



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

**“Análisis de la situación nacional actual de los residuos de
plaguicidas organofosforados en tomate de árbol para consumo
humano”**

PROYECTO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del título de:

**MAGÍSTER EN GESTIÓN DE PROCESOS Y SEGURIDAD DE LOS
ALIMENTOS**

Presentada por:

Mercedes Maribel Núñez Vidal

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2024

AGRADECIMIENTO

A mi directora de proyecto, Dra. Diana Carvajal; a los expertos que intervinieron como guías puntuales Dr. Eduardo Sánchez, BQF. Alexander Medina, Quím. Silvana Díaz, Ing. Agr. Oswaldo Romero y a todas las personas que colaboraron de una u otra forma para la realización de este trabajo. Adicionalmente y de manera especial, a mi esposo Juan Pedro Romero, por su ayuda constante, por animarme, apoyarme y acompañarme hasta completar esta meta.

DEDICATORIA

Este trabajo dedicado a toda
mi familia, amigos y
profesores.

TRIBUNAL DE TITULACIÓN

**Diana Carvajal A., Ph.D.
DIRECTORA DE PROYECTO**

**Patricio Cáceres C., Ph.D.
VOCAL**

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este proyecto de titulación, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

Mercedes Maribel Núñez Vidal

RESUMEN

El tomate de árbol es un fruto muy versátil y ampliamente consumido en Ecuador. Además, es una fuente de vitaminas, minerales y fibra que le dan valor nutricional y nutracéutico. Debido a su sensibilidad al ataque de plagas, dentro de las labores culturales durante el ciclo de vida de su cultivo, es necesario combatirlas mediante prácticas agrícolas con el uso de plaguicidas químicos.

El objetivo principal de este trabajo de titulación fue determinar los niveles de residuos de plaguicidas presentes en el tomate de árbol comercializado en el mercado nacional, mediante el desarrollo y validación de una metodología que permita la cuantificación de ingredientes activos utilizados durante su cultivo.

Para el desarrollo de la metodología se utilizó el listado de plaguicidas registrados en el país, con el fin de conocer los ingredientes activos de interés. Posteriormente se realizaron varias pruebas entre la matriz tomate de árbol y los métodos oficiales LC-MS/MS para recuperar el mayor número de residuos de plaguicidas. Finalmente, se obtuvo una metodología específica, que fue validada para recuperar 12 ingredientes activos, comúnmente utilizados durante el cultivo de este fruto.

Para conocer la incidencia de cada ingrediente activo en los tomates de árbol comercializados en nuestros mercados, se realizó un muestreo dirigido a Tungurahua, provincia con mayor producción y al D. M. Quito, segundo cantón más poblado, donde se obtuvieron 50 muestras. Como resultado del análisis se detectaron residuos de plaguicidas en el 98 % de las muestras. Sin embargo, del total de muestras, el 56 % tuvieron residuos de plaguicidas con niveles superiores a los límites máximos de residuos (LMR). Es importante mencionar que, de los 12 ingredientes activos de plaguicidas, 9 se presentaron sobre los LMR.

Para conocer la diversidad de residuos de plaguicidas encontrados en muestras de tomate de árbol durante los últimos cinco años, se elaboraron gráficas utilizando información de las bases de datos del laboratorio de contaminantes agrícolas. Estas gráficas permitieron visualizar la incidencia y el nivel de concentración de cada ingrediente activo detectado. Tras el análisis de datos, se determinó que en todos los años se hallaron residuos de plaguicidas por encima de los LMR.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO	ii
DEDICATORIA	iii
TRIBUNAL DE TITULACIÓN	iv
DECLARACIÓN EXPRESA	v
RESUMEN.....	vi
ÍNDICE GENERAL	vii
ABREVIATURAS	ix
SIMBOLOGÍA	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción del problema.....	2
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos general y Específico	3
CAPÍTULO 2.....	4
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Tomate de árbol.....	4
2.2. Residuos de Plaguicidas.....	5
2.3. Criterios para la validación de la metodología.....	5
CAPÍTULO 3.....	7
3. MATERIALES Y METODOS	7
3.1. Químicos y reactivos.....	7
3.2. Equipos y materiales.....	7
3.3. Validación de la metodología en el laboratorio.....	7
3.4. Presencia de residuos de plaguicidas por muestreo	18
3.5. Análisis histórico sobre la presencia de residuos de plaguicidas.....	18
CAPÍTULO 4.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
4.1. Validación de la metodología en el laboratorio.....	19
4.2. Efecto matriz.....	21

4.3. Sensibilidad de la curva de calibración y determinación de residuales.....	29
4.4. Presencia de residuos de plaguicidas procedentes del muestreo	39
4.5. Análisis histórico sobre la presencia de residuos de plaguicidas.....	43
CAPÍTULO 5.....	47
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48

ABREVIATURAS

AGROCALIDAD	Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario
LC-MS/MS	Cromatografía líquida con detector doble de masas
LC	Límite de cuantificación
LMR	Límite máximo de residuos
N/D	No detectado
OMS	Organización Mundial de la Salud

SIMBOLOGÍA

°C	Grados Celsius
L	Litro
kg	Kilogramos
mg	Miligramos
ng	Nanogramos
ppm	Partes por millón (mg/kg ó mg/L)
ppb	Partes por billón (ng/kg ó ng/L)

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 Transporte de muestras para el laboratorio.....	9
Figura 4.1. Frecuencia ingrediente activos de plaguicidas registrados en el Ecuador para cultivo de tomate de árbol.....	20
Figura 4.2 Efecto matriz en metomil.....	22
Figura 4.3 Efecto matriz en cymoxanil	23
Figura 4.4 Efecto matriz en acetamiprid.....	23
Figura 4.5 Efecto matriz en dimetoato	24
Figura 4.6 Efecto matriz en imidacloprid	24
Figura 4.7 Efecto matriz en metalaxyl	25
Figura 4.8 Efecto matriz en tebuconazol.....	25
Figura 4.9 Efecto matriz en benalaxyl.....	26
Figura 4.10 Efecto matriz en epoxiconazol	26
Figura 4.11 Efecto matriz en azoxystrobin	27
Figura 4.12 Efecto matriz en Fipronil	27
Figura 4.13 Efecto matriz en thiametoxam.....	28
Figura 4.14 Curva de calibración absoluta de azoxystrobin	29
Figura 4.15 Curva de calibración relativa de azoxystrobin	29
Figura 4.16 Gráfico de residuales absolutos de azoxystrobin	31
Figura 4.17 Gráfico de residuales absolutos de azoxystrobin	32
Figura 4.18 Curva de calibración absoluta de thiametoxam.....	32
Figura 4.19 Curva de calibración relativa de thiametoxam.....	33
Figura 4.20 Gráfico de residuales absolutos de thiametoxam.....	35
Figura 4.21 Gráfico de residuales absolutos de thiametoxam.....	35
Figura 4.22 Curva de calibración absoluta de acetamiprid.....	36
Figura 4.23 Curva de calibración relativa de acetamiprid.....	36
Figura 4.24 Gráfico de residuales absolutos de acetamiprid.....	38
Figura 4.25 Gráfico de residuales absolutos de acetamiprid.....	39
Figura 4.26 Muestras analizadas por el laboratorio de Contaminantes agrícolas.....	43
Figura 4.27 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2020.....	44
Figura 4.28 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2021.....	44
Figura 4.29 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2022.....	45
Figura 4.30 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2023.....	45
Figura 4.31 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2024.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios y parámetros de validación	5
Tabla 2. Productos de origen vegetal: descripción de las muestras primarias y tamaño mínimo de las muestras de laboratorio	8
Tabla 3. Procedimiento general para extracción de ingredientes activos de muestras de tomate de árbol.....	10
Tabla 4. Gradiente de elución de la fase móvil	17
Tabla 5. Frecuencia de registro de ingredientes activos de plaguicidas	19
Tabla 6. Selección de ingredientes activos	21
Tabla 7. Cumplimiento del parámetro efecto matriz	22
Tabla 8. Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de azoxystrobin	30
Tabla 9. Cumplimiento del parámetro residuales de azoxystrobin.....	30
Tabla 10. Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de thiametoxam	33
Tabla 11. Cumplimiento del parámetro residuales de thiametoxam	34
Tabla 12. Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de acetamiprid	37
Tabla 13. Cumplimiento del parámetro residuales de acetamiprid	37
Tabla 14. Residuos de plaguicidas detectados en muestras procedentes del muestreo ..	39
Tabla 15. Resumen de residuos de plaguicidas por muestra	41

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador, como país extremadamente diverso, alberga numerosas especies frutícolas en su origen. Esta riqueza natural constituye una ventaja significativa que debe ser aprovechada y fortalecida con el objetivo de incrementar la competitividad en el marco global de la economía y la expansión de mercados (Galarza et al., 2016). En este sentido, la importancia del tomate de árbol se debe a que es un fruto versátil, que además de consumirse en fresco, es fácilmente utilizado en diversas preparaciones en la cocina e industria (Dávila, 2016).

El tomate de árbol es sensible al ataque de plagas, principalmente hongos e insectos y una de las rutas más eficaces para su control, es el uso de plaguicidas agrícolas de origen químico (Revelo et al., 2008). Sin embargo, según González (2019), los plaguicidas presentan riesgos para la salud humana, principalmente durante el uso en cultivos y en el consumo de alimentos o agua con residuos. Además, menciona que, a nivel mundial, alrededor de 25 millones de agricultores presentan envenenamientos involuntarios anualmente.

Conforme con un reporte proporcionado por el Ministerio de Salud Chile, en los primeros 9 meses del año 2018 se presentaron 363 casos de intoxicaciones agudas por plaguicidas. Además, informa que, según los grupos químicos de plaguicidas involucrados en estas intoxicaciones, el 28 % corresponde al grupo de los organofosforados (González, 2019)

Debido al incremento de la demanda de alimentos a nivel mundial y con el fin de mejorar la eficiencia y mejora de la calidad de la producción agrícola, los productores se ven obligados a utilizar plaguicidas. En consecuencia, la importancia del levantamiento de la información se debe a que los plaguicidas causan intoxicaciones agudas y graves, dependiendo del ingrediente activo. Por tal razón, la Organización Mundial de la Salud (OMS), junto con instituciones a nivel mundial, realizan diversos estudios científicos sobre la toxicidad de cada uno de los ingredientes activos y se han establecido los Límites Máximos de Residuos (LMR) que han sido aceptados en todo el mundo, los cuales juegan un papel importante en la comercialización de productos agrícolas y pecuarios (OMS, 2022).

En un estudio sobre residuos de plaguicidas en hortalizas destinadas al abastecimiento local en México, se evidenció que existe un riesgo para la salud pública en su consumo ya que exceden los LMR, contrario a lo que se observa en las de exportación, las cuales sí cumplen con los requisitos exigidos y condicionados principalmente por los mercados de Estados Unidos y Unión Europea. Debido a estos controles, el manejo por parte de los productores es mucho más cuidadoso. En este sentido, es importante el control de los productos plaguicidas, así como su correcta aplicación y dosificación durante el manejo del cultivo y los tratamientos postcosecha (Pérez et al., 2013).

En una investigación realizada por Zhao et al., (2023), sobre residuos de plaguicidas de uso frecuente y sus metabolitos en frutos y jugos de manzana de mercados de China, se detectó que el 92 % de muestras de manzana contenían residuos de plaguicidas. Consecuentemente, en las muestras se determinó que seis ingredientes activos estaban sobre el límite de cuantificación (LQ), a una tasa de 63,3 % con thiametoxam, 61,7 % con carbendazim, 22,5 % con pyraclostrobin, 21,7 % con tebuconazol, 8,3 % con clorpirifos y

2,5 % fenpiroximato, sobrepasaban los límites de cuantificación (LC), aunque se encontraban debajo de los LMR en ese país. Es importante mencionar que, el clorpirifos prohibido en Estados Unidos y la Unión Europea, sobrepasó el LMR de ese mercado (0.01 ppm). Por otro lado, no se detectaron residuos en las muestras de jugo de manzana.

En la guía de identificación de plagas del tomate de árbol, del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), se detallan las técnicas para identificar y combatir cada una de las plagas y enfermedades del cultivo. Es importante mencionar que, en este documento se describen las medidas de control cultural y químico. Entre los plaguicidas químicos recomendados se encuentran el mancozeb, difenoconazol, Clorotalonil, cymoxanil, metalaxyl, fosetil aluminio, penconazol, propineb, entre otros, para el control de enfermedades y para el control de plagas, se recomienda ethoprop, dimetoato, malatión, cipermetrina, clorpirifos, lambda – cyhalotrina, acefato, entre otros (Revelo et al., 2008).

1.1. Descripción del problema

En Ecuador no existe un levantamiento de datos sobre la presencia de residuos de plaguicidas en tomate de árbol que se comercializa a nivel nacional. De igual manera, debido a que el tomate de árbol no es un producto de alto interés comercial a nivel mundial, tampoco existen datos sobre los LMR establecidos en el Codex Alimentarius para el tomate de árbol, tomate de la paz o tamarillo.

Esto implica que no se conocen los niveles de residuos presentes en el tomate de árbol comercializado en los mercados a nivel nacional y, aún si se conocieran, no se dispone de un parámetro de comparación específico, para esta matriz objetivo, que determine si estos niveles de residuos se encuentran por encima o por debajo de aquellos que puedan ser considerados aceptables dentro de un marco regulatorio de inocuidad alimentaria.

1.2. Justificación

El conocimiento de los datos de residuos de plaguicidas presentes en tomate de árbol permitirá establecer la situación actual del contenido de plaguicidas en este cultivo, el cual servirá como punto de partida para determinar el conjunto de acciones pertinentes en cuanto a la regulación y control sobre la aplicación de productos químicos en los cultivos que abastecen al mercado nacional, los cuales al momento no están siendo regulados. Por otra parte, se conoce que el Ecuador exporta tomate de árbol principalmente a Estados Unidos y algunos países de la Unión Europea (MAGAP, 2022), lo que sugiere que sí existen controles sobre este producto de exportación.

Según lo que se indica anteriormente, la comercialización del tomate de árbol en Ecuador presenta un contraste similar al de las hortalizas en México. Por lo tanto, el contar con una base de datos sólida respecto al contenido de residuos de plaguicidas, permitirá reducir la brecha de inocuidad entre los productos destinados al mercado nacional y aquellos destinados a la exportación.

1.3. Objetivos general y Específico

Objetivo General

Analizar la situación nacional de los residuos de plaguicidas organofosforados con respecto a los límites máximos en los frutos de tomate de árbol de consumo humano mediante cromatografía líquida con detector doble de masas.

Objetivos específicos

1. Validar una metodología en el laboratorio para la identificación y cuantificación de residuos de plaguicidas usados frecuentemente en tomate de árbol utilizando cromatografía líquida con detector doble de masas (LC-MS/MS).
2. Determinar la presencia de residuos de plaguicidas usados en tomate de árbol mediante un muestreo en los principales mercados de la provincia de mayor producción y en uno de los cantones de mayor población.
3. Realizar un análisis sobre la presencia de residuos de plaguicidas presentes en frutos de tomate de árbol, tomando los datos del historial de muestras analizadas en los últimos 5 años por el laboratorio de Contaminantes Agrícolas de la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD).

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Tomate de árbol

El tomate de árbol, cuyo nombre científico es *Solanum betaceum*, es una planta semileñosa originaria de América del Sur que pertenece a la familia de las solanáceas. Los principales productores de este fruto son Ecuador y Colombia y la importancia sobre su consumo se deben a su alto valor nutracéutico (Moreno-Miranda et al., 2020). Según reporta Barahona et al. (2016), el tomate es fuente de potasio, fibra y vitaminas A, B, C y K y su consumo está relacionado con la reducción del colesterol total, LDL y glucosa.

Feicán et al. (2016) señala que los cultivos de tomate de árbol ecuatoriano no han sido mejorados y se plantan variedades nativas como el anaranjado puntón, redondo rojo, amarillo y rojo mora. Sus plantas se cultivan principalmente entre 2 000 y 2 800 msnm a temperaturas promedio entre 13 y 24 °C y en la región oriente entre los 100 y 1 500 msnm donde son más susceptibles al ataque de plagas. Su cultivo se adapta a todo tipo de suelos, pero prefiere los franco-arenosos y con niveles medios de materia orgánica, pH entre 5 y 8,5 y con buen drenaje.

Hasta mayo de 2022, el aporte del tomate de árbol al Valor Agregado Bruto (VAB) fue del 0,1 %, que corresponde al 0,03 % las exportaciones agropecuarias nacionales, principalmente a Estados Unidos (95 %), España (3 %), Países Bajos (1 %) y Canadá (1 %). En 2021 se tuvo una participación de 8 606 personas, con una participación completamente equitativa entre hombres y mujeres. La producción es 97 % familiar. En 2021 se tuvo una reducción del 48 % en las exportaciones, comparado con el año 2020, cuya causa principal se debió a las pérdidas en los cultivos por plagas y enfermedades (94 %) (MAGAP, 2022).

Según MAGAP (2022), las provincias líderes en la producción de tomate de árbol son Tungurahua (3 798 t), Chimborazo (950 t), Azuay (863 t), Bolívar (718 t), Napo (177 t), Cotopaxi (112 t). Además, hay otras en menor escala como Imbabura, Pichincha y Loja que suman 123 toneladas. La provincia de Chimborazo tiene el mayor rendimiento productivo (15 t/ha), seguida por Tungurahua (8,99 t/ha). Tungurahua y Chimborazo son responsables del 80,77 % de la producción total de tomate de árbol, con el 64,61 % y 16,16 %, respectivamente. Del mismo modo, el 74,82 % de las unidades productivas están concentradas en Tungurahua y Chimborazo, con el 55,16 % y 19,66 %, respectivamente.

En una encuesta realizada en la ciudad de Quito sobre las tendencias de consumo, se obtuvo como resultado que el tomate de árbol se adquiere principalmente en mercados (76,1 %), supermercados (20,4 %) y fruterías (3,5 %) y el consumo está extendido en todos los estratos económicos, siendo el medio (44,25 %) el más representativo, seguido por el medio-alto (26,54 %), el bajo (22,13 %) y finalmente el alto (7,07 %). El promedio de consumo en la capital es de 23 frutos semanales por familia (Dávila, 2016).

2.2. Residuos de Plaguicidas

Los plaguicidas químicos son un grupo de sustancias diseñadas para actuar en contra de plagas, se utilizan en la agricultura convencional para incrementar los rendimientos en la producción de alimentos. Las funciones principales que cumplen son protección y control de plagas que afectan los cultivos tales como insectos, hongos, malezas, etc. Los pesticidas pueden llegar a ser tóxicos y afectar la salud de los consumidores dependiendo de su tipo, concentración y exposición. Además, pueden causar daños al medio ambiente, contaminando el suelo, aguas subterráneas y aire. Para mitigar estos efectos, la OMS (2022) señala que, es importante respetar las dosis y modos de aplicación recomendados por el formulador de agroquímicos.

Los plaguicidas de uso agrícola son diversos; varían en su tipo de formulación, ingrediente activo y mezclas. Se conocen más de 1000 ingredientes activos que son comercializados a nivel mundial (OMS, 2022). Se clasifican según su estructura química, uso, formulación y/o modo de acción. Conforme con su estructura química se clasifican en organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides, entre otros (Font et al., 2012).

Los residuos de plaguicidas son los ingredientes activos o sus metabolitos que aparecen en los alimentos en concentraciones muy bajas del orden de ppm, ppb y hasta ppt. El análisis de estos compuestos resulta complejo debido a su baja concentración en comparación con la de los compuestos propios del alimento, por lo que es necesario aplicar técnicas de separación y extracción de compuestos de interés complementado con cromatografía líquida con detector de masas que permiten identificar a los compuestos con patrones estandarizados mediante una identificación única (tipo huella digital) (Castro et al., 2004).

2.3. Criterios para la validación de la metodología.

La validación de la metodología tiene como objetivo demostrar que el método de análisis es adecuado para su uso (ISO 17025, 2017). Según SANTE 11312 (2021), que es la guía para el control de calidad analítico y validación de métodos para el análisis de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos, proporciona indicaciones están orientadas a los laboratorios de control oficial de residuos de plaguicidas para la Unión Europea, con el fin de asegurar la calidad de los resultados. en la tabla 1 indica los parámetros y criterios genéricos para la validación de la metodología.

Tabla 1
Criterios y parámetros de validación

Parámetro	Qué/Cómo	Criterio	Sección referenciada de SANTE 11312
Sensibilidad/linealidad	Verificación de linealidad a partir de cinco niveles	Desviación de la concentración calculada a partir de la concentración real $\leq \pm 20\%$	C14-C19

Efecto matriz	Diferencia de respuesta entre el estándar en extracto de matriz y el estándar en solvente	*	C21-C29 Glosario
LOQ (Límite de cuantificación)	Nivel más bajo de adición que cumple con los criterios de identificación y rendimiento del método para recuperación y precisión	≤ LMR (Límite máximo de residuos)	G6
Especificidad	Respuesta en blanco de reactivo y en muestras de control en blanco	≤ 30 % de RL	C41
Recuperación	Recuperación promedio para cada nivel de adición probado	70-120 %	G3, G6
Precisión (RSD _r)	Repetibilidad RSD _r para cada nivel de adición probado	≤ 20 %	G3, G6
Precisión (RSD _{wR})	Reproducibilidad dentro del laboratorio, derivada de la validación / verificación continua del método	≤ 20 %	G3, G6
Robustez	Recuperación promedio y RSD _{wR} , derivada de la validación / verificación continua del método	Ver arriba	G6, C39-C44
Ratio de iones	Verificación del cumplimiento con los requisitos de identificación para técnicas de MS	Tabla 3	Sección D
Tiempo de retención	Variación en los tiempos	±0.1 min	D2

* En caso de supresión o aumento de señal superior al 20 %, los efectos de la matriz deben abordarse en la calibración (C21-C29).

Fuente: (SANTE 11312, 2021)

CAPÍTULO 3

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Químicos y reactivos

- Estándares certificados de ingredientes activos de plaguicidas
- Acetonitrilo grado masas
- Agua purificada tipo I
- Acetato de etilo
- Ácido fórmico
- QuEChERS de extracción (método EN)
- QuEChERS de limpieza (método EN para matrices no grasas)

3.2. Equipos y materiales

- Cromatógrafo líquido marca Waters, modelo Acquity SDS UPLC con bomba binaria.
- Detector de espectrometría de masas de triple cuadrupolo marca Waters modelo XEVO TQ-S #WAA099.
- Columna cromatográfica ACQUITY UPLC® BEH C18, 50 mm x 2,1 mm y 1.7µm, serie 03913110215145.
- Software de procesamiento de datos MassLynx – IntelliStart, versión 1.40.2532.
- Micropipetas de 10 mL, 1000 µL y 100 µL, marca Brand, modelo Transferpette.
- Purificador de agua tipo I, marca Millipore, modelo Simplicity.
- Molino marca Retsch, modelo GM 200.
- Dispensador de solventes, marca labnet de 0-25 mL.
- Ultracongelador marca Arctiko, modelo Freezer LAF 700.
- Agitador de tubos cónicos, marca Benckmark, modelo Benchmixer multi – tube.
- Balanza analítica, marca OHAUS, modelo Adventurer.
- Centrifugador marca Eppendorf, modelo centrifuge 4804 R, versión 15 amp.
- Vortex
- Centrífuga
- Evaporador de nitrógeno
- Gradillas para tubos cónicos de 50 mL y 15 mL.
- Filtro de jeringa con membrana de 0,22 µm PTFE, marca Millipore.
- Jeringas de 5 mL
- Tubos cónicos de 50 mL y 15 mL.
- Tubos de ensayo de 5 mL y 10 mL
- Viales ámbar de 2 mL para cromatografía líquida.

3.3. Validación de la metodología en el laboratorio

Para la validación de la metodología de análisis se realizaron las siguientes actividades que se detallan a continuación.

3.3.1. Selección de ingredientes activos de plaguicidas.

La selección de ingredientes activos se realizó por filtración. Inicialmente, desde la página de la AGROCALIDAD, se obtuvo la base de datos de los plaguicidas formulados registrados en el Ecuador, para el cultivo de tomate de árbol. Posteriormente, realizó un listado de todos los ingredientes activos.

En el mismo sentido, a partir del listado de ingredientes activos analizados por el laboratorio de Contaminantes Agrícolas de AGROCALIDAD mediante la técnica LC-MS/MS, se determinaron los ingredientes activos presentes en tomate de árbol que pueden ser analizados mediante la técnica seleccionada.

Finalmente, para la validación de la metodología en la matriz tomate de árbol se seleccionaron 5 ingredientes activos.

3.3.2. Toma de muestras para el laboratorio.

La toma de muestras se realizó considerando los lineamientos descritos en la norma CAC/GL 33 (1999). Conforme con la tabla 2, el tamaño de la muestra considerado fue de 1 kg por cada lote. Posteriormente, los frutos de tomate de árbol se colocaron en bolsas de polipropileno, inmediatamente se transportaron en cajas térmicas y se almacenaron a temperatura de refrigeración (4 ± 2 °C), como se muestra en la figura 1.1.

Tabla 2
Productos de origen vegetal: descripción de las muestras primarias y tamaño mínimo de las muestras de laboratorio

Clasificación de los productos	Ejemplos	Naturaleza de las muestras primarias que han de tomarse	Tamaño mínimo de cada muestra de laboratorio
Categoría A: Productos alimenticios primarios de origen vegetal			
1.	Todas las frutas , tipo 1, grupos 001-008		
	Todas las hortalizas , tipo 2, grupos 009-019, excepto el grupo 015 (legumbres secas)		
1.1	Productos frescos de tamaño pequeño , unidades generalmente < 25g	varias bayas guisantes aceitunas	unidades enteras, envasadas, o tomadas con un instrumento de muestreo
1.2	Productos frescos de tamaño medio , unidades de 25-250 g, generalmente	manzanas naranjas	unidades enteras
1.3	Productos frescos de tamaño grande , generalmente unidades >250 g	coles pepinos uvas (racimos)	unidades enteras
			1 kg
			1 kg (10 unidades al menos)
			2 kg (5 unidades al menos)

Fuente: (CAC/GL 33, 1999)

3.3.3. Obtención de matriz blanco

Para la selección de la matriz blanco, se realizó una búsqueda de tomates de árbol de producción orgánica y casera, la cual consistió en frutos libre de residuos de plaguicidas. Durante 5 semanas, se adquirieron 4 muestras semanales etiquetadas como orgánicas en supermercados y mercados de productos orgánicos, y en cultivos caseros de comunidades de la provincia de Imbabura, las cuales se sometieron a un análisis de barrido para determinar ausencia de ingredientes activos de plaguicidas. Finalmente, se obtuvieron 4 kg de tomate de árbol para utilizarlo en la validación.



Figura 3.1 Transporte de muestras para el laboratorio

Fuente: Autor

3.3.4. Selección del método

Para el análisis de plaguicidas mediante cromatografía líquida se utilizó el método de la Unión Europea (UNE-EN 15662, 2019) debido a la disponibilidad de equipos, materiales y reactivos.

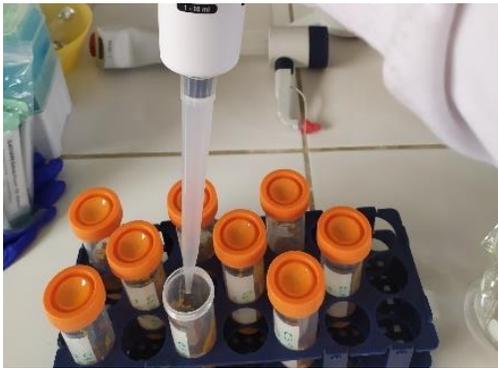
3.3.5. Descripción general de la metodología de extracción y limpieza.

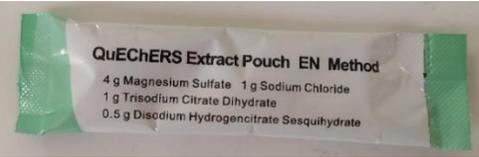
En general, el método UNE-EN 15662 (2019) inicia con la preparación de la muestra, la extracción de la fase sólida a líquida, la limpieza y la obtención del extracto, con el fin de recuperar los ingredientes activos de plaguicidas en la matriz tomate de árbol. La descripción del desarrollo del método específico para la matriz tomate de árbol, se detalla en la tabla 3.

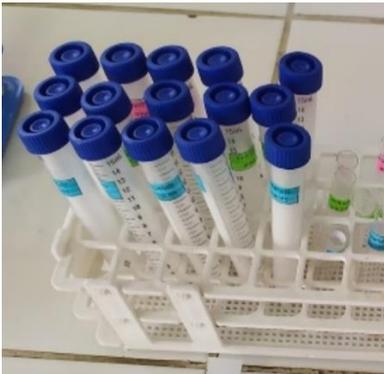
Tabla 3
Procedimiento general para extracción de ingredientes activos de muestras de tomate de árbol

Paso	Fase	Actividad	Observación
1	Preparación de la muestra	Se sacó la muestra del refrigerador e inmediatamente retiró la funda de empaque y los frutos se colocaron sobre una tabla de picar. 	
2	Preparación de la muestra	Con ayuda de un cuchillo de acero inoxidable, se retiró el pedúnculo y se realizaron cortes en cuartos a cada fruto. 	
3	Preparación de la muestra	Se tomó la cuarta parte de cada fruto y colocó en el molino.	

			
4	Preparación de la muestra	<p>Se procesó la muestra a 4000 rpm por 12 segundos, por dos ocasiones consecutivas.</p> 	
5	Pesaje de muestra	<p>Se pesaron 10 gramos de muestra en tubos cónicos de 50 mL.</p> 	<p>Para la cantidad de muestra se consideró la recomendación de tomate riñón establecida en la metodología, por su similitud en porcentaje de humedad.</p>
6	Almacenamiento de muestras	<p>Las muestras se almacenaron en bolsas de 250 g con cierre zipper para obtener los blancos de la validación en el ultracongelador temperatura de 40 °C bajo cero.</p>	

		<p>Para el procesamiento de muestras, se almacenó 50 g de cada muestra en tubos cónicos como contramuestra.</p> 	
7	Fortificación	<p>Para procesar las muestras, se tomaron los tubos cónicos con la muestra congelada e inmediatamente se añadió:</p> <p>100 μL de solución de deuterado de atrazina con concentración de 4 ppm (fortificación y curva).</p> <p>100 μL de solución mix de plaguicidas a 1 ppm, para el nivel de fortificación de 10 ppb (fortificados)</p> <p>500 μL de solución mix de plaguicidas a 1 ppm, para el nivel de fortificación de 50 ppb (fortificados)</p> <p>1000 μL de solución mix de plaguicidas a 1 ppm, para el nivel de fortificación de 100 ppb (fortificados)</p> 	<p>Aplica únicamente en la validación:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Fortificación para determinar la recuperación - Curva de calibración en matriz tomate de árbol, para efecto matriz
8	Fortificación	<p>Los tubos de la muestra se llevaron al agitador durante 15 minutos a 2500 rpm.</p> 	<p>En caso de que la muestra esté descongelada, agitar por 5 minutos.</p>

9	Fortificación	<p>Los tubos se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura de refrigeración (4 ± 2 °C) en una gradilla.</p> 	
10	Extracción de ingredientes activos de plaguicidas	<p>A continuación, se añadieron 10 mL de acetonitrilo en los tubos de muestra con el dispensador de solventes.</p> <p>Seguidamente, los tubos fueron llevados al agitador durante 5 minutos a 2500 rpm.</p> 	
11	Extracción de ingredientes activos de plaguicidas	<p>A continuación, se añadió la mezcla de sales de extracción compuesta de:</p> <p>$4 \pm 0,2$ g de sulfato de magnesio anhidro</p> <p>$1 \pm 0,05$ g de cloruro de sodio</p> <p>$1 \pm 0,05$ g de citrato trisódico dihidratado</p> <p>$0,05 \pm 0,03$ g hidrógeno citrato disódico.</p> <p>Inmediatamente se cerró el tubo y se homogeneizó manualmente durante 5 segundos.</p> <p>Posteriormente se procedió a agitar durante 5 minutos a 2500 rpm.</p> 	<p>Desde este punto, se puede realizar la extracción en lotes y se debe realizar tan pronto como sea posible.</p>

12	Extracción de ingredientes activos de plaguicidas	<p>Una vez agitados, los tubos fueron centrifugados durante 5 minutos a 4800 rpm y 10 °C con el fin de separar las fases sólida y líquida.</p> 	
13	Limpieza de la solución de extracción.	<p>Con el fin de mejorar la eficiencia, en los tubos cónicos de 15 mL se colocó la mezcla de sales de limpieza compuesta por:</p> <p>900 ± 0,05 mg de Sulfato de magnesio anhidro</p> <p>150 ± 0,01 mg de PSA (amina primaria/secundaria)</p>  	
14	Limpieza de la solución de extracción.	<p>Se retiraron los tubos de la centrifuga e inmediatamente se transfirieron 6 mL del sobrenadante (fase líquida) al tubo cónico con las sales de limpieza.</p>	<p>Desde el punto 15 al 16 se puede considerar crítico si se prolongan los tiempos porque las sales pueden degradar los ingredientes activos de plaguicidas.</p>

			
15	Limpieza de la solución de extracción.	<p>Se agitaron los tubos cónicos de 15 mL por 30 segundos a 2500 rpm.</p> <p>Inmediatamente después se colocaron centrifuga durante 5 minutos a 4800 rpm y 10 °C.</p> <p>Finalmente, los extractos limpios se colocaron en tubos de vidrio de la siguiente manera:</p> <p>Para muestras o fortificados; se tomaron 2 mL del tubo de 15 mL, se colocaron en una jeringa de 5 mL, se filtraron a través de una membrana de 0,22 μm, directamente en un tubo de vidrio de 5 mL.</p> <p>Para curvas de calibración en matriz: a partir de dos tubos de 15 mL, se extrajeron 3 mL de cada uno, se colocaron en una jeringa de 10 mL, y se filtraron a través de una membrana de 0,22 μm en un tubo de vidrio de 10 mL.</p> 	
16	Obtención de extractos de plaguicidas desde la matriz tomate de árbol.	<p>Para muestras o fortificados: se colocaron 20 μL de solución de ácido fórmico al 5 % en acetonitrilo, se agitaron por 30 segundos en un vortex y se colocaron directamente en el vial de 2 mL.</p> <p>Para curvas de calibración en matriz: se colocaron 60 μL de solución de ácido fórmico al 5 % en acetonitrilo, se agitaron por 30 segundos en un vortex. Finalmente se colocaron 900 μL de este extracto en 6 viales de 2 mL.</p>	

			
17	<p>Elaboración de la curva de calibración en matriz</p>	<p>A partir de los 6 viales destinados para la curva de calibración, sobre los 900 μL de extracto, se añadieron 100 μL de cada una de las seis soluciones mix de plaguicidas.</p> <p>Los niveles de concentración de las soluciones mix de de plaguicidas corresponden a:</p> <p>Nivel 1: 60 ppb Nivel 2: 100 ppb Nivel 3: 250 ppb Nivel 4: 500 ppb Nivel 5: 1000 ppb Nivel 6: 1500 ppb</p> 	<p>Para elaborar la curva de calibración en solvente, se realiza el mismo procedimiento. En este caso, los 900 μL corresponden al solvente B (Solución de ácido fórmico al 0,1 % en acetronitrilo).</p>
18	<p>Lectura de muestras</p>	<p>Los viales listos son llevados al equipo de cromatografía LC-MS/MS, el cuál debe estar acondicionado conforme con las condiciones cromatográficas del método.</p> 	

Fuente: Autor

3.3.6. Condiciones cromatográficas

Las condiciones que se aplicaron en el detector fueron:

- Temperatura de la fuente: 150 °C a 300 L/h
- Gas de cortina: Nitrógeno a 150 psi.
- Voltaje de spray de iones: 800 V
- Temperatura de desolvatación: 500 °C
- Flujo del gas de desolvatación: 1000 L/h
- Flujo del gas de colisión: Argón 0,19 mL/min
- Gas de nebulización: 7 Bar

Las condiciones cromatográficas que se aplicaron en el cromatógrafo líquido fueron:

- Volumen de inyección: 5 µL
- Temperatura de columna: 40 °C
- Tiempo de corrida: 15 minutos
- Fase móvil: Conforme gradiente presentada en la tabla 4.
- Solvente A: Solución acuosa de ácido fórmico al 0,1 %.
- Solvente B: Solución de ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo.

Tabla 4
Gradiente de elución de la fase móvil

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	Solvente A	Solvente B
0	0,45	92	8
0,25	0,45	92	8
12,25	0,45	100	0
13	0,45	100	0
13,1	0,45	92	8
15	0,45	92	8

Fuente: Autor.

3.3.7. Efecto matriz

Para la determinación del efecto matriz se realizaron 3 curvas de calibración, utilizando un total de 6 muestras de matriz blanco de tomate de árbol, las cuales fueron procesadas como curvas de calibración conforme con la descripción de la metodología (tabla 3).

Paralelamente, se elaboró una curva de calibración en solvente, añadiendo 900 mL de solvente B en 6 viales cromatográficos y posteriormente se añadieron 100 de cada uno de los seis niveles de concentración de las soluciones mix de plaguicidas, como se describe en el paso 17 de la tabla 3.

Finalmente, con los datos cromatográficos obtenidos a partir de 12 ingredientes activos comúnmente usados en el cultivo de tomate de árbol, se determinó la existencia del efecto matriz. Para lo cual se aplicó la fórmula 1, de la guía SANTE 11312.

$$Efecto\ matriz\ (\%) = \left(\frac{mm}{ms} - 1 \right) * 100 \quad [1]$$

mm= Pendiente en la curva de calibración con extracto de matriz tomate de árbol

ms= Pendiente en la curva de calibración de solvente.

3.3.8. Sensibilidad de la curva de calibración y determinación de residuales

Para la determinación de la sensibilidad de la curva de calibración y la determinación de los residuales se elaboraron 3 curvas de calibración, con seis niveles de concentración para 3 ingredientes activos seleccionados por su importancia con base en su presencia. Adicionalmente, se utilizó Atrazine-d5 para realizar los cálculos en relativo de manera paralela.

3.4. Presencia de residuos de plaguicidas por muestreo

Se realizó un muestreo dirigido que consistió en dos etapas (Gutiérrez, 2010). En la primera etapa se tomaron 30 muestras de tomate de árbol en los principales mercados de Tungurahua, debido a que es la provincia de mayor producción de tomate de árbol MAGAP, 2022). En la segunda etapa, se tomaron 20 muestras en los principales mercados y supermercados del Distrito Metropolitano Quito, dado que es el segundo cantón más poblado del país (INEC, 2024).

Las muestras recolectadas se analizaron conforme con la descripción de la metodología validada. Los cálculos y la tabulación de los resultados se realizaron mediante el programa Excel.

3.5. Análisis histórico sobre la presencia de residuos de plaguicidas.

Mediante las bases de datos proporcionadas por el laboratorio de Contaminantes Agrícolas de AGROCALIDAD y con ayuda del programa Excel, se elaboraron gráficas que permitieron mostrar la presencia de residuos de plaguicidas en el tomate de árbol durante los años 2020 al primer semestre del 2024.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Validación de la metodología en el laboratorio

Como resultado de la revisión de plaguicidas registrados en el Ecuador para el cultivo de tomate de árbol se determinó que para este cultivo existen 62 ingredientes activos de plaguicidas. En la tabla 5 se puede evidenciar la importancia que representa en el mercado cada uno de ellos. De manera global, en la figura 2 se presenta gráficamente el listado completo de los plaguicidas registrados en para el cultivo de tomate de árbol y su importancia.

Tabla 5
Frecuencia de registro de ingredientes activos de plaguicidas

Ingredientes activos	frecuencia	Porcentaje	Clasificación según su uso
Mancozeb	14	8%	Fungicida
Azoxystrobin	8	5%	Fungicida
Procloraz	8	5%	Fungicida
Thiametoxam	8	5%	Insecticida
Acetamiprid	7	4%	Insecticida
Lambda - cyhalothrina	7	4%	Insecticida
Clorotalonil	6	3%	Fungicida
Tebuconazol	6	3%	Fungicida
Cipermetrina	5	3%	Insecticida
Difenoconazol	5	3%	Fungicida
Imidacloprid	5	3%	Insecticida
Alpha - cipermetrina	4	2%	Insecticida
Bifentrin	4	2%	Insecticida
Clorpirifos	4	2%	Insecticida
Cymoxanil	4	2%	Fungicida
Iprodion	4	2%	Fungicida
Metomil	4	2%	Insecticida
Spinetoram	4	2%	Insecticida

Fuente: Autor.

La frecuencia del registro de cada uno de los ingredientes activos proporciona una idea global su importancia en el cultivo y según el modo de acción, se evidencia los puede clasificar para tener una visión de las plagas más comunes (INTA, 2009). Conforme con los datos presentados en la tabla 5, el tomate de árbol comúnmente es atacado por hongos e insectos, lo cual es indicado por Revelo (2008).

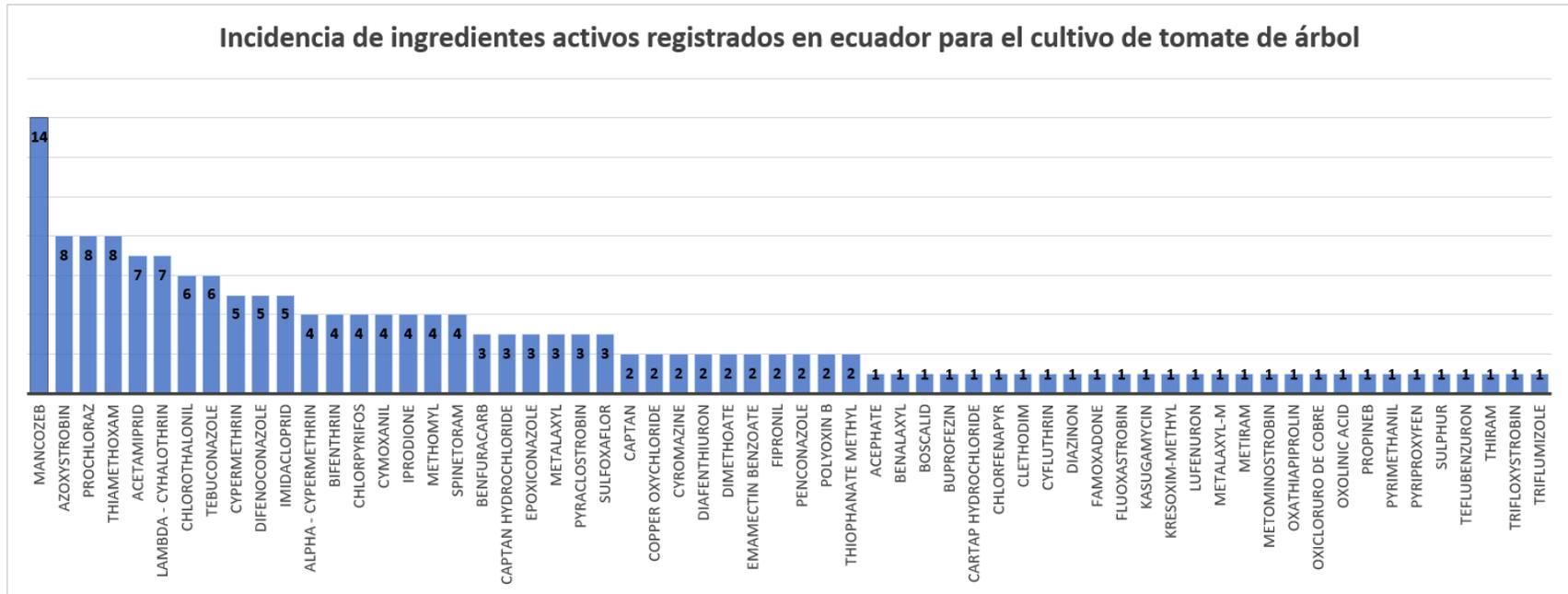


Figura 4.1. Frecuencia ingrediente activos de plaguicidas registrados en el Ecuador para cultivo de tomate de árbol

Fuente: Autor

Aunque el mancozeb es el ingrediente activo más utilizado en el país, las técnicas de cromatografía lo consideran como plaguicida problema al igual que al maneb, propineb y tiram. Para el análisis de estos residuos de plaguicidas se utilizan metodologías de digestión de bisulfuro de carbono.

Posterior a este análisis, y como resultado del cruzamiento de datos de los ingredientes activos de plaguicidas registrados para tomate de árbol y el listado de plaguicidas que pueden ser analizados por el laboratorio de contaminantes agrícolas mediante cromatografía LC-MS/MS, se obtuvo la tabla 6, que se muestra a continuación.

Tabla 6
Selección de ingredientes activos

Ingrediente activo	Incidencia en el registro	Detectabilidad en el análisis
Azoxystrobin	8	SI
Thiametoxam	8	SI
Prochloraz	8	NO
Acetamiprid	7	SI
Tebuconazol	6	SI
Difenoconazol	5	NO
Imidacloprid	5	SI
Cymoxanil	4	SI
Metomil	4	SI
Epoxiconazol	3	SI
Metalaxyl	3	SI
Pyraclostrobin	3	NO
Dimetoato	2	SI
Fipronil	2	SI
Benalaxyl	1	SI
Buprofezin	1	NO
Pyrimetanil	1	NO
Pyriproxifen	1	NO

Fuente: Autor

En la tabla 6 se enlistan los 18 plaguicidas que pueden ser analizados mediante cromatografía LC-MS/MS. Además, se aprecia que la mitad de ellos son de alta importancia para la protección del cultivo. Sin embargo, al aplicar la metodología UNE-EN 15662 (2019), la detección durante el análisis no fue completa debido a que no se pudo divisar 6 ingredientes activos. Esto se debe al efecto que ejercen los compuestos intrínsecos del tomate de árbol sobre estos plaguicidas durante el procesamiento de la muestra, lo que se conoce como efecto de la matriz.

Una vez que se seleccionaron los 12 ingredientes activos viables para el análisis en la matriz tomate de árbol, se realizó en análisis para determinar el efecto matriz.

4.2. Efecto matriz

En la tabla 7, se encuentran los datos obtenidos para cada una a partir de las pendientes de cada uno de los ingredientes activos seleccionados. Cabe mencionar que, para obtener la pendiente de solvente, se elaboró una curva de calibración, mientras que para la de matriz se preparó la curva por triplicado, utilizando un total de 6 muestras matriz blanco. Conforme con los criterios establecidos en SANTE 11312 (2021), sobre el efecto matriz, se puede evidenciar que no existe efecto matriz.

Tabla 7
Cumplimiento del parámetro efecto matriz

No.	Ingrediente activo	Pendiente en matriz (mm)	Pendiente fase móvil (ms)	Efecto matriz (%)	Criterio SANTE 11312 $\leq \pm 20\%$
1	Metomil	159,57	160,52	-0,59	Cumple
2	Cymoxanil	682,75	698,7	-2,28	Cumple
3	Acetamiprid	12044	11896	1,24	Cumple
4	Dimetoato	8705,3	8267,2	5,30	Cumple
5	Imidacloprid	1731,1	1931,7	-10,38	Cumple
6	Metalaxyl	23951	24204	-1,05	Cumple
7	Tebuconazol	9258,7	9151,1	1,18	Cumple
8	Benalaxyl	34503	34519	-0,05	Cumple
9	Epoxiconazol	2903,6	2845,4	2,05	Cumple
10	Azoxystrobin	25197	24594	2,45	Cumple
11	Fipronil	4331,6	4359,9	-0,65	Cumple
12	Thiametoxam	3975	3822,9	3,98	Cumple

Fuente: Autor

Adicionalmente, se presentan los gráficos de comparación entre las curvas de calibración del disolvente y matriz para los 12 ingredientes activos seleccionados.

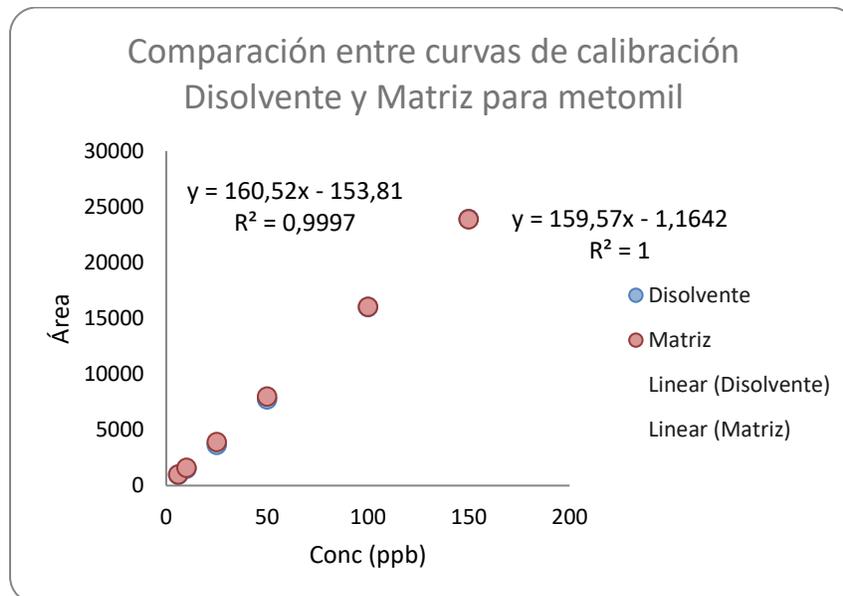


Figura 4.2 Efecto matriz en metomil

Fuente: Autor

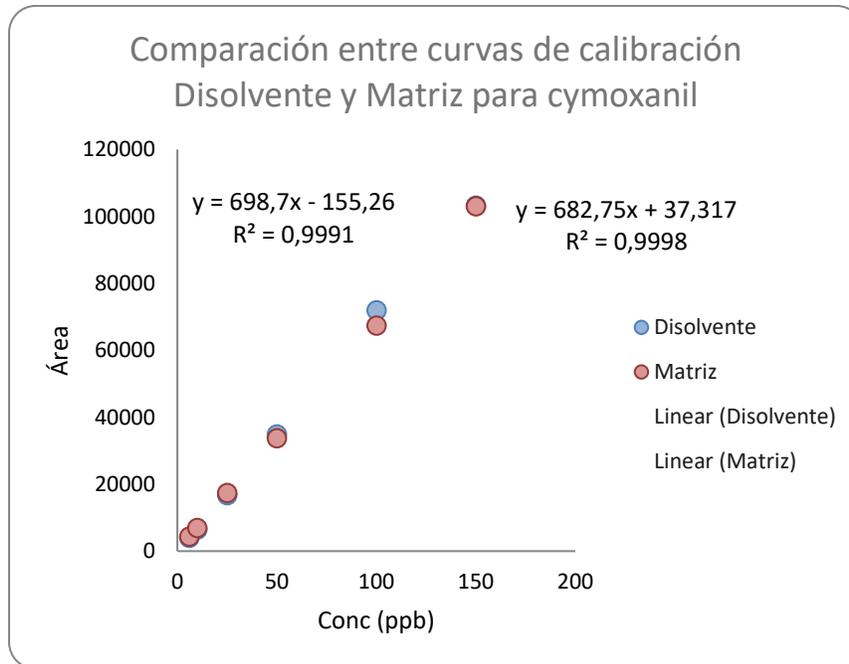


Figura 4.3 Efecto matriz en cymoxanil

Fuente: Autor

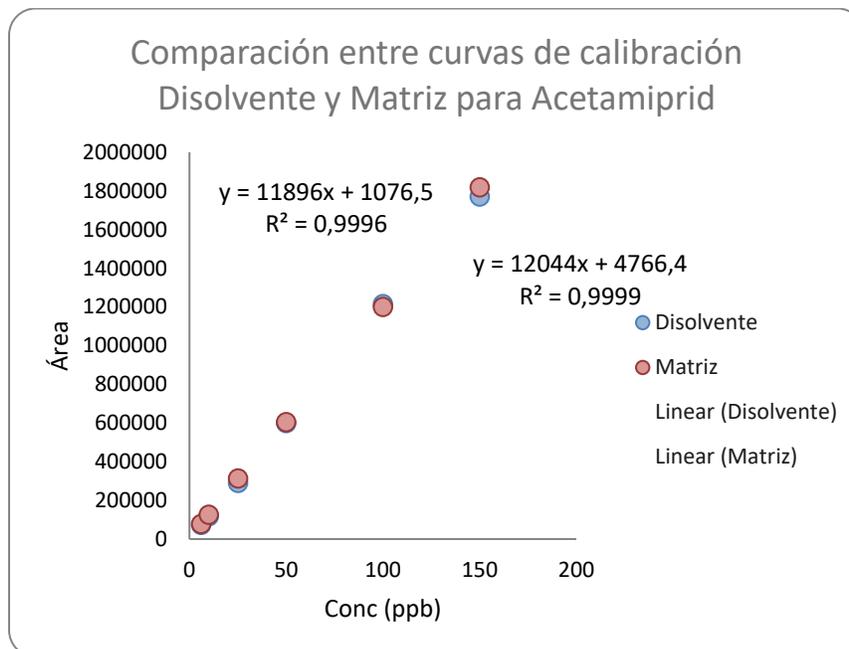


Figura 4.4 Efecto matriz en acetamiprid

Fuente: Autor

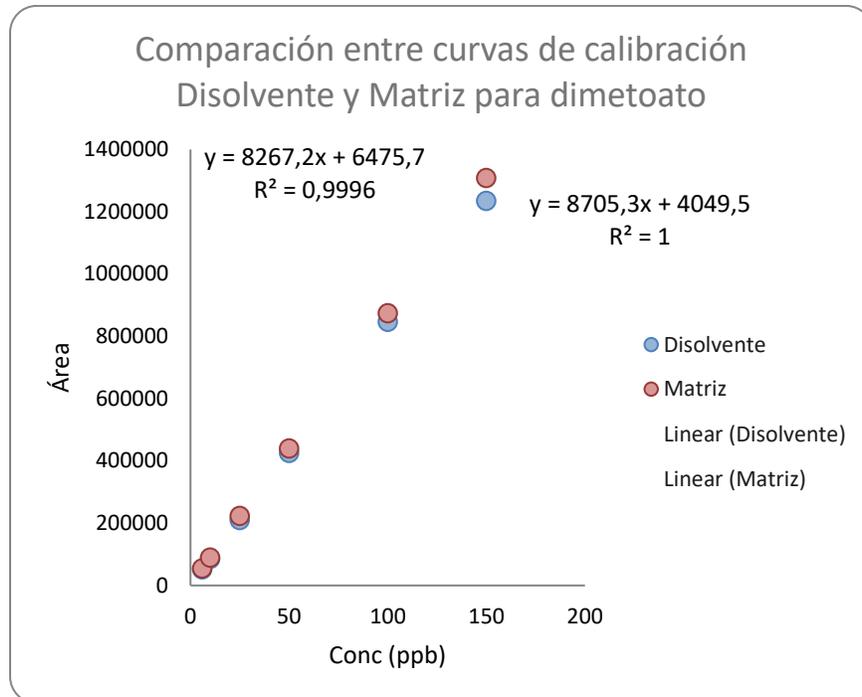


Figura 4.5 Efecto matriz en dimetoato

Fuente: Autor

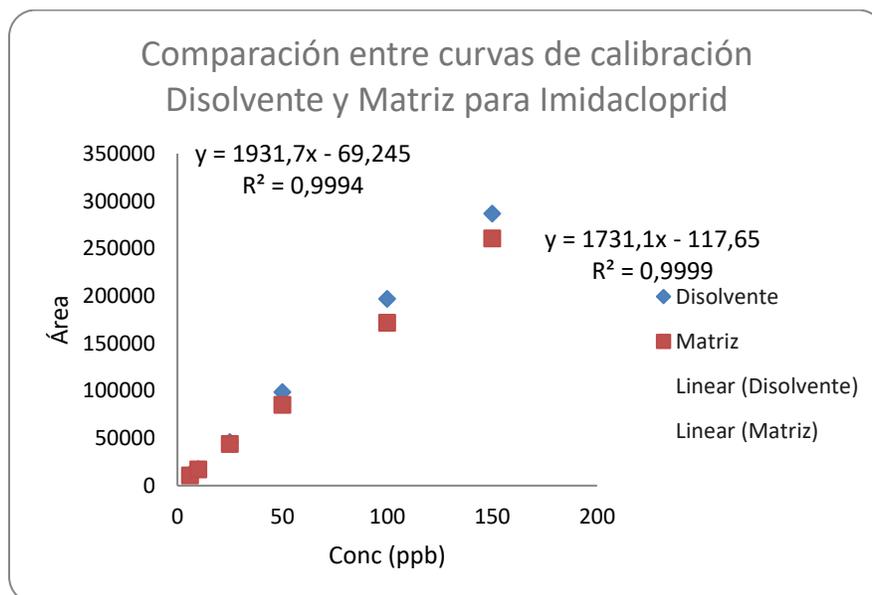


Figura 4.6 Efecto matriz en imidacloprid

Fuente: Autor

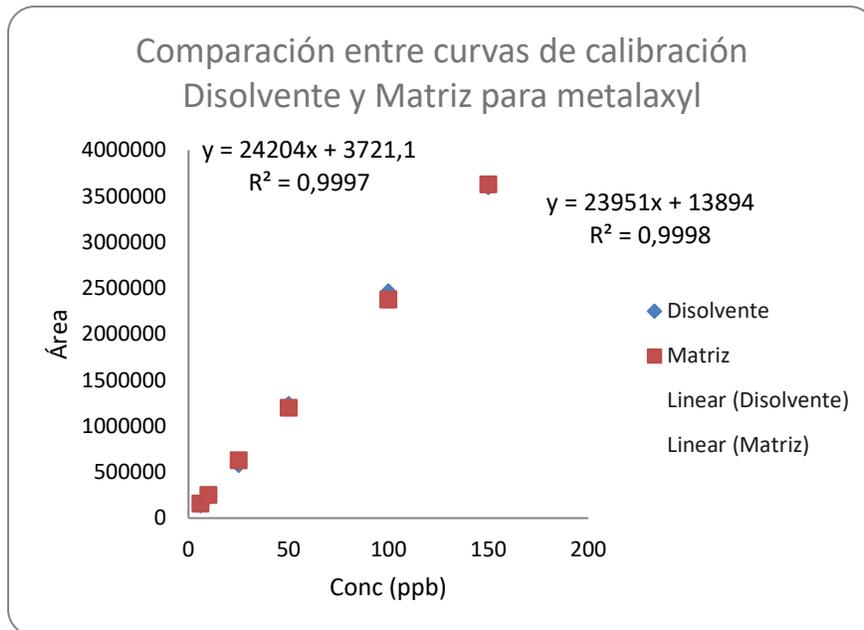


Figura 4.7 Efecto matriz en metalaxyl

Fuente: Autor

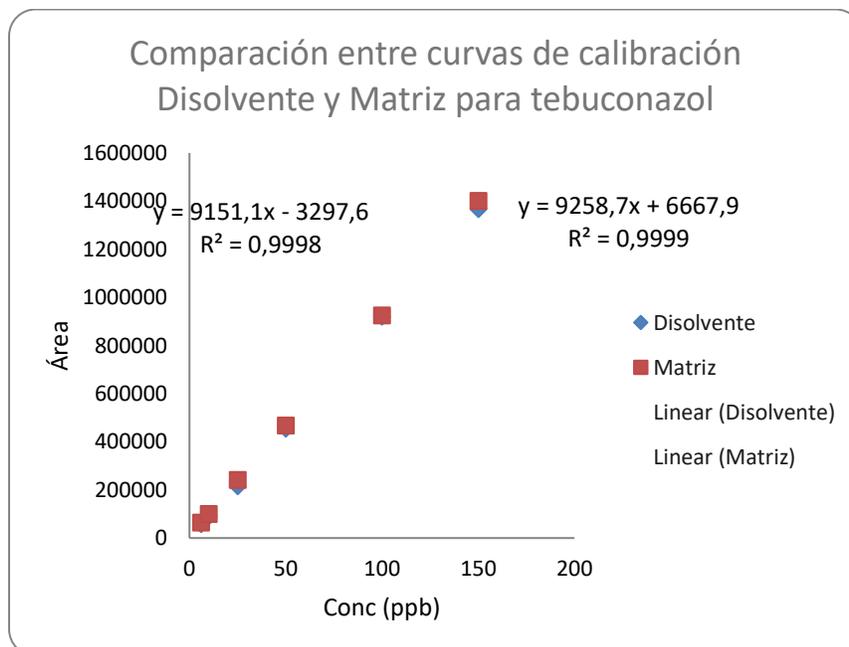


Figura 4.8 Efecto matriz en tebuconazol

Fuente: Autor

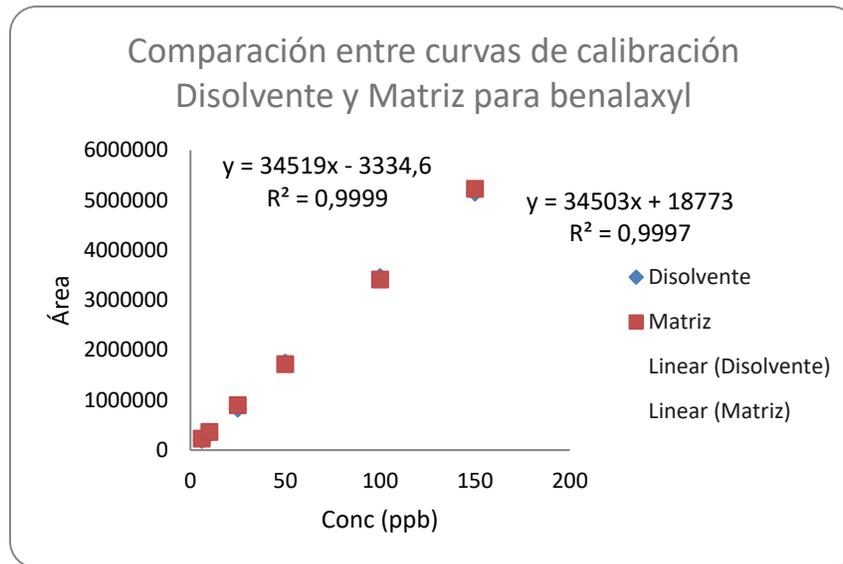


Figura 4.9 Efecto matriz en benalaxyl

Fuente: Autor

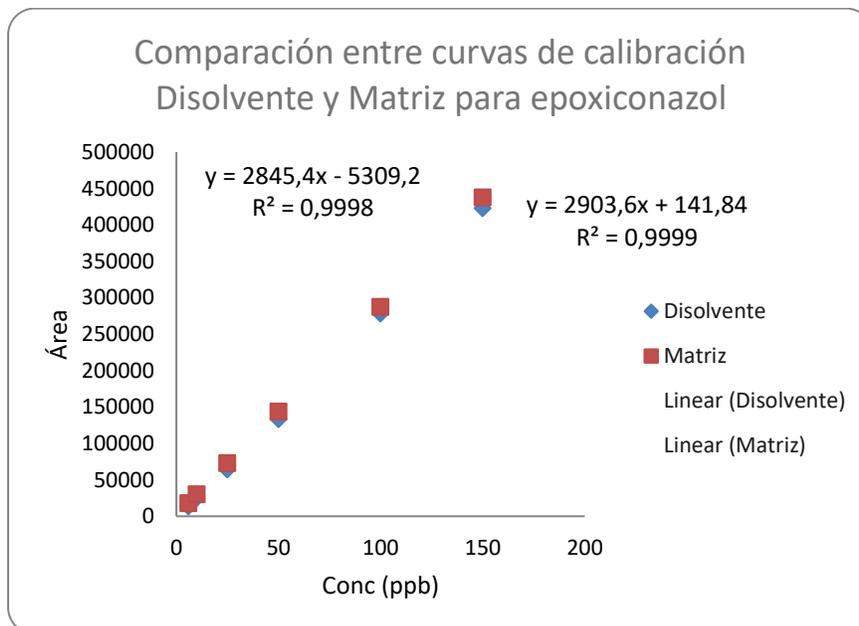


Figura 4.10 Efecto matriz en epoxiconazol

Fuente: Autor

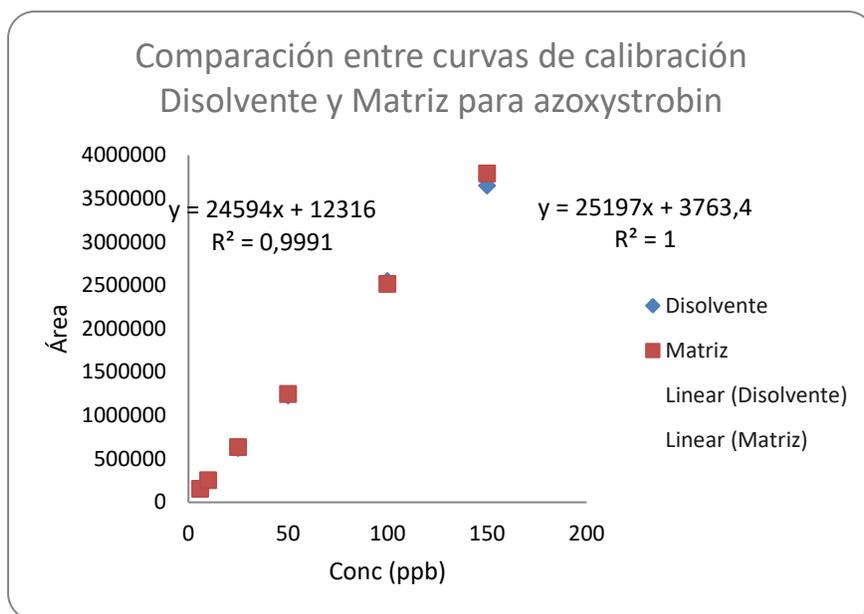


Figura 4.11 Efecto matriz en azoxystrobin

Fuente: Autor

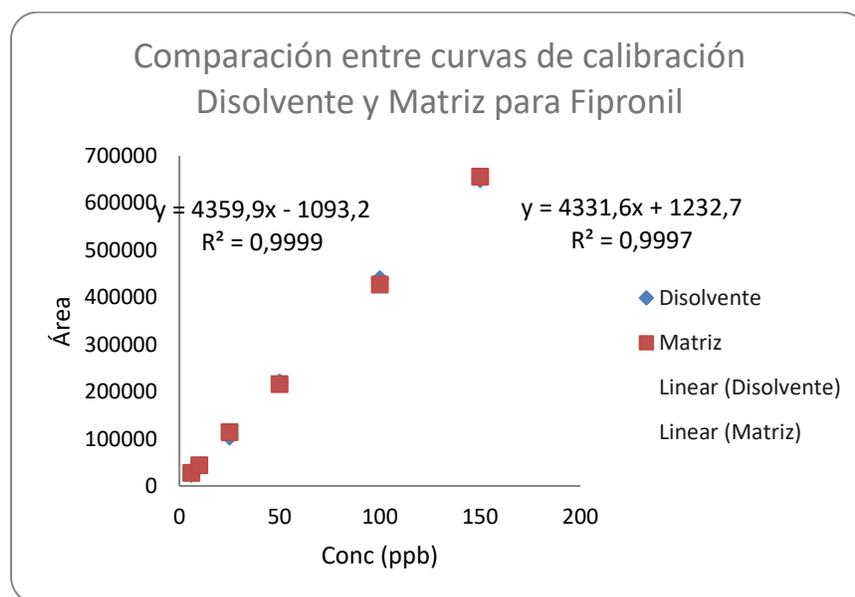


Figura 4.12 Efecto matriz en Fipronil

Fuente: Autor

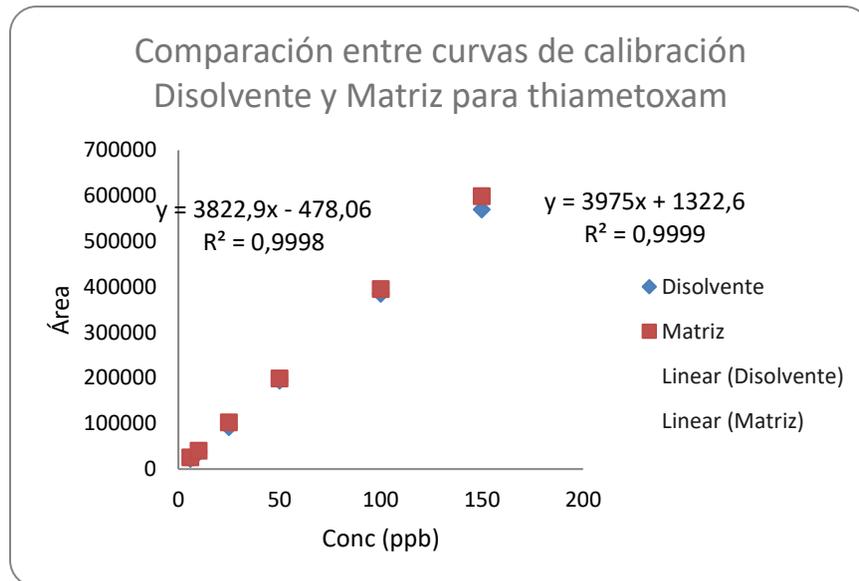


Figura 4.13 Efecto matriz en thiametoxam

Fuente: Autor

Las gráficas desde la 4.2 hasta 4.13, son el resultado de graficar el modelo matemático obtenido con los datos de concentración de los seis niveles (6, 10, 25, 50, 100 y 150 ppm) de los mix de plaguicidas con respecto al área respuesta obtenida a partir del software cromatográfico. En éstas se puede observar que la tendencia de las curvas es muy similar entre ingredientes activos, de manera que varios puntos tienden a superponerse entre ellos, por esa razón no existe diferencia representativa entre las pendientes y cumple con el criterio establecido de efecto matriz.

El cumplimiento del criterio del efecto matriz indica que no existe efecto entre la matriz tomate de árbol sobre los ingredientes activos analizados. Por lo tanto, los modelos matemáticos se ajustan de manera similar tanto en solvente como en matriz, por lo que se puede realizar la curva de calibración para todos los ingredientes activos tanto en solvente como en matriz blanco de tomate de árbol. Sin embargo, conforme con el procedimiento de la tabla 3, las actividades para realizar la curva de calibración en solvente van desde el paso 17, mientras que para la curva de calibración en matriz se deben cumplir todos y adicionalmente, contar con matriz libre de plaguicidas.

4.3. Sensibilidad de la curva de calibración y determinación de residuales

Para evaluar los parámetros de validación de la metodología, se seleccionaron 3 ingredientes activos de mayor incidencia en los cultivos de tomate de árbol, azoxystrobin, thiametoxam y acetamiprid. Adicionalmente y con el fin de realizar los cálculos en relativo, se utilizó como estándar interno el deuterado de atrazina-d5,

4.3.1. Parámetros de validación de azoxystrobin

En las figuras 4.14 y 4.15 se presentan las gráficas de las curvas de calibración en absoluto y en relativo, a partir de ellas se obtuvieron los modelos matemáticos requeridos para obtener la concentración retro calculada.

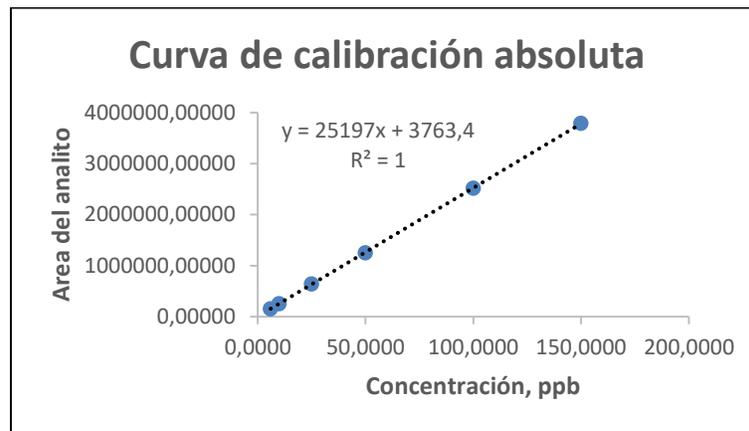


Figura 4.14 Curva de calibración absoluta de azoxystrobin

Fuente: Autor

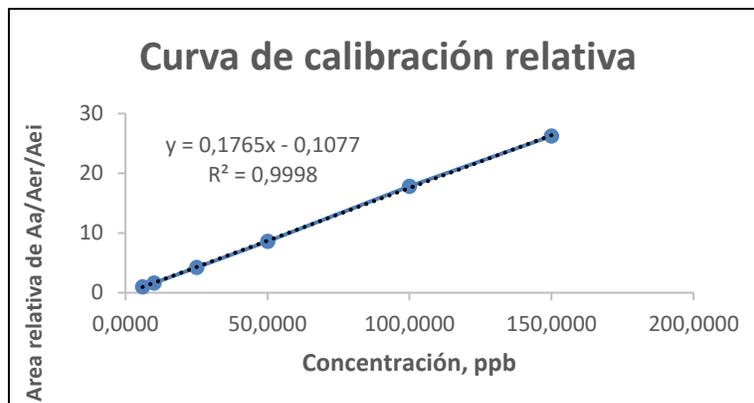


Figura 4.15 Curva de calibración relativa de azoxystrobin

Fuente: Autor

A partir del área de respuesta del equipo cromatográfico y mediante las ecuaciones obtenidas desde las curvas de calibración, se retro calculó la concentración. En la tabla 8

se muestran los resultados obtenidos para cada nivel y el cumplimiento del parámetro de sensibilidad/linealidad establecido en la guía SANTE 11312.

Tabla 8
Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de azoxystrobin

Concentración real (ppb)	Concentración absoluta retro calculada (ppb)	Exactitud (%)	Concentración relativa retro calculada (ppb)	Exactitud(%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20\%$
6,0000	6,109842166	101,8	6,301507115	105,0	Cumple en A y R
10,0000	10,09145319	100,9	9,929225305	99,3	Cumple en A y R
25,0000	25,2349971	100,9	24,71705874	98,9	Cumple en A y R
50,0000	49,53563043	99,1	49,25483422	98,5	Cumple en A y R
100,0000	99,76883203	99,8	101,5275134	101,5	Cumple en A y R
150,0000	150,2592451	100,2	149,2698613	99,5	Cumple en A y R

Fuente: Autor

La guía indica que la curva de calibración debe realizarse con un mínimo de 5 niveles, por tal motivo se cumplió con el requisito, al realizarlo con 6 niveles. Conforme con el criterio establecido, se cumplen los criterios de aceptación de sensibilidad/linealidad.

El cálculo de los residuales es otro parámetro importante que abarca la validación de la metodología. En la tabla 9 se presentan los datos por lo tanto con las mismas ecuaciones de obtenidos de área obtenido a partir de la concentración teórica mediante el uso de las ecuaciones de la curva de calibración absoluta y relativa. Además, se pueden observar el cálculo de los residuales de área (diferencia entre el valor real menos el teórico) y la desviación.

Tabla 9
Cumplimiento del parámetro residuales de azoxystrobin

ABSOLUTOS					
Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m* C)+ intercepto	Residual= Aexp - Ateórica	% desvío= (Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20\%$
6	157716,07	154948,33	2767,75	1,79	Cumple
10	258042,68	255738,29	2304,39	0,90	Cumple
25	639622,00	633700,66	5921,34	0,93	Cumple
50	1251937,00	1263637,95	-11700,95	-0,93	Cumple
100	2517687,67	2523512,52	-5824,85	-0,23	Cumple
150	3789919,42	3783387,09	6532,33	0,17	Cumple

RELATIVOS					
Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m* C)+ intercepto	Residual= Aexp - Ateórica	% desvío= (Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación ≤ ± 20 %
6	1,00	0,95	0,05	5,59	Cumple
10	1,65	1,66	-0,01	-0,75	Cumple
25	4,26	4,31	-0,05	-1,16	Cumple
50	8,59	8,72	-0,13	-1,51	Cumple
100	17,82	17,55	0,27	1,54	Cumple
150	26,24	26,37	-0,13	-0,49	Cumple

Fuente: Autor

Con el fin de que se pueda apreciar de mejor manera, en la figura 16 y 17 se demuestra que los residuales para azoxystrobin están dentro del criterio de aceptación.

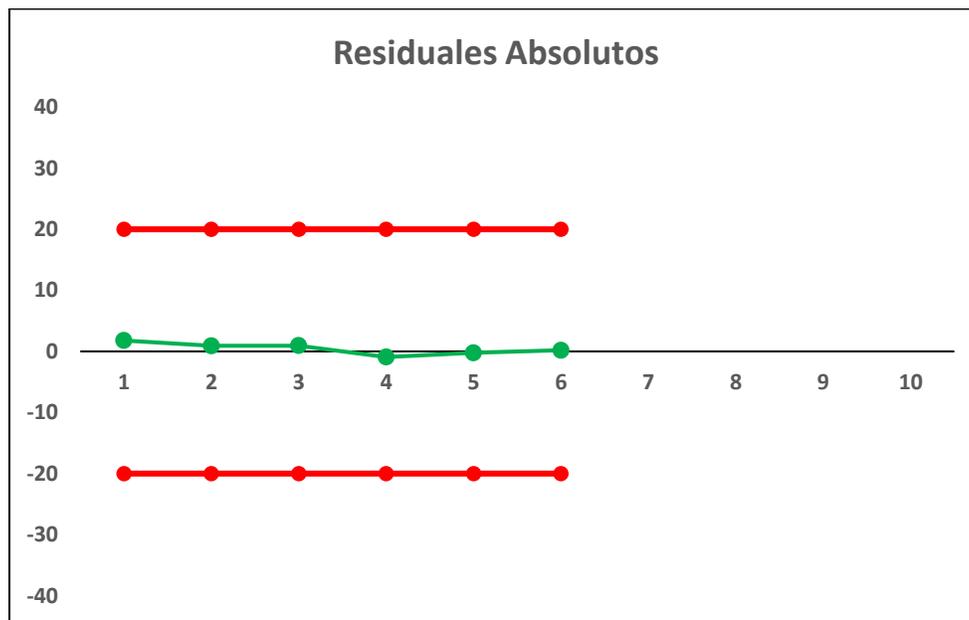


Figura 4.16 Gráfico de residuales absolutos de azoxystrobin

Fuente: Autor

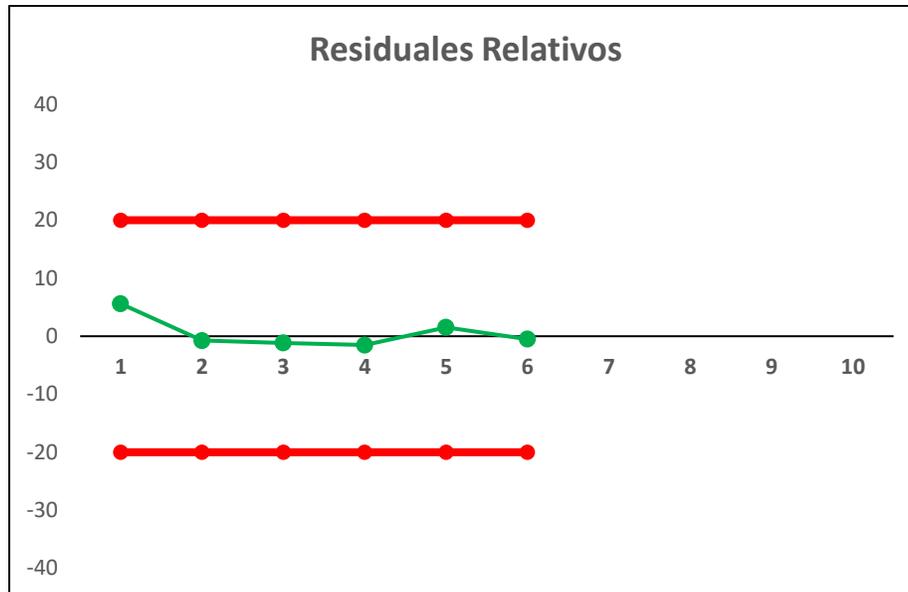


Figura 4.17 Gráfico de residuales absolutos de azoxystrobin

Fuente: Autor

4.3.2. Parámetros de validación de thiametoxam

En las figuras 4.18 y 4.19 se presentan las gráficas de las curvas de calibración en absoluto y en relativo, a partir de ellas se obtuvieron los modelos matemáticos requeridos para obtener la concentración retro calculada para thiametoxam.

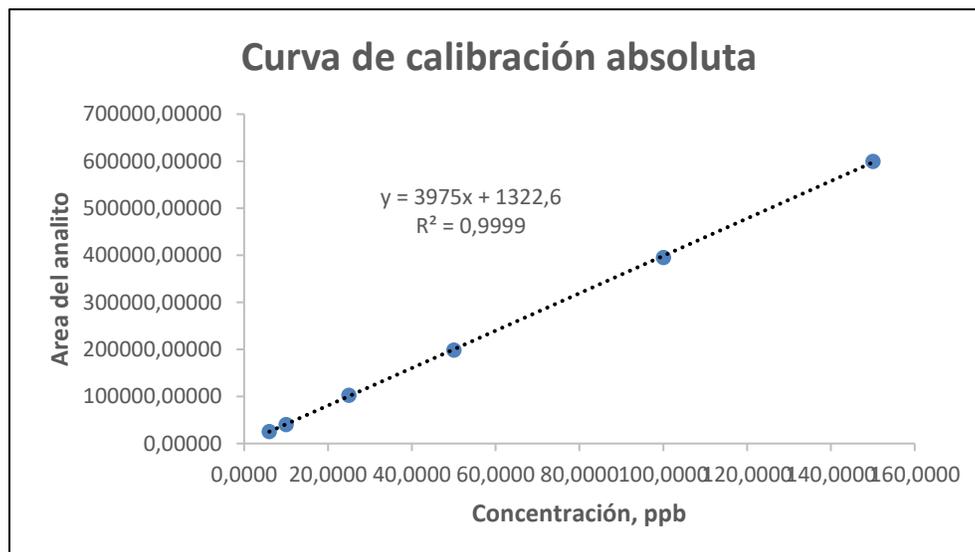


Figura 4.18 Curva de calibración absoluta de thiametoxam

Fuente: Autor

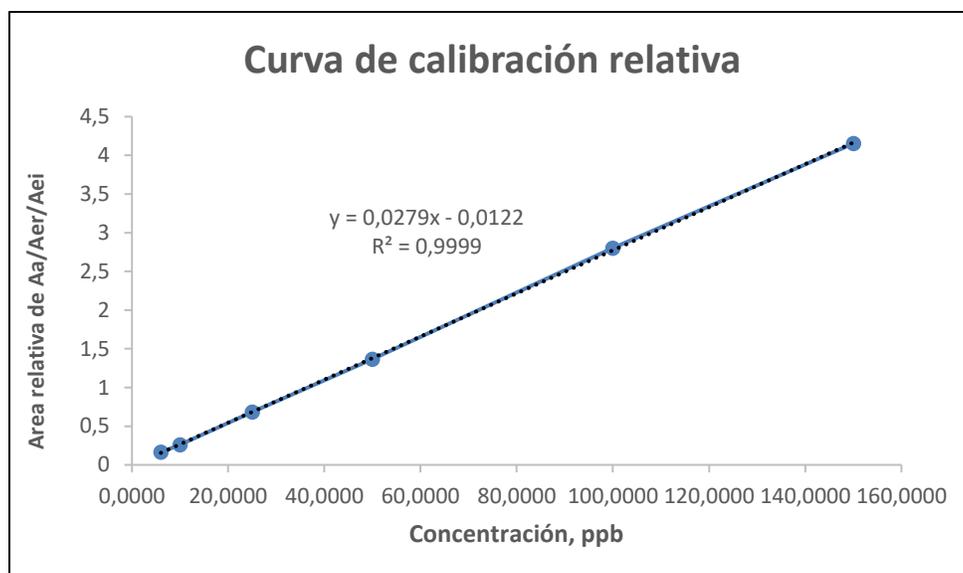


Figura 4.19 Curva de calibración relativa de thiametoxam

Fuente: Autor

A partir del área de respuesta del equipo cromatográfico y mediante las ecuaciones obtenidas desde las curvas de calibración, se retro calculó la concentración. En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos para cada nivel y el cumplimiento del parámetro de sensibilidad/linealidad establecido en la guía SANTE 11312.

Tabla 10
Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de thiametoxam

Concentración real (ppb)	Concentración absoluta retro calculada (ppb)	Exactitud (%)	Concentración relativa retro calculada (ppb)	Exactitud (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20$ %
6	6,119340531	102,0	6,306268988	105,1	Cumple en A y R
10	9,929471639	99,3	9,777842651	97,8	Cumple en A y R
25	25,46941565	101,9	24,94198833	99,8	Cumple en A y R
50	49,71784249	99,4	49,43932033	98,9	Cumple en A y R
100	99,24455457	99,2	101,0063744	101,0	Cumple en A y R
150	150,5193751	100,3	149,5282053	99,7	Cumple en A y R

Fuente: Autor

La guía indica que la curva de calibración debe realizarse con un mínimo de 5 niveles, por tal motivo se cumplió con el requisito, al realizarlo con 6 niveles. Conforme con el criterio establecido, se cumplen los criterios de aceptación de sensibilidad/linealidad para el activo thiametoxam.

El cálculo de los residuales es otro parámetro importante que abarca la validación de la metodología. En la tabla 11 se presentan los datos por lo tanto con las mismas ecuaciones de obtenidos de área obtenido a partir de la concentración teórica mediante el uso de las ecuaciones de la curva de calibración absoluta y relativa. Además, se pueden observar el cálculo de los residuales de área (diferencia entre el valor real menos el teórico) y la desviación.

Tabla 11
Cumplimiento del parámetro residuales de thiametoxam

ABSOLUTOS					
Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m*C)+intercepto	Residual= Aexp - Ateórica	% desvío= (Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20$ %
6	25646,82	25172,44	474,37	1,88	Cumple
10	40791,97	41072,32	-280,35	-0,68	Cumple
25	102562,78	100696,86	1865,91	1,85	Cumple
50	198949,53	200071,10	-1121,57	-0,56	Cumple
100	395816,70	398819,57	-3002,87	-0,75	Cumple
150	599632,54	597568,04	2064,50	0,35	Cumple
RELATIVOS					
Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m*C)+intercepto	Residual= Aexp - Ateórica	% desvío= (Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20$ %
6	0,16	0,15	0,01	0,16	Cumple
10	0,26	0,27	-0,01	0,26	Cumple
25	0,68	0,68	0,00	0,68	Cumple
50	1,36	1,38	-0,02	1,36	Cumple
100	2,80	2,77	0,03	2,80	Cumple
150	4,15	4,17	-0,01	4,15	Cumple

Fuente: Autor

Con el fin de que se pueda apreciar de mejor manera, en la figura 20 y 21 se demuestra que los residuales están dentro del criterio de aceptación para thiametoxam.



Figura 4.20 Gráfico de residuales absolutos de thiametoxam

Fuente: Autor

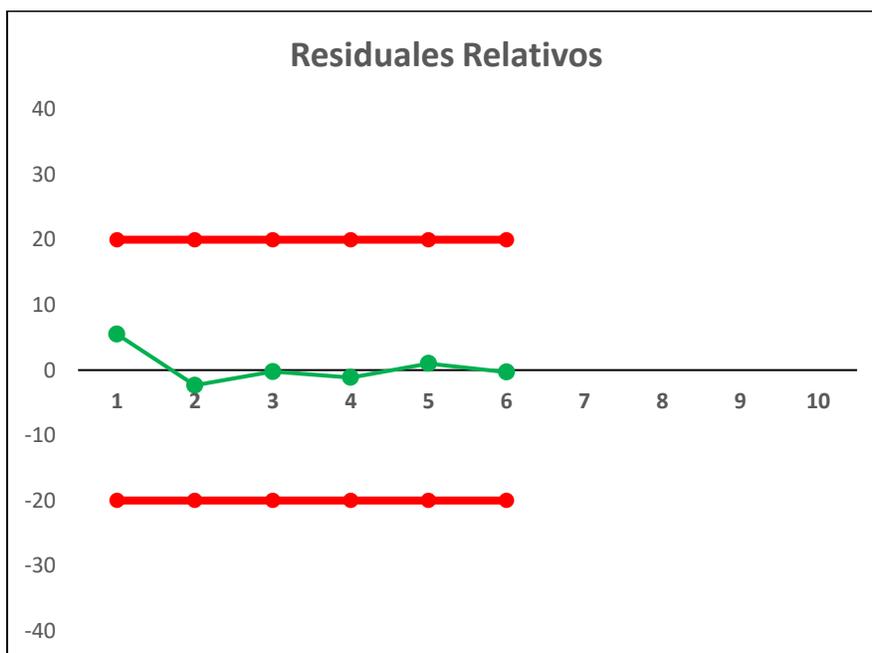


Figura 4.21 Gráfico de residuales absolutos de thiametoxam

Fuente: Autor

4.3.3. Parámetros de validación de Acetamiprid

En las figuras 4.22 y 4.23 se presentan las gráficas de las curvas de calibración en absoluto y en relativo, a partir de ellas se obtuvieron los modelos matemáticos requeridos para obtener la concentración retro calculada para el ingrediente activo acetamiprid

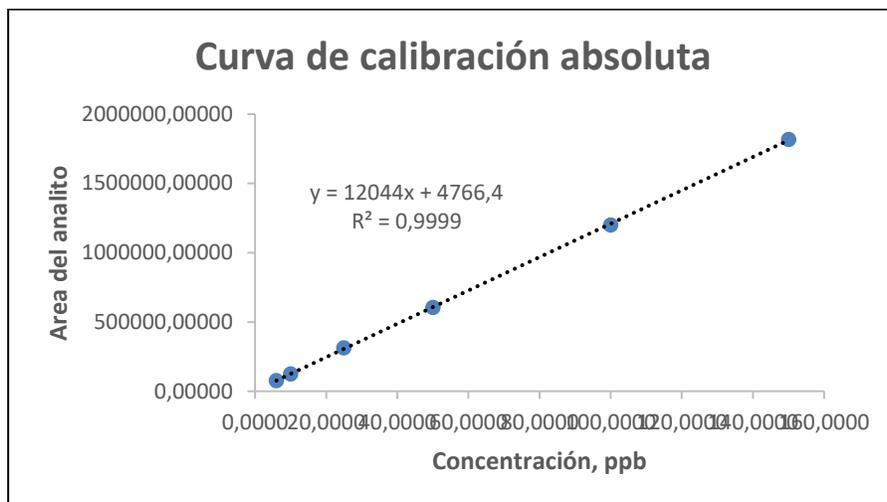


Figura 4.22 Curva de calibración absoluta de acetamiprid

Fuente: Autor

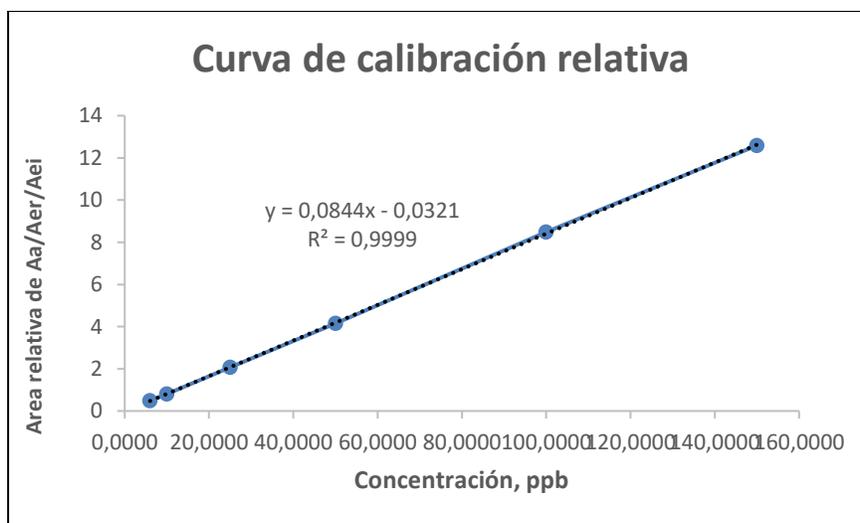


Figura 4.23 Curva de calibración relativa de acetamiprid

Fuente: Autor

A partir del área de respuesta del equipo cromatográfico y mediante las ecuaciones obtenidas desde las curvas de calibración, se retro calculó la concentración de acetamiprid.

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos para cada nivel y el cumplimiento del parámetro de sensibilidad/linealidad establecido en la guía SANTE 11312.

Tabla 12
Cumplimiento del parámetro sensibilidad/linealidad de acetamiprid

Concentración real (ppb)	Concentración absoluta retro calculada (ppb)	Exactitud (%)	Concentración relativa retro calculada (ppb)	Exactitud (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20$ %
6	6,01888303	100,31	6,213014974	103,55	Cumple en A y R
10	9,971617473	99,72	9,81424995	98,14	Cumple en A y R
25	25,523465	102,09	24,99354615	99,97	Cumple en A y R
50	49,78795925	99,58	49,50952392	99,02	Cumple en A y R
100	99,14050696	99,14	100,9037038	100,90	Cumple en A y R
150	150,5575683	100,37	149,5659612	99,71	Cumple en A y R

Fuente: Autor

La guía indica que la curva de calibración debe realizarse con un mínimo de 5 niveles, por tal motivo se cumplió con el requisito, al realizarlo con 6 niveles. Conforme con el criterio establecido, se cumplen los criterios de aceptación de sensibilidad/linealidad para el activo acetamiprid.

El cálculo de los residuales es otro parámetro importante que abarca la validación de la metodología. En la tabla 13 se presentan los datos por lo tanto con las mismas ecuaciones de obtenidos de área obtenido a partir de la concentración teórica mediante el uso de las ecuaciones de la curva de calibración absoluta y relativa. Además, se pueden observar el cálculo de los residuales de área (diferencia entre el valor real menos el teórico) y la desviación.

Tabla 13
Cumplimiento del parámetro residuales de acetamiprid

ABSOLUTOS					
Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m*C)+intercepto	Residual=Aexp - Ateórica	% desvío=(Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación $\leq \pm 20$ %
6	77256,19	77028,77	227,42	0,30	Cumple
10	124861,89	125203,72	-341,83	-0,27	Cumple
25	312164,24	305859,77	6304,47	2,06	Cumple
50	604399,42	606953,18	-2553,76	-0,42	Cumple
100	1198788,50	1209140,01	-10351,51	-0,86	Cumple
150	1818042,04	1811326,84	6715,21	0,37	Cumple
RELATIVOS					

Concentración real (ppb)	Área experimental	A teórica=(m*C)+intercepto	Residual=Aexp - Ateórica	% desvío=(Residual/valor teórico)*100 (%)	Criterio SANTE 11312 Desviación ≤ ± 20 %
6	0,49	0,47	0,02	3,79	Cumple
10	0,80	0,81	-0,02	-1,93	Cumple
25	2,08	2,08	0,00	-0,03	Cumple
50	4,15	4,19	-0,04	-0,99	Cumple
100	8,48	8,41	0,08	0,91	Cumple
150	12,59	12,63	-0,04	-0,29	Cumple

Fuente: Autor

Con el fin de que se pueda apreciar de mejor manera, en la figura 4.24 y 4.25 se demuestra que los residuales están dentro del criterio de aceptación para el ingrediente activo acetamiprid.



Figura 4.24 Gráfico de residuales absolutos de acetamiprid

Fuente: Autor

activos de plaguicidas	Azoxystrobin	8	5	7	4	11	8	4	3	50
	Thiametoxam	12	9	0	0	15	10	3	1	50
	Acetamiprid	14	7	6	5	7	6	3	2	50
	Tebuconazol	10	10	0	0	18	9	2	1	50
	Imidacloprid	12	9	0	0	10	7	8	4	50
	Cymoxanil	12	6	0	0	14	11	4	3	50
	Metomil	12	10	0	0	14	8	4	2	50
	Epoxiconazol	21	15	0	0	9	5	0	0	50
	Metalaxyl	17	11	3	5	10	4	0	0	50
	Dimetoato	17	11	10	2	3	7	0	0	50
	Fipronil	21	15	0	0	8	5	1	0	50
	Benalaxyl	22	16	0	0	6	3	2	1	50

Fuente: Autor

Los ingredientes activos con menor detección fueron epoxiconazol, metalaxyl, dimetoato, Fipronil y benalaxyl, con un porcentaje entre el 33 y 44 %, mientras que los de mayor detección fueron azoxystrobin, cymoxanil, tebuconazol, thiametoxam, acetamiprid, imidacloprid y metomil, en una participación entre el 56 al 74 %.

En las muestras tomadas en los mercados se determinó la presencia de algunos residuos de plaguicidas en concentraciones superiores a las máximas permitidas. Se encontraron 12 incidencias con imidacloprid; 7 con azoxystrobin y cymoxanil; 6 con metomil; 5 con acetamiprid; 4 con thiametoxam; 3 con tebuconazol y benalaxyl; y 1 caso con fipronil. En la tabla 15, se puede observar el nivel de contenido de residuos de plaguicidas en cada una de las muestras y se ha determinado que 28 no son aptas para el consumo y/o comercialización (Pérez et al., 2013).

	24	Red	Red	Green	Yellow	Yellow	Green	Red	Green	Yellow	Blue	Green	Green	NO
	25	Green	Green	Blue	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Green	Blue	Green	Green	Green	SI
	26	Yellow	Red	Green	Red	Red	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	NO
	27	Blue	Green	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	SI
	28	Red	Yellow	Green	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Green	Blue	Green	Green	Green	NO
	29	Blue	Yellow	Blue	Yellow	Red	Yellow	Red	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	NO
	30	Green	Yellow	Green	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Blue	Green	Green	Green	SI
Mercados y supermercados de D.M. Quito	1	Yellow	Yellow	Blue	Green	Green	Yellow	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	SI
	2	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	SI
	3	Green	Green	Green	Green	Yellow	Red	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	NO
	4	Red	Green	Green	Yellow	Red	Red	Yellow	Yellow	Blue	Green	Green	Red	NO
	5	Yellow	Yellow	Blue	Green	Red	Green	Green	Green	Blue	Yellow	Green	Green	NO
	6	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	SI
	7	Yellow	Red	Red	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	Blue	Green	Green	NO
	8	Blue	Yellow	Green	Yellow	Green	Green	Red	Green	Green	Yellow	Green	Green	NO
	9	Blue	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Green	SI
	10	Yellow	Green	Blue	Red	Red	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Yellow	NO
	11	Green	Green	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Blue	Yellow	Green	Green	SI
	12	Red	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Red	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	NO
	13	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Red	Yellow	Green	Yellow	Green	Green	NO
	14	Green	Green	Red	Green	Red	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Green	Yellow	NO
	15	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	SI
	16	Red	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Blue	Green	Green	Green	NO
	17	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Blue	Green	Yellow	SI
18	Blue	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	SI	
19	Yellow	Green	Blue	Green	Green	Green	Green	Green	Blue	Green	Green	Green	SI	
20	Green	SI												

Fuente: Autor

4.5. Análisis histórico sobre la presencia de residuos de plaguicidas

Los datos de muestras analizadas por laboratorio de Contaminantes Agrícolas de Agrocalidad, organismo regulador en el país, se obtuvieron desde las bases de datos de los años 2020 a julio de 2024. De manera general, en la figura 4.26 se muestran los datos del número de muestras analizadas en cada uno de los años.

La cantidad de muestras analizadas no tiene una tendencia definida, esto se debe a que la demanda de análisis depende de varios factores sin tendencias definidas; por ejemplo, la asignación de recursos gubernamentales e institucionales, implementación de programas de control, necesidad de clientes externos con fines de exportación, investigaciones, entre otros. De igual manera, el número de muestras libres de residuos de plaguicidas con respecto al número de muestras a las que se les detectaron plaguicidas, tampoco proveen una tendencia entre años, probablemente se debe a la incertidumbre sobre el ataque de plagas.

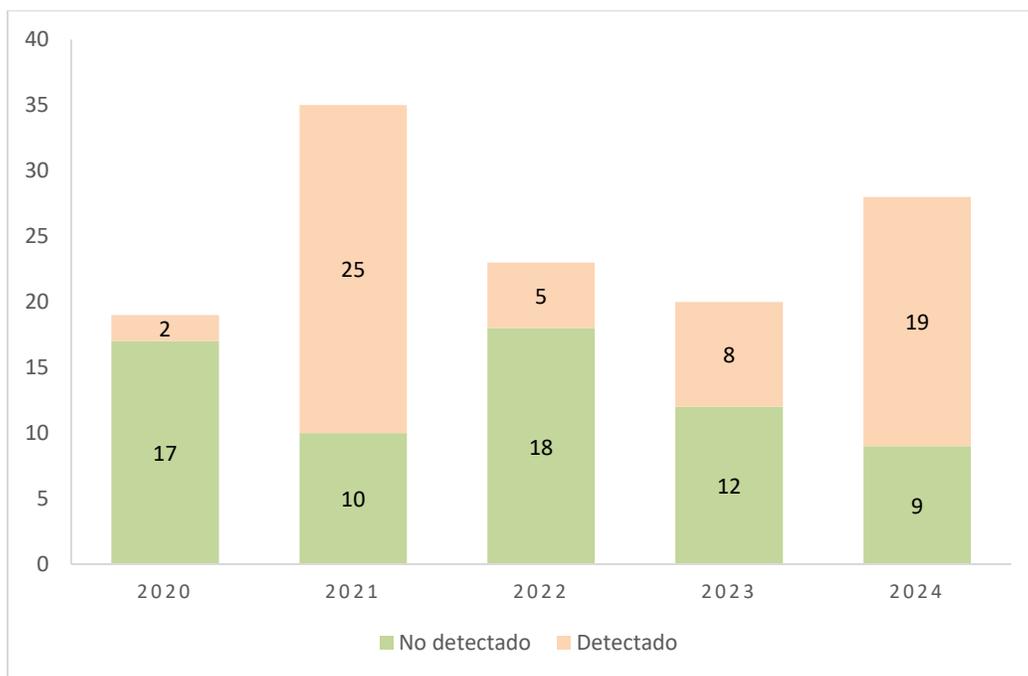


Figura 4.26 Muestras analizadas por el laboratorio de Contaminantes agrícolas

Fuente: Agrocalidad

En el año 2020 se detectaron 2 muestras con residuos de plaguicidas, de un total de 19 muestras analizadas. Sin embargo, en 2023 al analizar un número de muestras similar, se detectaron residuos en 8 muestras, lo que indica que no existe tendencia entre el número de muestras analizadas con respecto a la detección.

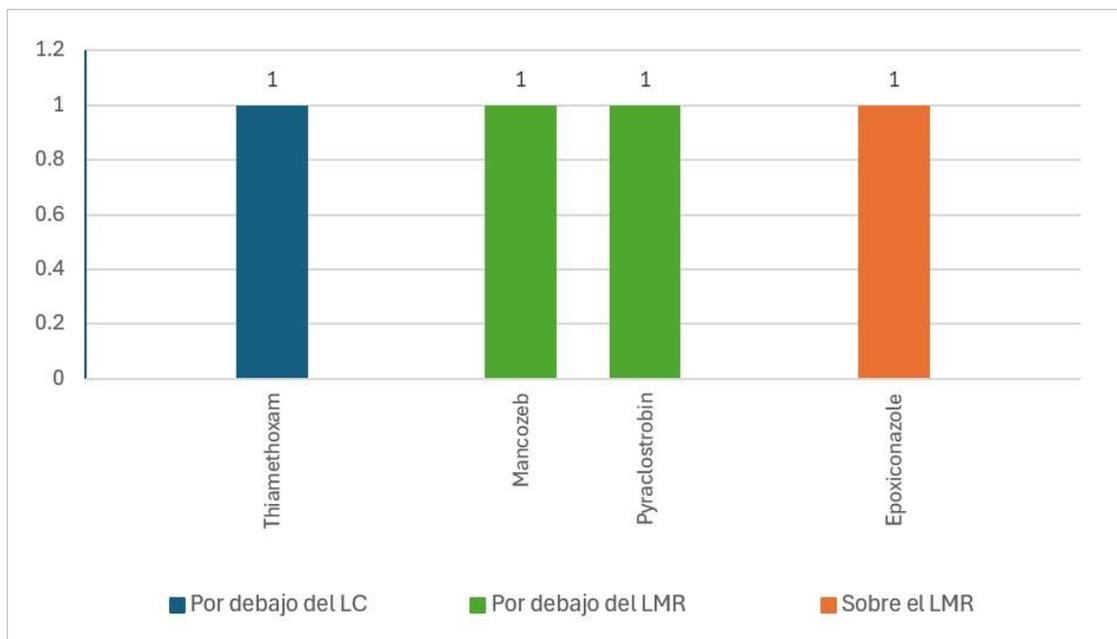


Figura 4.27 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2020

Fuente: Agrocalidad

En la figura 4.27 se detallan los ingredientes activos detectados en las 2 muestras del año 2020. En este periodo se tuvo 1 incidencia con thiametoxam bajo el LC; 2 bajo el LMR con mancozeb y pyraclostrobin; y 1 sobre el LMR con epoxiconazol.

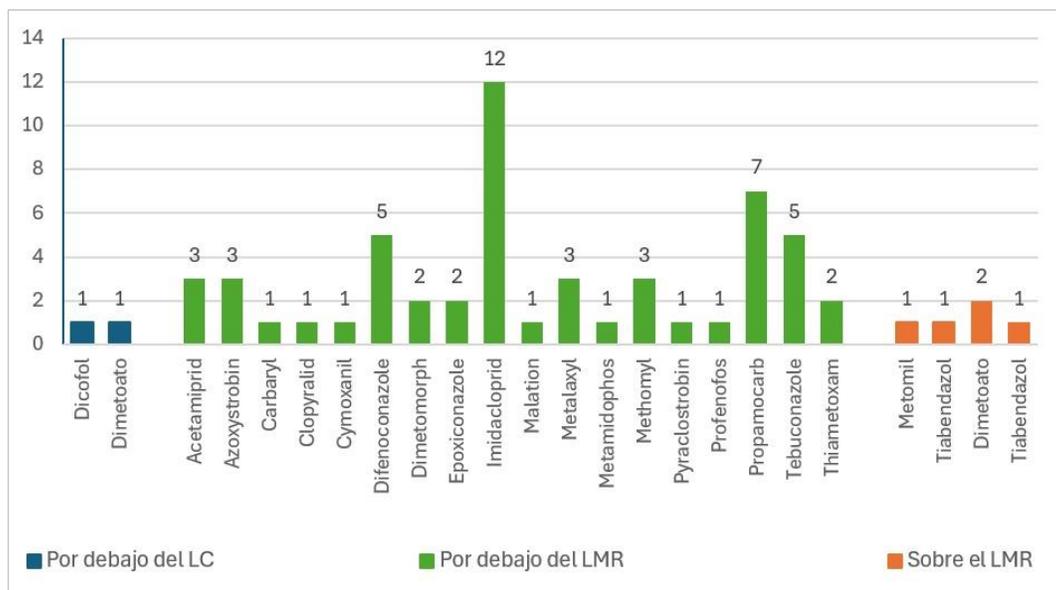


Figura 4.28 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2021

Fuente: Agrocalidad

En la figura 4.28 se presenta el detalle de todos los residuos de plaguicidas detectados en las 25 muestras del año 2021. De un total de 61 incidencias encontradas, 2 se hallaron bajo el LC, 54 bajo el LMR y 5 sobre el LMR. En este año se observa un mayor número de ingredientes activos bajo el LMR.

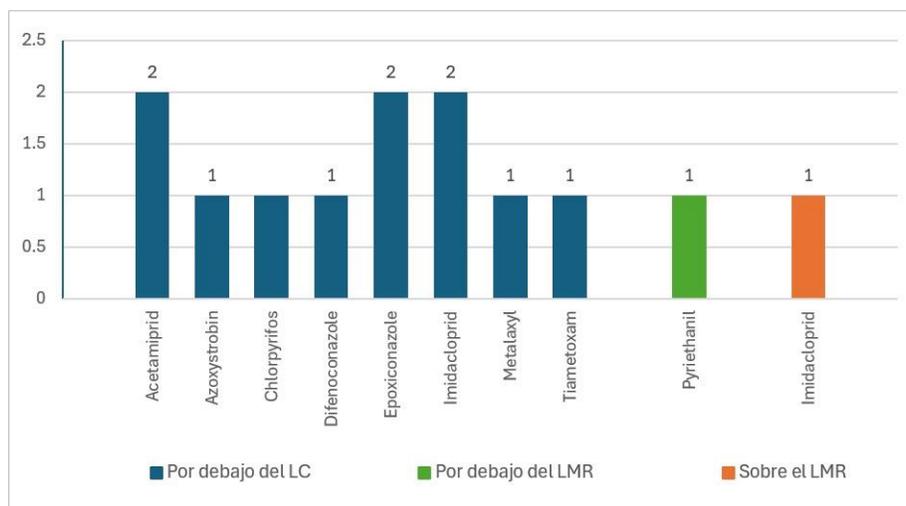


Figura 4.29 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2022

Fuente: Agrocalidad

En la figura 4.29 se detallan los residuos de plaguicidas detectados en las 5 muestras del año 2022. De un total de 13 incidencias encontradas, 11 se hallaron bajo el LC, 1 bajo el LMR y 1 sobre el LMR. En este periodo se presenta una mayor proporción de ingredientes activos bajo el LC.

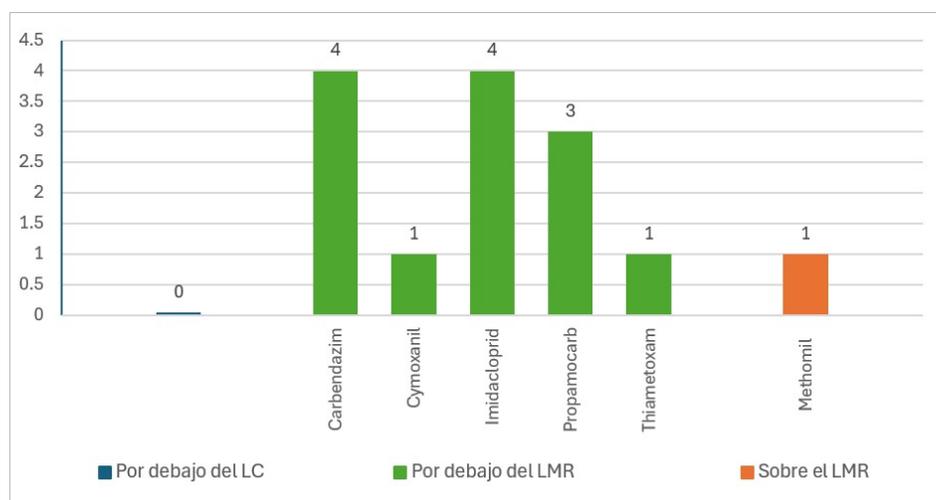


Figura 4.30 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2023

Fuente: Agrocalidad

En la figura 4.30 se observan los residuos de plaguicidas detectados en las 8 muestras del año 2023. De un total de 14 incidencias encontradas, no se encontraron residuos bajo el LC, pero se hallaron 13 bajo el LMR y 1 sobre el LMR. En este periodo se presenta un mayor porcentaje de ingredientes activos bajo el LMR.

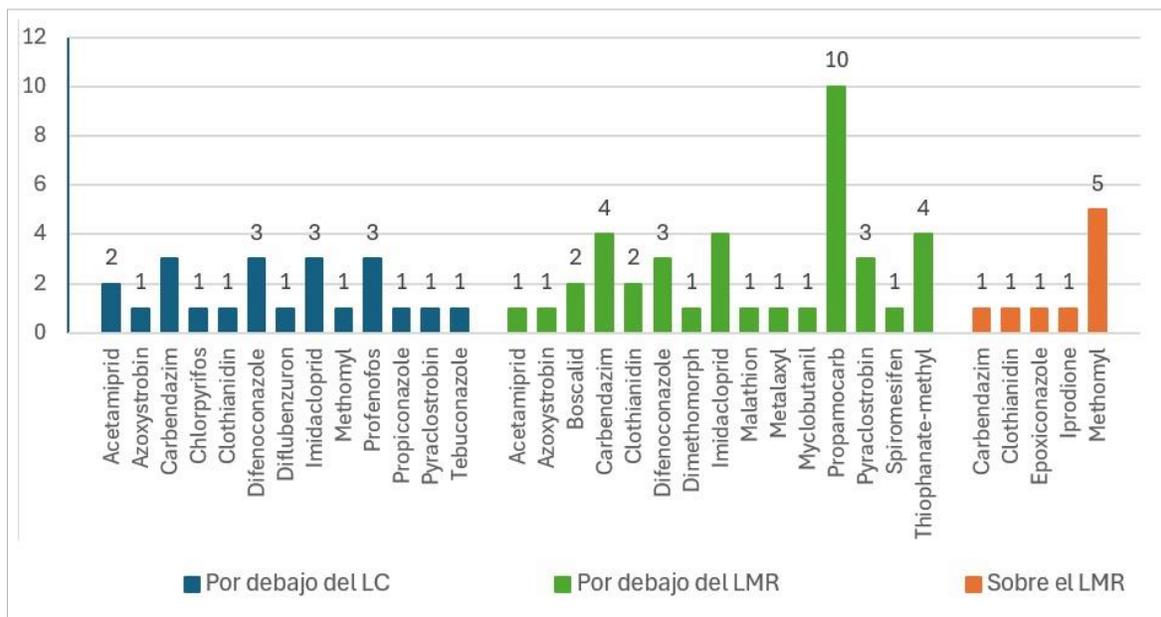


Figura 4.31 Residuos de plaguicidas detectados en el año 2024

Fuente: Agrocalidad

En la figura 4.31 se observan los residuos de plaguicidas detectados en las 19 muestras del año 2023. De un total de 70 incidencias encontradas, se encontraron 22 bajo el LC, 39 bajo el LMR y 9 sobre el LMR. En este periodo se presenta una mayor proporción de ingredientes activos bajo el LMR.

Al realizar una comparación general entre los 5 años, se puede evidenciar que los residuos de plaguicidas se encuentran en mayor proporción bajo los LMR. Sin embargo, en todos los años se detectan residuos sobre los LMR.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Dentro de la validación de la metodología para la determinación de residuos de plaguicidas mediante cromatografía LC-MS/MS se determinó que no existió efecto matriz para los ingredientes activos de interés. Por lo tanto, al realizar la curva de calibración en solvente permitirá ahorrar recursos durante los futuros análisis.

El 56 % de las muestras de tomate de árbol comercializado en mercados nacionales se encontraron residuos de 9 plaguicidas con niveles superiores a los máximos permitidos según el Codex alimentarius, esto indica que más de la mitad de los frutos no son aptos para el consumo.

En el análisis histórico de residuos de plaguicidas de tomate de árbol, detectados entre los años 2020 y 2024, se encontró residuos de plaguicidas sobre los LMR, lo cual incide directamente en la inocuidad alimentaria. Por lo que, gracias a este análisis se puede dar un respaldo sobre la importancia de implementar controles para el producto que se comercializa a nivel nacional e internacional.

5.2. Recomendaciones

La validación de las metodologías para la determinación de residuos de plaguicidas es importante, por lo que se recomienda cubrir a diferentes matrices, principalmente a las que no se encuentran reguladas, con el fin de que el facilitar las actividades dentro del laboratorio y controlar la inocuidad de los alimentos de consumo nacional.

El mancozeb es un ingrediente activo con alta frecuencia en el registro de plaguicidas destinados para el cultivo de tomate de árbol, por tal razón se recomienda desarrollar y validar una metodología que permita determinar los residuos en esta matriz específica.

Se recomienda que número de muestras analizadas anualmente incremente, para que se presente una tendencia creciente, mediante el fortalecimiento de los planes de control de alimentos primarios comercializados en mercados a nivel nacional.

El control de residuos de plaguicidas nos permite medir los niveles de persistencia en los productos. Sin embargo, se recomienda desarrollar y difundir prácticas agrícolas que minimicen o eliminen los ingredientes activos residuales en los productos destinados para el comercio y/o consumo.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC Official Method 2007:01. "Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate".
- Barahona, A., Bermeo, B., Chávez, C., Freire, P., Méndez, J., Oleas, M., Ortiz, A., Salas, H., Salazar-Lugo, L., & Santamaria, M. (2016). Efecto consumo de jugo de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) sobre el perfil lipídico y las concentraciones de glucosa en adultos con hiperlipidemia, Ecuador. *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol. #66, No. 2. 14-22. Recuperado a partir de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2016/2/art-4/>
- CAC/GL 33 (1999). Métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR.
- Dávila, M. (2016). Estudio de factibilidad para la producción de tomate de árbol en la provincia de Imbabura y su comercialización en los mercados del Distrito Metropolitano de Quito. Recuperado a partir de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9992/1/T-UCE-0003-AE021-2016.pdf>.
- Feicán, C., Encalada, C., Becerril, A. (2016). Descripción Agronómica del Cultivo de Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *Revista Agro Productividad*, Vol. 9 (Num. 8), 78-86. Recuperado a partir de <https://core.ac.uk/reader/249320590>.
- Font, G., Fernández, M., Ruíz, M. y Picó, Y. (2012). Residuos de Plaguicidas en Alimentos. *Toxicología Alimentaria*. Ediciones Días de Santos. Madrid: España. ISBN 978-84-9969-200-5. Recuperado desde: https://www.google.com.ec/books/edition/Residuos_de_plaguicidas_en_alimentos/4g-uT165s-kC?hl=es-419&gbpv=1&dq=plaguicidas&printsec=frontcover
- Galarza, D., Garcés, S., Velásquez, J., Sánchez, V., Zambrano, J. (2016). El Cultivo de la Mora en el Ecuador. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa Nacional de Fruticultura, <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4878/1/iniapsc355.pdf>
- González, P. (2019). Efecto de los plaguicidas sobre la salud humana. Informe No. SUP: 118.900. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile/ Asesoría técnico Parlamentaria. Recuperado el 21 de agosto a partir de https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/26823/2/Efecto_de_los_plaguicidas_en_la_Salud.pdf.
- INEC (2024). Estimación y proyecciones de población. Obtenido desde <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/proyecciones-poblacionales/>
- ISO/IEC 17025 (2017). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGAP). (2022). Boletín Situación Tomate de Árbol. Ecuador. Recuperado a partir de <https://fliphtml5.com/ijia/plzo/basic>
- Moreno-Miranda, C., Molina, J. Ortiz, J., Peñafiel, C., & Moreno, R. (2020). Cadena de Valor en la red de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Ecuador. *Revista Agronomía Mesoamericana de la Universidad de Costa Rica*, Vol. 31 (1), 13-29. doi:10.15517/am.v31i1.36887.

- Organización Mundial de la Salud. (15 de septiembre de 2022). Residuos de plaguicidas en los alimentos. Recuperado el 16 de octubre de 2022 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>.
- Pérez, M.; Navarro, H. y Miranda, E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: Problemática y Riesgo en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 45-64. Recuperado a partir de <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/41423>.
- Revelo, J., Pérez, E. y Maila, M. (2004). Cultivo Ecológico del Tomate de Árbol en Ecuador: Texto de Consulta del Estudiante. Manual no. 65. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina/PROMSA/FONTAGRO. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2750>
- Revelo, J., Mora, E., Gallegos, P. y Garcés, S. (2008). Enfermedades, Nemátodos e insectos plaga del tomate de árbol (*solanum betaceum Cav.*) una guía para su identificación en campo. Boletín técnico No. 115. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina. Recuperado el 21 de agosto de 2024 a partir de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/513/5/iniapscbt115.pdf>.
- SANTE 11312 v2 (2021). Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed.
- UNE-EN-15662 (2019). Norma española para alimentos de Origen Vegetal. Método múltiple para la determinación de residuos de plaguicidas mediante análisis basados en GC y LC tras extracción con acetonitrilo y limpieza mediante SPE por dispersión. Método QuEChERS.
- Zhao, H., Li, R., Hu, J., F. (2023), Frequently used pesticides and their metabolites residues in apple and apple juice from markets across China: Occurrence and health risk assessment. *LWT - Food Science and Technology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114610>. Elsevier Ltd.