestos manteniendo una sensibilidad eficaz para cuantificar niveles de mg/kg ya que se combina con detectores específicos para los organofosforados.

Determinación por cromatografía líquida (CL)

El cromatógrafo líquido (CL) separa los compuestos en función de su polaridad, permitiendo determinar cualquier plaguicida organofosforado independientemente de su volatilidad o termoestabilidad, es considerado una técnica universal pero poco selectivo a su vez (Yamazaki y Ninomiya, 1999).

Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

Pitarch en el 2001 señaló que el HPLC, en la actualidad es una técnica utilizada para detección y cuantificación de residuos plaguicidas, aplicados en diferentes áreas tanto agrícolas, ambientales, o dentro del campo de la toxicología humana. Quenguan y Eraso (2015) desarrollaron un método de extracción en fase sólida y análisis de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril en agua para consumo humano, utilizando un Cromatógrafo Líquida de Alta Eficacia y un detector de longitud de onda variable.

Espectrometría de masas (MS)

Plascencia en el 2003 suscribe que la espectrometría de masas, es considerado una técnica microanalítica, que identifica compuestos desconocidos y determina compuestos conocidos para especificar las propiedades químicas de la molécula. Monto (2012) menciona que es utilizado conjuntamente con una técnica cromatográfica de separación, para la detección y cuantificación de residuos organofosforados.

Pruebas colorimétricas para detección de residuos plaguicidas

Diezma y Correa en el 2018 construyeron sensores colorimétricos de alta eficacia y sencillos basados en el desvanecimiento de permanganato de potasio (KMnO_4) por ácido sulfúrico para la detección de plaguicidas, tiene una alta dimensionalidad y muestra una capacidad de reconocer tipos de plaguicidas de interferentes potenciales. Guo y colaboradores en el 2013 crearon una tarjeta de detección visual, sensible para la detección rápida de residuos, basada en los cambios de intensidad del color azul verdoso, como resultado de la hidrólisis del acetato de indoxilo catalizada por la AChE

y su inhibición. Xie y colaboradores (2021) desarrollaron un dispositivo colorimétrico, basado en un chip mezclador de microfluidos, capaz de detectar organofosforados de forma rápida. Fu y colaboradores en el 2013 realizaron una metodología de detección colorimétrica, de alta sensibilidad de plaguicidas OF, utilizando química de clic catalizada con Cobre (Cu), con esto se demostró que la integración de la química, produce una sensibilidad colorimétrica eficaz para la detección de OF.

Técnica de placas Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

Pitarch en el 2001 implementó métodos rápidos, económicos y accesibles, como son las técnicas de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, esto nos permite realizar análisis de residuos de plaguicidas a niveles bajos de concentración, con el objetivo de conocer la cantidad de residuo albergante en alimentos durante las aplicaciones y de esta manera incorporar alternativas que permitan brindar buenos resultados en el campo. Curillo en el 2015 realizó experimentos basándose en temas de residualidad en frutas andinas (tomate de árbol y naranjilla), por la metodología ELISA, analizó diferentes plaguicidas organofosforados, entre de ellos: Carbofuran, Aldicarb y 2, 4D. Herrera en el 2008 suscribió que existen trabajos de experimentación, determinación y cuantificación de diferentes plaguicidas, algunos son aplicados en muestras ambientales, alimentos y mamíferos; así mismo se han creado kits comerciales en el mercado, que utilizan esta técnica para detectar la residualidad en muestras vegetales.

Método Ellman

Benítez y colaboradores en el 2015 indicaron la existencia de pruebas realizadas para la detección de residuos en alimentos y medio ambiente, basados en la prueba de Ellman, la cual presenta mayores ventajas por su sensibilidad, reproducibilidad y de fácil utilización adaptándose a distintos sustratos. (Camean, 1995) el desarrollo del método Ellman surgió a partir del mecanismo de acción de los plaguicidas inhibidores de la AChE que causa la acumulación del neurotransmisor acetilcolina en la sinapsis colinérgica, resultando problemas y repercusiones con efectos neurotóxicos (muscarínicos, nicotínicos y neurológicos).

Reacción

El empleo de esta metodología para el desarrollo de la prueba de inhibición enzimática, en donde el insecticida se analiza *in vitro* al reaccionar directamente con la acetilcolinesterasa (Ellman *et al.*, 1961; Otten, 2012) produciendo una inhibición irreversible de la actividad AChE por el diazinon. La AChE hidroliza rápidamente la acetilticolina (ATCh) a tiocolina, en contraste con el ácido ditiobis-nitrobenzoico (DTNB) para producir un color amarillo (ácido 5-tio-2 nitrobenzoico desprotonado, TNB); por lo tanto, el insecticida inhibe parcial o completamente la AChE, produciendo una disminución de color conforme al avance de la reacción, sirviendo como medida de expresión para la cantidad de residuo de plaguicida (Meng *et al.*, 2015).

MATERIALES Y MÉTODOS:

Conforme a la revisión descrita anteriormente, se muestra el desarrollo de la experimentación, realizada en base a los criterios metodológicos previstos y guiada por la efectividad de los ensayos de diferentes autores.

Las pruebas experimentales fueron llevadas a cabo en el laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, durante el periodo julio del año 2020 a febrero de 2021.

Recolección de la muestra

Se visitó varios centros comerciales de Saltillo, Coahuila., para la selección de frutas y verduras que se utilizaron en el desarrollo del experimento.

Preparación de los reactivos

Utilizando frascos ámbar de 100 ml, se preparó agua inyectable y etanol (C_2H_5OH) al 10%. 12 concentraciones de insecticida i.a. Diazinon al 25% como tratamientos, más un testigo. Con el apoyo de una micropipeta se agregó cierta cantidad de i.a. Diazinon a cada uno de los tratamientos. Posteriormente se agitó por 3 minutos.

Buffer fosfato (K_2PO_4)

Se preparó un Buffer K_2PO_4 en 600 ml de agua inyectable con 0.51 g de fosfato de potasio monobásico y 1.966 g de fosfato de potasio dibásico, ambos se prepararon dentro de un frasco ámbar.

Enzima acetilcolinesterasa (AChE)

La enzima acetilcolinesterasa de *Electrophorus electricus* L. se obtuvo de la empresa Sigma y se mantuvo a -20°C hasta su utilización. Para la preparación de esta solución se disolvió en un buffer Tris-HCl 20 mM, pH 7.5 a 1 mg/ml, produciendo una solución transparente. A partir de esto se prepararon 2.08 ml de la enzima AChE (alícuota) a una concentración de $0.5\ \mu\text{M}$ en 15 ml de buffer fosfato (K_2PO_4),

Colorante: Ácido 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoico) (DTNB)

Se preparó una solución de 1 mM; se pesó 0.0198 g del colorante DTNB y se agregó en 50 ml del Buffer fosfato (K_2PO_4). Al término de la preparación del reactivo, se envolvió en papel aluminio ya que es un reactivo fotosensible y puede degradarse rápidamente si está mucho tiempo expuesto a la luz, se etiquetó y se dejó en refrigeración por dos días, para lograr que se disolviera adecuadamente el colorante en el buffer.

Sustrato: Yoduro de acetiltiocolina (ATChI)

Se preparó una solución de 90:10 ml (Buffer K_2PO_4 / acetona) para formar una solución de 100 ml. Se agregaron 0.014458 g al buffer acetona para obtener una concentración de 0.5mM. Se envolvió en papel aluminio se etiquetó y se refrigeró.

Preparación de las muestras

Se siguió la metodología multiresidual citada por (Quintero *et al.*, 2013) con algunas modificaciones para procesar las frutas y verduras.

- a. Se realizó un lavado de las muestras con agua destilada y se esterilizó el área de trabajo. Sobre papel aluminio a una distancia de 10 cm se asperjó con el insecticida, cubriendo bien toda la corteza de la verdura/ fruta. El mismo

procedimiento se realizó para cada una de las 12 concentraciones (tratamientos) del insecticida a excepción del testigo “500ppm, 700ppm, 1000ppm, 1500 ppm, 2000ppm, 5000ppm, 10000ppm, 15000ppm, 20000ppm, 30000ppm, 40000ppm y 50000ppm”. Se reposó por 3 minutos para la absorción del insecticida a través de la membrana de la verdura y fruta.

- b. Posteriormente con el apoyo de un bisturí se cortó y pesó 10 g de la muestra cubierta por Diazinon, el procedimiento se aplicó para los 12 tratamientos. En 13 tubos de centrifuga etiquetados por tratamientos (conc.) de 50 ml, se colocó 10 gramos de la muestra por cada tratamiento, así como el testigo que no fue asperjado. Con palillos de madera, se maceró c/u dentro de los tubos.
- c. Se agregó para cada uno de los 12 tratamientos más el testigo, el disolvente etanol (C_2H_5OH) al 10% con un reposo de 10 minutos; por consiguiente, se agitó cada tubo por un minuto, hasta homogeneizar la muestra.
- d. Se centrifugó a 4500 revoluciones por minuto (rpm) en una centrifuga eléctrica durante 15 minutos.
- e. Se colocaron 13 vasos de plásticos de 500 ml, junto a un embudo cubierto con papel filtro. Posteriormente se observa la separación del extracto y la muestra. Con una micropipeta se extrajo cada extracto y se depositó en cada vaso por tratamiento correspondiente, hasta culminar con los 12 tratamientos y el testigo.
- f. Al término de la filtración del extracto, se depositó en tubos falcón con capacidad de 15 ml.
- g. Se ordenaron 13 cajas petri para los tratamientos y testigo y 3 cajas para las formulaciones de reactivos (AChE, ATChI, DTNB). Se etiquetó cada caja con nombre del tratamiento, testigo y reactivo.
- h. Con una micropipeta se tomaron 10 ml del filtrado (muestra) por cada tubo (tratamiento y testigo) y se depositó en cada una de las cajas petri correspondientes.

Procedimiento de la prueba

Se añadió 12 tratamientos más 1 testigo por cada concentración dentro de la placa de 96 pocillos. Se incorporó 75µl de la solución preparada con la AChE (0.5 µM) utilizando una micropipeta multicanal, dentro de las cuatro repeticiones (A, B, C y D) para cada tratamiento. Al termino se cubrió con un trozo de papel aluminio para evitar la degradación de la enzima. Con una micropipeta multicanal se agregó 75µl por cada uno de los tratamientos; de la misma forma para el testigo. Se anexó 75µl del sustrato ATChI (0.5 mM), por c/u de los tratamientos. Y al final se añadieron 75µl del colorante DTNB (1 Mm) por cada tratamiento.

Lectura y seguimiento de datos

Al terminar el procedimiento, se colocó la placa sobre el receptor del equipo para la toma de lectura; La actividad del ensayo colorimétrico se midió utilizando un lector de microplaca ELx800™ de Biotek, que registra la absorbancia a 405 nm por cada pocillo a una velocidad de una lectura por minuto y temperatura fija de 28°C. El tiempo de lectura (min) para medir el efecto de reacción fue estimado de forma ascendente. De cada ensayo se obtuvieron aproximadamente 52 mediciones de absorbancia a distintos tiempos (ti) por cada muestra analizada.

T0	T90
T30	T120
T150	

Se efectuaron 12 concentraciones, más sin embargo para la comparación se ocuparon 5 concentraciones representativas; 500ppm, 1500ppm, 5000ppm, 20000 ppm y 50000 ppm, para ser procesados posteriormente en el Cromatógrafo Liquido de Alta Resolución (CLAR).

Análisis estadístico

Se realizó una regresión lineal con el programa RStudio Versión 1.2.5033 © 2009-2019 RStudio. Inc. En base a la técnica del Instituto de Investigación Agrícola de Taiwán (TARI) propuesto por (Tejada *et al.*,1998) se determinó el grado de inhibición, basándose en la reducción de la absorbancia mediante la comparación de una muestra en la reacción normal de AChE.

$$\%inhibición = \frac{A \text{ cambio (blanco)} \pm A \text{ cambio (muestra)}}{A \text{ cambio (blanco)}}$$

Donde:

A es la pendiente de la recta. En cuanto mayor sea el grado de inhibición mayor será el contenido de residuos. Este indicador es elegible para el empleo de niveles potencialmente peligrosos de residuos de plaguicidas en las muestras examinadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se puede observar en la tabla 2 los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición de la prueba colorimétrica en verduras, en donde se contempla que el 75% de las muestras presentaron una inhibición positiva (+). Aunque solo el morrón mostró resultados admisibles en orden a las primeras 4 concentraciones.

Tabla 2. Resultados (%) inhibición de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCR) en verduras.

	Tomate	Cebollín	Lechuga	Morrón
Concentraciones utilizadas (mg/kg)				
500	-2.067	1.43	0.21	0.12
1500	-2.59	1.07	0.07	0.14
5000	-1.77	1.11	0.04	0.17
20000	-1.51	2.13	0.04	0.19
50000	2.50	1.35	0.60	0.16

Fuente: Elaboración propia.

En base a los resultados de la tabla 3 donde se indica el grado de inhibición de la prueba colorimétrica en frutas, se señala que el 100% de las muestras demostraron una inhibición positiva (+). Sin embargo, sólo los berries presentaron resultados de inhibición ascendentes, en relación a las primeras 4 concentraciones. (Zhu *et al.*, 2014) plantearon el desarrollo de una tableta de enzima desechable para una rápida detección colorimétrica de plaguicidas en frutas y verduras, basándose en la inhibición de la actividad acetilcolinesterasa por organofosforados, y el principio de la hidrólisis catalizada por la AChE del sustrato, la oxidación rápida del indol en el aire a simple

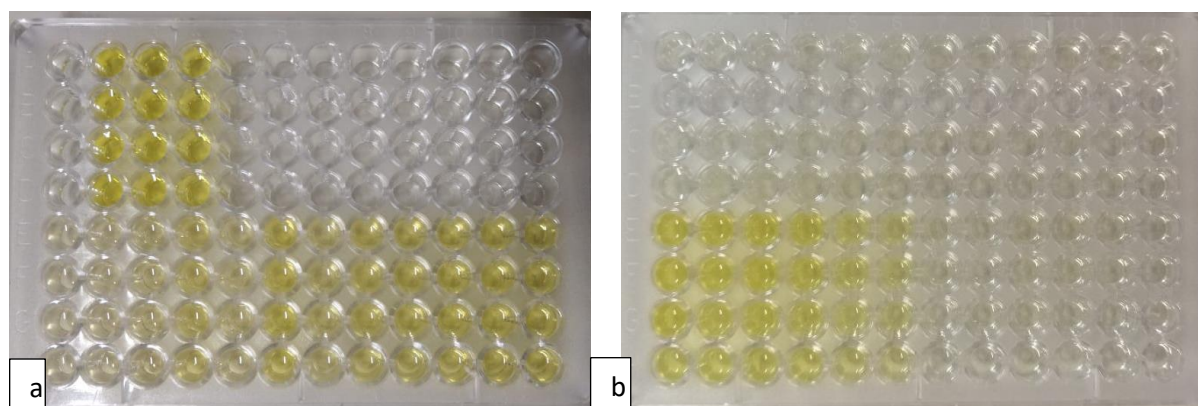
vista se basó sobre una membrana de Hybond N+, tornando a azul verdoso. De acuerdo a lo fundamentado por dichos autores, la hidrólisis enzimática de ATCh es el paso que determina la velocidad, y la actividad de la AChE inhibiéndose significativamente por la presencia de Diazinon. Tras la iniciación de la reacción se observó la expresión de las diferencias en las velocidades de reacciones, se reflejaron en los valores de absorbancia variados a los 30 min, con respecto a la concentración del insecticida en las soluciones de prueba. Se comprueba que la velocidad de reacción inicial se atenúa respecto al rango de concentración de dicho insecticida. A parte de los espectros de absorción, también se percibió los cambios de color de la reacción con diferentes cantidades de Diazinon presentes; la longitud de onda de absorción (405 nm), la solución tiene un color amarillo brillante que disminuye al aumentar la concentración de Diazinon. Esto concuerda con (Meng *et al.*, 2015) tras el aumento de la concentración de insecticida; la coloración de la reacción disminuye conforme al tiempo, sin embargo; el % de inhibición aumenta de manera unitaria como se aprecia en la figura 4 (b). Es notable citar que el rubro de las concentraciones es heterogéneo con la totalidad de las muestras; por encima de 50,000 ppm el % inhibitorio decrece, este criterio sólo se cumple con la distribución de las muestras de frutas, sin embargo, para verduras sólo se formaliza para tomate y morrón. El criterio de error de la elevación del % de inhibición se debe a factores no previstos en laboratorio; como es la degradación rápida de la enzima antes de la lectura, efectos de temperatura en el ambiente, entre otros agentes repecurtores no controlables durante la prueba. (Han y Wang, 2019) Probó la combinación de la solución 3,3', 5,5'-tetrametilbencidina (TMB)+ peróxido de hidrógeno (H₂O₂) con el sustrato Acetilcolina (ATChI), produciendo un cambio de color incoloro a azul, lo que comprobó por primera vez que el ATChI posee la capacidad de actividad similar que la peroxidasa, produciendo un cambio de color repentino. Respecto a lo desarrollado por dicho autor, la detección visual mediante placas coincide significativamente acorde a la celeridad del tiempo; el color de la solución aumentó consecutivamente, lo que se concuerda con (Tejada *et al.*, 1998) tras la disminución de las absorbancias, existe una elevación de la inhibición, lo que produce una suma en la intensidad de coloración, como se observa en figura 4 (a).

Tabla 3. Resultados (%) inhibición de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCRCP) en frutas.

	Arándano	Uva	Frambuesa	Ciruela
Concentraciones utilizadas (mg/kg)				
500	0.49	0.67	0.56	0.60
1500	0.66	0.74	0.57	0.72
5000	0.73	0.52	0.57	0.80
20000	0.83	0.66	0.62	0.66
50000	0.63	0.18	0.59	0.87

Fuente: Elaboración propia

Figura 4. Elevación y descenso de la expresión colorimétrica conforme al aumento de la concentración de insecticida en lechuga respecto al tiempo.



Fuente: Figura 4a. Reacción de izquierda a derecha; presencia de la elevación de color conforme a las 12 concentraciones del insecticida durante el tiempo 0 min. **Figura 4b.** Reacción de izquierda a derecha; presencia del descenso de color durante el tiempo 150 min.

Como se observan los resultados en la tabla 4 y 5 pertenecen a las cantidades obtenidas en ppm (mg/kg) por el CLAR. Estas no presentaron cantidades por encima de los LMR establecidos, por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). No obstante, la frambuesa mostró mayor porción de residuo insecticida para cada una de las cinco concentraciones. (Heshmati *et al.*, 2020) ejecutó el comportamiento de los riesgos de residuos insecticidas en diversas berries; donde se destacó el Diazinon como un riesgo para la salud humana. En comparación a los resultados avalados por el CLAR en verduras, produjeron una menor concentración correspondiente a las frutas, sin embargo, el tomate resaltó con una superior densidad de residuo Diazinon. (Sivaperumal *et al.*, 2015) utilizaron un método multiresiduos, basado en la preparación de muestras mediante cartuchos de extracción en fase sólida y la detección por cromatografía líquida de ultra alta resolución (CLAR), para el análisis de 60 plaguicidas en muestras de frutas y verduras, por medio de un método límite de cuantificación, determinó que la mayoría de los compuestos no excedían los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por la Unión Europea. Respecto a lo mencionado por dichos autores, esto coincide con los resultados avalados por el CLAR; tras el procesamiento de las muestras con la metodología de extracción en fase líquida y su posterior análisis, se obtuvo que ninguna de las muestras, excedía por encima del límite permisible de residuos en frutas y verduras. Por otro lado, (Motilva *et al.*, 2013) concluyeron que el análisis cromatógrafo líquido de alta resolución adaptado a la espectrometría de masas (MS), han ampliado el panorama de la mejora de métodos analíticos a partir de muestras complejas, ingredientes, alimentos y muestras biológicas. Asimismo, ha dado origen a un instrumento eficaz para analizar contenidos precisos, a una velocidad considerada, sensible y selectiva. No obstante, esto ha sido un principal problema para los productores, debido al elevado costo de los estudios exigidos por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) para el comercio nacional e internacional de sus productos. Herrera y colaboradores (2015) mencionaron que la obtención de resultados satisfactorios, se basa en realizar experimentos para la medición de la actividad AChE por el método Ellman adaptado para ensayos en microplacas de 96 pocillos, junto con la validación de un método estadístico innovador para el análisis de este nuevo tipo de datos. En

base a este principio planteado se prosiguió con la metodología concordada. (Zhang *et al.*, 2011) validaron un método de identificación de 209 residuos en 24 productos usando la técnica (CLAR), así mismo basándose en los mismos principios de un procedimiento rápido, fácil, económico, eficaz, resistente y seguro. De la misma forma (Guo *et al.*, 1997) realizaron un sistema de detección de matriz, para la caracterización general de frutas y verduras, mediante un criterio confiable y sensible de un procedimiento CLAR. Esto confirma por los resultados alcanzados durante este experimento, y así mismo se encaja positivamente con lo comentado por dichos autores; el principio de esta herramienta acoplada a los análisis cromatógrafos, ha brindado resultados aconcederos. Se logró interpretar que las frutas manifestaron mayor cantidad (mg/kg) de residuos Diazinon y a pesar de ello no rebasaron los límites máximos permisibles. Concordando en dicha forma con (Islam *et al.*, 2009) los residuos de plaguicidas por encima de los límites de tolerancia en el cultivo y en el momento de la cosecha son motivo de gran preocupación, debido a la agravada pulverización inoportuna y antieconómica de plaguicidas, afectando su inocuidad en el mercado.

Tabla 4. Resultados (mg/ kg) de los análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en muestras de frutas.

	Arándano	Uva	Frambuesa	Ciruela
Concentraciones utilizadas (mg/kg)				
500	0.02	0.02	0.05	0.09
1500	0.05	0.03	0.18	0.07
5000	0.1	0.04	0.16	0.15
20000	0.12	0.06	0.18	0.17
50000	0.09	0.1	0.3	0.11
LMR (mg/kg)	0.5	0.75	0.75	0.2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Resultados (mg/ kg) de los análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en muestras de verduras.

	Tomate	Cebollín	Lechuga	Morrón
Concentraciones utilizadas (mg/ kg)				
500	0.02	0.05	0.03	0.17
1500	0.028	0.08	0.05	0.19
5000	0.1	0.02	0.06	0.15
20000	0.09	0.03	0.07	0.08
50000	0.15	0.06	0.07	0.05
LMR (mg(kg))	0.75	0.75	0.7	0.5

Fuente: Elaboración propia.

En comparación con lo descrito por (Rodríguez *et al.*,2010) tras el aumento de la actividad enzimática con el incremento de la concentración del sustrato Acetilcolina (ATChI) coincide con lo mencionado por (Ellman *et al.*, 1961). Entre mayor sea el grado de inhibición, mayor será el contenido de residuos en las muestras analizadas. Los datos presentados en la tabla 6 y 7 donde se puede comparar el crecimiento del % de inhibición con la concentración (mg/kg) de Diazinon en cada muestra, se dedujo que sólo el 25% de verduras son capaces de adaptarse a este criterio, en cuanto a frutas solo el 50% se ajustó a esta posición. Así mismo se establece que las muestras que rebasen el 43% de inhibición a causa del contenido de residuos Diazinon se encuentran sobre los límites máximos de residuos (LMR) plaguicidas. Por ende, dicho autor recomienda que las muestras <20% (+) de inhibición pueden comercializarse libremente en los mercados nacionales, más las que se sitúen entre 20 y 50% de inhibición podrán negociarse después del lavado, más sin embargo las que rebasen el 50% se retendrán y se establecerán criterios de intervalos de seguridad (IS) hasta el punto en donde los niveles tolerables se estabilicen. Los datos pertenecientes al % de inhibición de las cinco concentraciones de frutas y verduras, son tolerables, es decir no superan más del 20% de lo establecido. Así pues, se obtuvo que el 100% de las

muestras de frutas y verduras se situaron por debajo del umbral de inhibición, considerándose factible para la comercialización libre en los mercados nacionales. Basándose en un criterio porcentual se dispone que de 20 a 40% (*) se mantiene inhibida, de 40 a 60% (**) es altamente inhibida y >60% (***) es extremadamente inhibida. (Twomey, 2002) hacen referencia que los bioensayos de inhibición de enzimas, son herramientas de detección en campo, con esto es posible determinar la presencia de compuestos organofosforados, facilitando a los productores información de importancia para el futuro muestreo de sus productos. Mientras tanto (Carrillo y Jiménez, 2020) nombraron que estos resultados pueden utilizarse como indicadores de presencia de residuos y con esto emplear medidas integrales para disminuir el riesgo en la salud de los consumidores. Tras la comprobación y corroboración por el método cromatógrafo líquido de las muestras estudiadas, se consiguió que el paralelismo de los resultados avalados por el (CLAR) en mg/kg, de cada muestra analizada y procesada, no rebasaran los LMR establecidos por la Agencia de Protección ambiental (EPA). En consecuencia, se puede inferir que, de los ejemplares recolectadas en los centros comerciales, cuentan con principios de inocuidad para el consumidor. (Majdinasab *et al.*, 2021) la utilización de plaguicidas ha aumentado en las últimas décadas debido al crecimiento exponencial de la población, el uso constante de ingredientes químicos ha producido la contaminación de productos agrícolas. Por otra parte (Donkor *et al.*, 2016) enunciaron que la ausencia de programas de monitoreo efectivos para la aplicación correcta de plaguicidas conduce a la contaminación de frutas y verduras. Por ello, cabe insistir que el buen manejo de Agroquímicos (BUMA) dentro de los estándares permisibles es esencial para generar alimentos inocuos en la población. (Bajwa y Sandhu, 2014) atribuyen que el lavado con agua, la utilización de químicos como el dióxido de cloro, el ácido acético, así mismo como el recorte de frutas y los tratamientos térmicos han sido muy eficaces para la reducción de niveles de plaguicidas. No obstante, el proceso de lavado que se sometieron las muestras redujo cierta porción del residuo, a pesar de la aspersion individual del insecticida hacia las muestras, no expresó mayor presencia de inhibición durante la lectura. Posteriormente tras la evaluación y el desarrollo de la técnica colorimétrica; se valida como un método factible y económico (Ouyang *et al.*, 2018;

Jiménez, 2009) a comparación del Análisis CLAR. De la misma forma se considera algunas desventajas de la técnica; los resultados cuantitativos no son tan precisos como los del CLAR, presentados en mg/kg (ppm), el tiempo para la metodología y la obtención de los resultados puede demorar mayormente que los resultados por el Cromatógrafo Líquido. Por último, esta técnica solo se puede emplear para la detección de Organofosforados, a diferencia de un equipo sofisticado que puede llegar a detectar cientos de insecticidas en distintas muestras en un tiempo determinado (Hernández *et al.*, 2013). Por otro lado, se puede emplear dicha técnica como primera opción antes del envío de la muestra a un laboratorio especializado de estudios de plaguicidas. Las comparaciones de los resultados obtenidos por la técnica colorimétrica fueron positivas en relación a los resultados avalados por el CLAR. De esta manera ningunas de las muestras superó el rango de inhibición establecido, por lo equivalente, ninguno de los resultados sobrepasó los LMR establecidos por la EPA. Con esto se asume que dichos alimentos siguen un protocolo de inocuidad alimentaria para el beneficio de los consumidores. El 100% de las muestras analizadas se encontraban por debajo del 20% de inhibición. No obstante, se hace referencia que el número de aplicaciones de insecticidas en hortalizas y frutales varía de 30 a 40 por ciclo (Reinholds y Bartkevics, 2016), lo que aumenta la cantidad de contaminación por estos productos químicos. Muchos de los alimentos comercializados en mercados y centros comerciales, no cuentan con un seguimiento de intervalos de seguridad (IS), en mayoría son alimentos recién tratados con insecticidas. Por ello, es clave considerar que la ingesta de alimentos contaminados con residuos OF (Stachniuk y Fornal, 2016) representa una vía de intoxicación hacia el público en general, (Juraske *et al.*, 2009) en Suiza tras la ingestión de alimentos se ingiere 0.41 g por cada 1kg de plaguicida aplicado durante el ciclo del cultivo, mientras que en Estados Unidos asciende a 0.51 g. considerando que tras las fracciones consecutivas de ingestas, estas tiende a acumularse en nuestro organismo, ocasionando daños de toxicidad, problemas congénitos, intoxicaciones severas trascendentes, y la muerte precoz de los consumidores.

Tabla 6. Comparación de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCR) con el Análisis Cromatográfico Líquido de Alta Resolución (CLAR) en muestras de verduras.

Muestra	Conc. Aplicada (mg/kg)	PCR (%inhibición)	° Inhibición	CLAR(Conc.mg/kg)	LMR
Tomate	500	-2.06	()	0.02	0.75
	1500	-2.59	()	0.028	
	5000	-1.77	()	0.1	
	20000	-1.51	()	0.09	
	50000	2.50	(+)	0.15	
Cebollín	500	1.43	(+)	0.05	0.75
	1500	1.07	(+)	0.08	
	5000	1.11	(+)	0.02	
	20000	2.13	(+)	0.03	
	50000	1.35	(+)	0.06	
Lechuga	500	0.21	(+)	0.03	0.7
	1500	0.07	(+)	0.05	
	5000	0.04	(+)	0.06	
	20000	0.04	(+)	0.07	
	50000	0.60	(+)	0.07	
Morrón	500	0.12	(+)	0.17	0.5
	1500	0.14	(+)	0.19	
	5000	0.17	(+)	0.15	
	20000	0.19	(+)	0.08	
	50000	0.16	(+)	0.05	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7. Comparación de la Prueba colorimétrica de Residuos de Plaguicidas (PCR) con el Análisis Cromatográfico Líquido de Alta Resolución (CLARC) en muestras de frutas.

Muestra	Conc. Aplicada (mg/kg)	PCR (%inhibición)	° Inhibición	CLAR(Conc.mg/kg)	LMR
Arándano	500	0.49	(+)	0.02	0.5
	1500	0.66	(+)	0.05	
	5000	0.73	(+)	0.1	
	20000	0.83	(+)	0.12	
	50000	0.63	(+)	0.09	
Uva	500	0.67	(+)	0.02	0.75
	1500	0.74	(+)	0.03	
	5000	0.52	(+)	0.04	
	20000	0.66	(+)	0.06	
	50000	0.18	(+)	0.1	
Frambuesa	500	0.56	(+)	0.05	0.75
	1500	0.57	(+)	0.18	
	5000	0.57	(+)	0.16	
	20000	0.62	(+)	0.18	
	50000	0.59	(+)	0.3	
Ciruela	500	0.60	(+)	0.09	0.2
	1500	0.72	(+)	0.07	
	5000	0.80	(+)	0.15	
	20000	0.66	(+)	0.17	
	50000	0.87	(+)	0.11	

Fuente: Elaboración propia.

(+) inhibida (++) = altamente ; (+++) = extremadamente inhibida

CONCLUSIÓN

El desarrollo de una metodología colorimétrica, demostró que puede ser una alternativa de fácil aplicación, puesto que, en comparación con un cromatógrafo de alta resolución, sensible y de elevado costo, mostraron positivamente la presencia del compuesto, de tal forma que la técnica es aplicable para la detección de residuos plaguicidas en muestras de frutas y verduras. Es considerable no descartar la idea, de seguir experimentando con otros ingredientes activos, pertenecientes al grupo de los organofosforados, basándose en la misma técnica rápida ya empleada; con el propósito de apoyar a los productores en el monitoreo de plaguicidas. No obstante, se recomienda ratificar los datos obtenidos mediante un método exacto, para la decisión de datos cuantitativos.

LITERATURA CITADA

- Ahumada, D. A.; Rodríguez, D.; Zamudio, A. M y A. 2012. Comparación de diferentes aproximaciones para estimar límites de detección en análisis de residuos de plaguicidas en alimentos. *Revista Colombiana de Química*. 41(2): 227-242 pp.
- Alpuche, N. L.; Rivera, R, R.; Rodríguez, H. F. J. 2011. Manejo postcosecha de los productos alimenticios de origen vegetal en los mercados públicos de Mérida, Yucatán México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12(1): 1-7 pp.
- Al-Otaibi, A. M.; Al-Balawi, H. F. A.; Ahmad, Z.; y Suliman, E. M. 2018. Toxicity bioassay and sub-lethal effects of diazinon on blood profile and histology of liver, gills and kidney of catfish. *Clarias gariepinus*. *Brazilian Journal of Biology*. 79: 326-336 pp.
- Ayşegül, P.; y Aydin, R. 2020. El efecto agudo del malatión sobre la actividad de la acetilcolinesterasa en *Gammarus pulex* (anfípoda de agua dulce). *Acta Aquatica Turcica*. 16 (2): 202-208 pp.
- Arellano, A. O.; Ponce de León, H. C.; Rendón, J. v. O. 2016. La huella de los plaguicidas en México. Greenpeace. www.greenpeace.org.mx [consulta: 12 febrero 2020].
- Avendaño, R. B. D. 2008. Globalización y competitividad en el sector hortofrutícola: México, el gran perdedor. *El Cotidiano*. 91-98 pp.
- Avendaño, R. S.; Rindermann R. L.; Morones S. 2006. El impacto de la iniciativa de inocuidad alimentaria de Estados Unidos en las exportaciones de hortalizas frescas del noroeste de México. *Región y sociedad*. 18(36). 07-36 pp.
- Badii, M.; y Varela, S. 2015. Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *Cultura Científica y Tecnológica*. 28 p.
- Bajwa, U.; y Sandhu, K, S. 2014. Efecto de la manipulación y el procesamiento sobre los residuos de plaguicidas en los alimentos: una revisión. *Revista de ciencia y tecnología de los alimentos*. 51 (2). 201-220 pp.

- Barco, I. M. H.; y Dallos, J. A. G. 2018. Método cualitativo rápido (screening) para la detección de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas. *Revista Colombiana de Química*. 47(1). 16-26 pp.
- Barquero, Q. M. 2006. Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases. Editorial Universidad de Costa Rica. 56 p.
- Bernal, G. 2010. Las buenas prácticas agrícolas (BPA) desde la perspectiva de la microbiología de suelos. In XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Santo Domingo. 23-29 pp.
- Benítez, D.; Miranda, C. P.; Molina, M. L.; Sánchez, Gil. Y.; Balza, Q. B. A. 2015. Residuos de plaguicidas en la cáscara e interior de la papa (*Solanum tuberosum* L.) proveniente de una región agrícola del estado Mérida, Venezuela. *Bioagro*. 27(1): 27-36 pp.
- Bogotá, R. R. 2014. Global GAP. V Congreso Nacional hortifrutícola. Global Good Agricultural Practices. 21-24 pp.
- Cabras, P.; Angioni, G. V. L.; Melis, M. F.; Pirisi, M.; Pirisi, G. A. 1997. Persistence and metabolism of folpet in grapes and wine. *J. Agric. Food Chem*. 45(2). 476-479 pp.
- Cagigas, J. M. 2018. El cultivo de lechuga en La Plata: posibilidades de implementación de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en establecimientos del Cinturón Hortícola. Platense (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata). Chile. 34-23 pp.
- Calixto, C. G.; Godínez, M. E. M.; Reducindo, M. M.; Ochoa, M. I. H.; Vega, M. B. Q. 2018. El glufosinato de amonio altera la calidad y el ADN de los espermatozoides de ratón. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 34: 7-15 pp.
- Camean, A. 1995. Toxicología avanzada. Ediciones Díaz de Santos. 636 p.
- Cárdenas, O.; Silva, E.; Morales, L.; Ortiz, J. 2005. Estudio epidemiológico de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en siete departamentos colombianos, 1998-2001. *Biomédica*. 25(2). 170-180 pp.

- Carrillo, B. M. J.; y Jiménez, G. A. C. 2020. Evaluación ambiental por el uso y manejo de productos agroquímicos (Bachelor's thesis, Corporación Universidad de la Costa). 23-35 pp.
- Castillo, C. J.; Montenegro, M. L. P.; López, A. J. A. 2017. El uso de plaguicidas altamente peligrosos en la floricultura en el Estado de México y el efecto sinérgico de las mezclas. Los plaguicidas altamente peligrosos en México. RAPAM, CIAD, UCCS, INIFAP, IPEN, PNUD. Ciudad de México, México: Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México A. C. 247-262 pp.
- Castillo, P. G. R. 2021. Exposición microbiológica en las aguas con deficiente tratamiento ambiental, higiene de las manos y sus probabilidades sobre episodios de diarrea en el distrito de Subtanjalla. Ecuador. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 32 p.
- Céspedes, L. M. G.; Reyes, X. M. G.; Albavi, L. K. G.; Krivoshein, J. H. C.; y Diaz, P. R. R. R. 2017. Buenas prácticas de manufactura en comedores del mercado central de abasto de Asunción, Paraguay. Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. 15(1): 23 p.
- CICLOPLAFEST. 1991. Catálogo oficial de plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. Semarnat. México D.F. 8-31 pp.
- Codex. 2020. Base de datos en línea del Codex. Codex Alimentarius, Normas internacionales de los Alimentos. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/commodities/es/> [consulta: 14 febrero 2020].
- Codex. 2021. LMR de plaguicidas. Codex alimentarius. Residuos de plaguicidas en los alimentos y piensos. www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/ [consulta: 29 febrero 2020].
- Curillo, D. S. G. 2015. Análisis de residuos de plaguicidas químicos en alimentos de consumo humano con la metodología de laboratorio ELISA trabajo de investigación. Bachelor's thesis. Quito. USFQ. 33 p.

- De León, J. 2013. Memorias del Tercer Simposio sobre Plaguicidas. Paperpresented at the Congreso RAPAM. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla. 23 p.
- Defrieri, R. L.; Jiménez M. P.; Efron, D.; y Palma, M.; 2005. Utilización de parámetros químicos y microbiológicos como criterios de madurez durante el proceso de compostaje. *AgriScientia*. 22 (1): 25-31 pp.
- Díaz, A. 2008. Buenas Prácticas Agrícolas. Guía para Pequeños y Medianos Agroempresarios. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura. IICA. Tegucigalpa, Honduras.12(2):32-38 pp.
- Diezma, B.; y Correa, E. C. 2018. Biosensores y sistemas ópticos y de visión avanzados: su aplicación en la evaluación de la calidad de productos IV gama. *Agrociencia Uruguay*. 22(1): 13-25 pp.
- Donkor, A.; Osei-Fosu, P.; Dubey, B.; Kingsford A, R.; Ziwu, C.; Asante, I. 2016. Residuos de plaguicidas en frutas y verduras en Ghana. *Investigación en ciencias ambientales y contaminación*. 23 (19). 18966-18987 pp.
- Ellman G.L.; Courtney K.D.; Valentino, A.; Featherstone, R. M.; 1961. "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity". *Biochemical Pharmacology*. 7: 88- 95 pp.
- EPA. 2021. Código electrónico de regulaciones federales. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. EUA. <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/> [consulta: 27 febrero 2021]
- EPA. 2021. Regulación de residuos de plaguicidas en los alimentos. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. EUA. <https://www.epa.gov/pesticide-tolerances> [consulta: 19 marzo 2021]
- FAO. 2010. LMR de plaguicidas. Codex alimentarius. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/> [consulta: 03 marzo 2021]
- Farinós, G. P. 2021. El uso de la biotecnología en el control de plagas. Los cultivos resistentes a insectos en la Unión Europea. *Toxinas*. 13(11): 780 p.

- Fernández, M. P.; y Mañes, J. 2003. Comparison of gas and liquid chromatography coupled to mass spectrometry for the residue analysis of pesticide in oranges. *Chromatographia* 54:302-308 pp.
- FIRA. 2017. Panorama agroalimentario. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. México. 5p.
- Fishel, F. M. 2012. Pesticidas y Colinesterasa. *EDIS*. 2012(11): 233 p. <https://edis.ifas.ufl.edu/pi242> [consulta: 17 marzo 2021]
- Flores S., M. E., y Segura-Torres, J. E. 2005. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev Mex Neuroci.* 6(4): 315-326 pp.
- Francis, P.; y Betancourt, P. 2007. Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla en la depresión de Quíbor. Venezuela. *Bioagro.* 19(2): 69-78 pp.
- Fu, G.; Chen, W.; Yue, X.; Jiang, X. 2013. Highly sensitive colorimetric detection of organophosphate pesticides using copper catalyzed click chemistry. *Talanta.* 103: 110-115 pp.
- Galindo, G. M.; Loyola E. F.; Robles, M. G.; Fortis, H. Á.; M, Figueroa. V.; Vázquez, C. V. 2019. Acetilcolinesterasa de *Eisenia foetida* como indicador de contaminación por plaguicidas organofosforados. *Revista internacional de contaminación ambiental.* 35(1): 115-124 pp.
- García, P.; Almudí, L. O.; Crespo, R. 2016. Eficacia del agua electrolizada y del dióxido de cloro para la eliminación de residuos de fungicidas y la higienización de frutas de hueso. *FVUZ. Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza.* 12(8): 24 p.
- Gibson, G. G; Sket, P. 2001. Introduction to Drug METABOLISM. Blackie Academic & Professional. 3ª edición. 7(2): 12 p.

- González, V.; Pinzón, M. I.; Londoño, A. 2010. Residuos de Plaguicidas organoclorados. Organofosforados y análisis fisicoquímicos en piña (*Ananas comosus* L.). *Agro Sur*. 38 (3):199-211 pp.
- Guerrero, M.; y Herrera, J. 2016. Desarrollo, validación y estimación de incertidumbre de un método cromatográfico para determinar residuos de plaguicidas organofosforados y cipermetrina en tomate. *Revista Científica Agua y Conocimiento*. 2(1): 19-33 pp.
- Guo, C.; Cao, G.; Sofic, E.; Prior, R. L. 1997. Cromatografía líquida de alto rendimiento junto con detección de matriz coulombimétrica de componentes electroactivos en frutas y verduras: relación con la capacidad de absorción de radicales de oxígeno. *Revista de química agrícola y alimentaria*. 45 (5): 1787-1796 pp.
- Guo, X.; Zhang, X.; Cai, Q.; Shen, T.; Zhu, S. 2013. Developing a novel sensitive visual screening card for rapid detection of pesticide residues in food. *Food Control*. 30(1): 15-23 pp.
- Han, T.; y Wang, G. 2019. Actividad similar a la peroxidasa de la detección colorimétrica basada en acetilcolina de la actividad de la acetilcolinesterasa y un inhibidor organofosforado. *Revista de química de materiales B*. 7 (16): 2613-2618 pp.
- Herrera, J. M.; Zunino, M. P.; Dambolena, J. S.; Pizzolitto, R. P.; Gañan, N.A., Lucini E.I. y Zygadlo, J. A. 2015. Terpene ketones as natural insecticides against *Sitophilus zeamais*. *Industrial Crops and Products*. 70: 435–442 pp.
- Herrera, P. C. 2008. Niveles de plaguicidas organoclorados (DDT y DDE) en niños de comunidades endémicas de paludismo en Chiapas, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 4(3): 349-356 pp.
- Hernández, T. A.; Estrada, D. B.; Rodríguez, H. R.; García, G. J. M.; Osorio, H. E. 2019. Importancia del control biológico de plagas en maíz (*Zea mays* L.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 10(4): 803-813 pp.
- Hernández, Q. M.; Hernández, S. J.; Rojo, C. F.; Robles, M. C.; Vanegas, P. C.; Ponce de León, Hill. C. 2013. Extracción asistida por microondas y limpieza en fase sólida como

método de análisis para la determinación de plaguicidas organofosforados en *Ambystoma mexicanum*. Revista internacional de contaminación ambiental. 29(2): 189-200 pp.

Heshmati, A.; Nili-Ahmadabadi, A.; Rahimi, A.; Vahidinia, A.; Taheri, M.; 2020. Comportamiento de disipación y evaluación de riesgos de residuos de fungicidas e insecticidas en uva en condiciones de campo abierto. Almacenamiento y lavado. Revista de producción más limpia. 270:122-287 pp.

Hodgson, E.; Robert, S. 2001. Introduction to biochemical toxicology. Appleton & Lange. 3ª edición. <http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/9GLOBAL%20GAP.pdf> [consulta: 21 marzo 2021]

Islam, S.; Hossain, M. S.; Nahar, N.; Mosihuzzaman, M.; Mamun, M. I. R. 2009. Application of high performance liquid chromatography to the analysis of pesticide residues in eggplants. Journal of Applied Sciences. 9(5): 973-977 pp.

Jiménez, M. E; Díaz C. S.; y Valle, G. 2009. Métodos de control de plagas. UNA. Managua, Nicaragua. Universidad Nacional Agraria. 25 p.

Jiménez, C. 2009. Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. Vitae. 16(1): 144-154 pp.

Juraske, R.; Mutel, C. L.; Stoessel, F.; Hellweg, S. 2009. Evaluación de la toxicidad humana del ciclo de vida de los plaguicidas: comparación de dietas de frutas y verduras en Suiza y los Estados Unidos. Chemosphere. 77(7): 939-945 pp.

Klein, C. 2006. Chiral and Enantiomeric separation of metolachlor and its metabolites using LC=MS and CZE. Chemosphere. 62(10): 1591-1599 pp.

Lepori, E. C. V.; Mitre, G. B.; Nassetta, M. 2013. Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 29: 25-43 pp.

Leyva, M. J. B.; Martínez, R. I. E.; Bastidas, B. P. J.; Betancourt, L. M. 2017. Plaguicidas altamente peligrosos utilizados en el valle de Culiacán, Sinaloa. In G. F. Bejarano (Ed.).

Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México A. C. Ciudad de México, México. 197-207 pp.

Macías, M.; A. 2010. Competitividad de México en el mercado de frutas y hortalizas de estados unidos de América. 1989-2009. *Agroalimentaria*. 16(31): 31-48 pp. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316

Mallor, G. C. 2021. Conservación y uso sostenible de los recursos fitogenéticos hortícolas para favorecer el consumo local y la producción de alimentos de calidad. *Idesia (Arica)*. 36(4): 99-107 pp.

Majdinasab, M.; Daneshi, M.; Marty, J. L. 2021. Desarrollos recientes en (bio) sensores no enzimáticos para la detección de residuos de plaguicidas: centrándose en anticuerpos, aptámeros y polímeros con imprenta molecular. *Moléculas. Talanta*. 26 (3). 122-397 pp.

Mármol, M.; Fernández, L.; D, Pool. J.; Sánchez, B. J. 2003. Perfil seminal en trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa. *Investigación clínica*, 44(2): 105-117 pp.

Márquez, L. 2015. An economic evaluation of the health and environmental benefits of the IPM program. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Tesis doctoral. Philippines. 150 pp.

Martín, O.; Soliva, R.; Oms, O. G. 2007. Avances en la mejora de la calidad comercial de los frutos frescos cortados: aspectos físico-químicos y microbiológicos. *Investigación y tecnología alimentarias europeas*. 225 (3): 301-311 pp.

Martínez, N. 2010. Manejo integrado de plagas: Una solución a la contaminación ambiental. *Comunidad y Salud*. 8(1): 073-082 pp.

Meneses, M. I.; V. Verduzco, C.; Castellanos, S. J. 2009. Cambios en la calidad de fruto maduro de una población sintética de calabaza (*Cucurbita pepo* L.). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 15(3): 269-274 pp.

- Meng, X.; Clayton, W. S.; Caile, C.; Xiaochun, L.; Hua, Zhong. 2015. Cuantificación colorimétrica *in situ* basada en chips de plaguicidas organofosforados utilizando un escáner de oficina. Revista internacional de incertidumbre, confusión y sistemas basados en el conocimiento. 215: 577-583 pp.
- Motilva, M.; J. Serra, A.; Macià, A. 2013. Análisis de polifenoles alimentarios mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas: una descripción general. Journal of Chromatography A. 1292: 66-82 pp.
- Nava, P. C. C.; Montenegro, M. M. M.; Quintanar, A. I. V.; Rosas, C. O.; Zamorano, H. G.; Cota, P. G.; y Coronado, M. D. 2019. Determinación de plaguicidas organoclorados en hortalizas del sur de Sonora: calidad y seguridad de los alimentos en relación a los límites máximos permitidos. Biotecnia. 21(2): 19-27 pp.
- Ngowi, A. V.; Maeda, D. N.; Partanen, T. J. 2002. Knowledge. Attitudes and practices (KAP) among agricultural extension workers concerning the reduction of the adverse impact of pesticides in agricultural areas in Tanzania. Med. Lav. 93: 338-346 pp.
- OMS. 2020. Residuos de plaguicidas en los alimentos. Organización Mundial de la Salud. [consulta: 12 junio 2021]<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>
- Ong, K. C.; Cash, J. N.; Zabik, M. J.; Siddig, A. L.; Jones, M. 1996. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processes apple sauce. Food Chem. 55(2): 153-160 pp.
- Ortega, F. E. G.; Gracia, C.; Delgadillo, G. D.; Intriago, M. P.; Lares, B. E. F.; Escorza, Q. 2016. Asociación de la exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados con el daño oxidativo y actividad de acetilcolinesterasa. Rev Toxicol. 33(1): 39-43 pp.
- Otten, E. J. 2012. Emergencias toxicológicas de Goldfrank. Revista de medicina de emergencia. 42 (2): 239-240 pp.
- Ouyang, H.; Tu, X.; Fu, Z.; Wang, W.; Fu, S.; Zhu, C. 2018. Ensayo inmunocromatográfico de lectura dual colorimétrico y quimioluminiscente para la detección de residuos de

plaguicidas utilizando nanocompuestos g-C₃N₄ / BiFeO₃. Biosensores y bioelectrónica. 106: 43-49 pp.

Paz, N. I.; Quinaluisa, S., A. M. 2021. Prevalencia de intoxicación por plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en niños de 1 a 10 años de edad atendidos en el hospital Dr. Francisco De Icaza Bustamante, 2019. Universidad Católica de Santiago Guayakil. Tesis. 35-45 pp.

Pérez, A.; Navarro, H.; Miranda, E. 2013. Residuos de plaguicidas en hortalizas: Problemática y riesgo en México. Colegio de Postgraduados, Postgrado en Estudios del Desarrollo Rural-Agroecología. COLPOS-EDRA. Texcoco, Montecillo, Edo. De México. 49-59 pp.

Pitarch, A. M. E. 2001. Desarrollo de metodología analítica para la determinación de plaguicidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas. Universitat Jaume I. Tesis Doctoral. Corporación Universitaria Minuto de Dios. 12-34 pp.

Plascencia, G. 2003. Espectrometría de masas. Instituto de Biotecnología. UNAM. Cuernavaca, Tamaulipas. Universidad Nacional Autónoma de México. Revista Nature. 595 (7868): 600-605 pp.

Pohanka, M. 2011. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky. Olomouc. Czechoslovakia., 155 (3): Pp 219-230.

Ponce, G.; Cantú, P. C.; Flores, A.; Badii, M.; Zapata, R.; López, B.; y Fernández, I. 2006. Modo de acción de los insecticidas. Revista salud pública y nutrición, 7(4): 13 p.

Pozo, K.; Martellini, T.; Corsolini, S.; Harner, T.; Estellano, V.; Kukučka, P.; Cincinelli, A. 2017. Persistent organic pollutants (POPs) in the atmosphere of 91 coastal areas of the Ross Sea, Antarctica: Indications for long-term downward trends. Chemosphere. 178(1): 458-465 pp.

- Prudente, G. C. L. 2021. Determinación del estado sanitario, calidad del suelo y manejo de la virosis de la sandía (*Citrullus lanatus*) en Colonche, Santa Elena. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena. Tesis. 23 p.
- Quenguan, F.; Eraso, E. 2015. Determinación de plaguicidas organofosforados y carbamatos en agua para consumo humano del departamento de Nariño mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-VWD). Revista Universitaria. 12(2): 34 p.
- Quintero, A.; Caselles, J.; Ettiene, G.; Colmenares, N. G.; Pallares, J.; Venezuela, B. 2013. Método multiresidual simplificado para la determinación de residuos de plaguicidas organofosforados en vegetales. Revista de la Facultad de Agronomía. Revista Universitaria. 8 (11): 23 pp.
- Ramírez, R. J.; Ayala. A. M. 2014. Enzimas: ¿qué son y cómo funcionan? Rdu revista digital universitaria. 15(12): 3 p.
- Ramos, P, A., N. 2021. Presencia de residuos de organofosforados y carbamatos en vegetales orientales, La Vega, República Dominicana: Presencia de residuos de organofosforados y carbamatos en vegetales orientales. APF. 10(1): 69-80 pp.
- Rasile, M. A. 2013. Toxicidad de los metales. Toxicología general y aplicada. 12(2): 249.
- Reinholds, I. P, I.; Bartkevics, V. 2016. Un cribado fiable de micotoxinas y residuos de plaguicidas en pimentón utilizando cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas Orbitrap de alta resolución. Control de alimentos, 60: 683-689 pp.
- Retamales, J.; Defilippi, B. 2000. Manejo de postcosecha. Coleccion Libros INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 12(3): 23 p.
- Rey, J. F.; Otalvaro, Á. M.; Chaparro, M. P.; Prieto, L.; y López, A. 2018. Residuos de plaguicidas organofosforados en la cadena productiva del brócoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) y coliflor (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) en Colombia: aproximación a un perfil de riesgo. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.12(1): 156-165 pp.

- Roberts, J. R.; Reigart, J. R. 2013. Recognition and management of pesticide poisonings. Environmental Protection Agency (EPA). United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs. Sixth Edition. 12 p.
- Roberts, J.; Orden, D. 1999. A Framework for Analyzing Technical Trade Barriers in Agricultural Markets. Washington: United States Department of Agriculture. 33p.
- Rodríguez, G., R.; Pratta, G. R.; Zorzoli, R.; Picardi, L. A. 2010. Factores genéticos que afectan la calidad del fruto del tomate. Euphytica. 217 (1): 1-14.
- SADER. 2021. El cultivo de arándano llega a la región Norte de Jalisco. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Gobierno del estado de Jalisco. [consulta: 10 septiembre 2021]
- SADER. 2020. Reporta la Secretaría de Agricultura la siembra de 2,223 hectáreas de cebollín. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/bajacalifornia/articulos/> [consulta: 03 marzo 2021]
- SADER. 2018. Cultivo del arándano en México, reto superado. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/cultivo-del-arandano-en-mexico-reto-superado> [consulta: 03 mayo 2021]
- SADER. 2014. Ciruela. Secretaría y Desarrollo Rural. <https://sader.jalisco.gob.mx/catalogo-plantas/ciruela> [consulta: 06 Marzo 2021]
- Sánchez, C. G.; Salceda, R. 2008. Enzimas Polifuncionales: El caso de la acetilcolinesterasa. Revista de Educación Bioquímica. 27(2): 44-51 pp.
- SAT. 2020. Estadística de Producción Agrícola. Servicio de Administración Tributaria. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbierto> [consulta: 06 Marzo 2021].
- Segerson, K. 2013. When is reliance on voluntary approaches in agricultura likely to be effective? Applied Economic Perspectives and Policy. 35 (4): 565–592 pp.

- SENASICA. 2016. México es productor de vino. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. <https://www.gob.mx/senasica/articulos/uva-fruto-de-generoso-sabor> [consulta: 06 Marzo 2021].
- SENASICA. 2014. Buen Uso y Manejo de Agroquímicos. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Alimentaria www.fps.org.mx/.../5.%20Buen%20Uso%20y%20M [consulta: 21 marzo 2021].
- SIAP. 2021. Índice de Volumen Físico del sector agropecuario SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> [consulta: 12 agosto 2021].
- SIAP. 2020. Panorama Agroalimentario 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Edición 2020. Ciudad de México. México. 5-170 pp.
- SIAP. 2018. *Lactuca sativa* L: Tipos y variedades que se producen en México. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/articulos/lactuca-sativa> [consulta: 03 marzo 2021]
- SIAP. 2015. Estadística de la producción agrícola 2015. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> [consulta: 27 febrero 2021]
- SIAP. 2011. Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.siap.gob.mx> [consulta: 27 febrero 2021]
- Sivaperumal, P.; Anand, P.; Riddhi, L. 2015. Determinación rápida de residuos de plaguicidas en frutas y verduras, mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución / espectrometría de masas de tiempo de vuelo. *Química de los alimentos*. 168: 356-365 pp.
- Soriano, Juan. Y. 2020. Degradación de los residuos de plaguicidas presentes en los influentes de las depuradoras a través de los distintos tratamientos de las estaciones

depuradoras de aguas residuales (EDAR). Revista del Comité Científico de la AESAN. 34: 11-22 pp.

Solis, G. S. 2021. Prevalencia de intoxicaciones ocupacionales agudas con plaguicidas Inhibidores de la Colinesterasa y sus efectos en la salud en Ecuador entre el 2015 y el 2020. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guayaquil. Facultad Piloto de Odontología. 12-29 pp.

Stachniuk, A.; Fornal, E. 2016. Cromatografía líquida-espectrometría de masas en el análisis de residuos de plaguicidas en alimentos. Métodos analíticos de alimentos. 9 (6): 1654-1665 pp.

Suárez, L. C.; Piñeros, Y. 2013. Tratamiento con radiación UV: Alternativa en la poscosecha de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad batavia en la sabana de Bogotá. Alimentos Hoy. 22(28): 13-22.

Tecles, F.; Cerón J. J. 2003. Determinación espectrofotométrica de colinesterasa en sangre entera de animales domésticos: factores pre y analíticos. Anales de Veterinaria. Murcia 19: 61-76 pp.

Tejada, A. W.; Varca, L. M.; Calumpang, S. M. F.; Bajet, C. M. 1998. Inhibición de enzimas y otras técnicas rápidas para la detección de residuos de plaguicidas. Buscando productos agrícolas libres de residuos de plaguicidas. Revista de ciencia y gestión ambiental. 24 (1): 23-34 pp.

TUV Rheinland. 2015. GLOBALGAP. A.P. TÜV Rheinland México. http://www.tuv.com/es/argentina/servicios_ar/agroalimentos_ar/auditorias_certificacion_ar/certificacion_globalgap_frutas_hortalizas_ar/certificacion_globalgap_frutas_hortalizas.htm [consulta 21 marzo 2021].

Twomey, S., C. 2002. Estudio y optimización del Bioensayo de Inhibición Enzimática 96 para la detección de compuestos organofosforados y carbamatos. Nova. 17(31): 129-163 pp.

- Ureta, E. F. 2021. Detección de posibles sitios de unión a plaguicidas en las proteínas TBP y TRF1 de mosquitos transmisores de enfermedades. Tesis. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). 12 p.
- Uribe, M. V.; Castro, R. A.; Paéz, I.; Carvajal, N.; Barbosa, E.; León, L. M.; Díaz, S. M. 2012. Impacto en la salud y el medio ambiente por exposición a plaguicidas e implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo de tomate, Colombia, 2011. Revista chilena de salud pública. 16(2): 96-106 pp.
- Vryzas, Z. R. C. y Sans, C. 2020. Enfoques de priorización de plaguicidas y limitaciones en estudios de monitoreo ambiental: de Europa a América Latina y el Caribe. Environment International. 143.105-917 pp.
- Visintin, G.; Fállico, L.; García, B. 2010. Manejo de mohos poscosecha de cítricos mediante antagonistas microbianos. Ciencia, docencia y Tecnología. 21(40): 187-214 pp.
- White D., H.; y Kolbe, E. J. 1985. Secondary poisoning of Franklins gulls in Texas by monocrotophos. J Wildlife Dis. 21(1): 76-78 pp.
- Watts, M. 2013. Chlorpyrifos. Malaysia. Promoviendo la soberanía alimentaria, la salud ambiental y la justicia social desde 1992. (PANAP). <http://www.panap.net/sites/default/files/m> [consulta: 21 marzo 2021].
- Xie, J.; Pang, H.; Sun, R.; Wang, T.; Meng, X.; y Zhou, Z. 2021. Development of Rapid and High-Precision Colorimetric Device for Organophosphorus Pesticide Detection Based on Microfluidic Mixer Chip. Micromachines. 12(3). 290 p.
- Yamazaki, T. y Ninomiya T. 1999. Determination of benomyl, difenyl, o-phenylphenol, thiabendazole, chlorpyrifos, methidathion, and methyl parathion in oranges by solid-phase extraction, liquid chromatography and gas chromatography. JAOAC. Int 82: 1474-1478 pp.
- Yengle, M.; Palhua, R.; Lescano, P.; Villanueva, E.; Chachi, E.; Yana, E.; y Gutiérrez, C. 2008. Prácticas de utilización de plaguicidas en agricultores en el distrito de Huaral-Perú, noviembre 2005. Revista Peruana de Epidemiología. 12(1): 1-6 pp.

- Yúnez, N. A. 2006. Liberalización y reformas al agro: lecciones de México. *Economía Agraria y Recursos Naturales*. 68 (12): 47-67 pp.
- Zhang, K.; Wong, J.; Yang, W. P.; Tech, K.; Di Benedetto, A. L.; Schreiber, A. 2011. Análisis de pesticidas de residuos múltiples de productos agrícolas mediante extracción de acetonitrilo salino, limpieza de muestras en fase sólida dispersiva y cromatografía líquida de alto rendimiento-espectrometría de masas en tándem. *Revista de química agrícola y alimentaria*. 59 (14): 7636-7646 pp.
- Zhu, S.; Zhou, C.; He, J.; Zhang, X.; Guo, X. 2014. Detección colorimétrica rápida de residuos de plaguicidas basada en el método de inhibición enzimática. *Transacciones de la Sociedad China de Ingeniería Agrícola*. 30 (6): 242-248 pp.