

Optimization of analytical method for simultaneous determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in quinoa samples using GC/MS

Janeth Salas^{a,*}, Bárbara Torrez^b, Rosa Amaro^b, Carlos Ibarra^c, Irán González^c,

^aLaboratorio de Espectrometría de Masas, Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

^bLaboratorio de Métodos Cromatográficos, Centro de Química Analítica, Escuela de Química Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

^cLaboratorio de Bioanalítica, Centro de Estudios Especializados en Química Medicinal, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

Abstract.- In the present work, a simultaneous study was carried out for the determination of organophosphorus and organochlorine pesticides in Quinoa samples from different sources using the GC/MS technique. The commercial samples were of Ecuadorian and Venezuelan origin, subjected to grinding treatment to study the effect of particle size on the QuEChERS extraction process, two different concentrations was considered for the recovery of the pesticides evaluated. The results found showed greater sensitivity of the method for organophosphorus pesticides compared to organochlorines, obtaining good resolution and reproducibility of the results in the simultaneous analysis of pesticides. The recovery study yielded better values for the concentration of 0,1 mg/kg of added pesticide compared with those of 0,01 mg/kg and at particle sizes of the smaller samples.

Keywords: quinoa; QuEChERS; pesticides; organochlorine; organophosphorus; GC/MS.

Optimización de un método analítico para determinación simultánea de pesticidas organoclorados y organofosforados en muestras de quínoa usando GC/MS

Resumen.- En el presente trabajo se realizó un estudio simultáneo para la determinación de pesticidas organofosforados y organoclorados en muestras de quínoa de diferentes procedencias empleando la técnica de GC/MS. Las muestras comerciales fueron de origen ecuatorianas y venezolanas, sometidas a tratamiento de molienda para estudiar el efecto del tamaño de partícula sobre el proceso de extracción QuEChERS, se consideraron dos concentraciones diferentes para la recuperación de los pesticidas evaluados. Los resultados encontrados mostraron mayor sensibilidad del método para los pesticidas organofosforados comparados con los organoclorados, obteniéndose buena resolución y reproducibilidad de los resultados en el análisis simultáneo de los pesticidas. El estudio de recuperación arrojó mejores valores para la concentración de 0,1 mg/kg de pesticida añadido comparados con los de 0,01 mg/kg y a tamaños de partículas de las muestras más pequeñas.

Palabras clave: quínoa; QuEChERS; pesticidas; organoclorados; organofosforados, GC/MS.

Recibido: 25 de octubre, 2019.

Aceptado: 13 de diciembre, 2019.

1. Introducción

Los plaguicidas han sido usados como mecanismos eficientes para la protección de los cultivos, sin embargo, su producción, distribución y utilización

debe regirse por un control y una reglamentación estricta ya que su alta persistencia en el ambiente y su comprobada toxicidad generan efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos tanto en animales como en humanos expuestos, siendo necesario hacer un seguimiento regular de sus residuos en los alimentos especialmente en frutas

*Autor para correspondencia:
Correo-e:jsalashplc@gmail.com (Janeth Salas)

y vegetales. El estudio de los niveles de residuos de pesticidas y el control de sus límites permitidos en alimentos es de gran interés y preocupación a nivel mundial [1]. El maíz, la patata, la judía, el tomate y la quínoa, son consideradas plantas sagradas de culturas ancestrales, [2, 3]. La quínoa (*Chenopodium Quínoa Wild*) tanto por sus características nutricionales como por su versatilidad agronómica se presenta como una importante opción de subsistencia. Esta planta se produce en todos los Andes, principalmente en Perú y Bolivia desde hace más de 7.000 años por culturas pre inca e inca [4]. Históricamente la quínoa se ha cultivado desde el norte de Colombia hasta el sur de Chile [2, 5].

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha seleccionado a la quínoa como uno de los cultivos destinados a ofrecer seguridad alimentaria en el siglo XXI [6], por su excelente calidad nutricional, ya que posee alto contenido en minerales, vitaminas, proteínas y no contiene gluten, también este pseudo cereal es rico en compuestos como polifenoles, fitoesteroles y flavonoides con posibles beneficios nutraceuticos [7]. Por otra parte, en la última década la quínoa ha ganado un espacio en los mercados de consumo a nivel internacional, lo cual abre oportunidades económicas para los productores de los países andinos. Por la importancia que posee este grano la Unión Europea ha establecido límites máximos residuales (LMR) para algunos pesticidas considerando la estabilidad y toxicidad de estos compuestos [8]. La validación de métodos analíticos para el estudio de pesticidas a bajas concentraciones es de suma importancia, estos requieren de un tratamiento eficiente, previo de la muestra para su posterior análisis. Existen diferentes métodos de extracción tradicionales para la determinación de pesticidas en matrices de alimentos [9], estos resultan costosos y tediosos debido a que requieren de múltiples pasos, cantidad de muestra apreciable, largo tiempo de análisis, gran cantidad de solventes, etc.

El método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) por sus siglas en inglés, es uno de los métodos de extracción más novedoso ampliamente usado para la determinación de

pesticidas en este tipo de matrices, diversos autores Wilkowska [9], Herrmann [10], Vilca [11], Ortega [12] han reportado la aplicación y modificación de este método considerando algunas características presentes en los tipos de pesticidas analizados, tales como el pH. Otro aspecto a considerar en cuanto al tratamiento de la muestra es la influencia que tiene el tamaño de partícula y la homogenización sobre los procesos de extracción de los pesticidas [11, 10]. Pocos estudios han sido reportados sobre la determinación de pesticidas en muestras de quínoa. Vilca en el 2012 [11], realizó el estudio de siete pesticidas en quínoa proveniente del Perú usando el método QuEChERS, con la técnica de cromatografía de gases con detector de captura de electrones, en el 2018 este autor también realizó el análisis de 42 pesticidas usando cromatografía líquida con detector de masas (LC/MS). La aplicabilidad de la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS) en el análisis de residuos de pesticidas se resume en manuales analíticos de pesticidas [13, 14]. Las capacidades de la espectrometría de masas (MS) en combinación con la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida (LC) para la determinación de una multitud de pesticidas han sido evaluadas, por Alder [15]. El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto que tiene el tamaño de partícula de las muestras sobre la extracción simultánea de pesticidas organoclorados y organofosforados en muestras de quínoa usando el método QuEChERS y posterior análisis por GC/MS.

2. Materiales y métodos

Reactivos

Se usaron estándares de pesticidas organofosforados en ciclohexano marca Chiron AS, que contiene de 5 mg/L de los pesticidas: diazinón, malatión, fenitrotión, etilparatión y etión. Estándar de pesticidas organoclorados en ciclohexano marca Chiron AS, que contiene de 5 mg/L de cada pesticida: heptacloro, aldrín, epoxyheptacloro cis y trans, dieldrín. Acetonitrilo Sigma Aldrich, Sulfato de Magnesio anhidro grado analítico marca

Mallinckrodt, Cloruro de sodio grado analítico, Reagents S.A, Agua desionizada Milli-Q.

Materiales

Para la extracción QuEChERS se emplearon cartuchos de extracción en fase sólida modelo BOND ELUT-PSA 500 mg 6 mL, marca Agilent Technologies, California, USA.

Muestras

Se usaron muestras de procedencia ecuatoriana y venezolana: Quínoa Ecuatoriana: QUINOA VERDE PAMBA, envasada por Sucesores de Jacobo Paredes M.S.A, Cusubamba, Quito – Ecuador, fecha de elaboración 30 de enero de 2017, lote de producción 04030. Quínoa Venezolana: TOP QUINOA, Distribuido y producido por Agro Oro Branco, el Tejero, Sector Casual, Estado Monagas – Venezuela, lote de producción 852675.

Equipos

Para la molienda de las muestras se utilizó un Molino de Bolas modelo 8000 D MIXER/MILL, marca Spex, New Jersey, USA. Centrífuga modelo PowerSpin C8704, marca UNICO, New Jersey, USA. pH-metro modelo HI 2223, marca HANNA-Instruments, Podova, Italia. Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), modelo Inspect F-50, equipado con EDX Apollo X EDAX, marca FEI, Japón. Cromatógrafo de Gases modelo TRACE GC ULTRA con detector de masas modelo ISQ, marca Thermo SCIENTIFIC, Mass, USA. Columna capilar modelo TR-50 MS con 50% fenilpolisilfenileno-siloxano de polaridad media de 30 metros de longitud, diámetro interno de 0,25 mm y recubrimiento de 0,25 μm , marca Thermo SCIENTIFIC, Mass, USA.

Tratamiento de la muestra

Las muestras de quínoa ecuatoriana y venezolana se sometieron a un proceso de molienda utilizando un molino de bolas Spex 8000 D MIXER/MILL, procesadas a dos tiempos de molienda: 15 minutos y 30 minutos, el tamaño de las partículas en función de los tiempos de molienda se analizaron por microscopía electrónica de barrido usando un Microscopio Electrónico

de Barrido (SEM), FEI Inspect F-50, equipado con EDX Apollo X EDAX, con el fin de verificar la influencia del tamaño de partícula sobre la absorción de los pesticidas estudiados. Los procesos de molienda se llevaron a cabo por 5 minutos continuos seguido por 2 minutos de reposo entre cada molienda, con repeticiones hasta completar los tiempos establecidos. Los parámetros considerados en la molienda de las muestras a los diferentes tiempos se muestran en la Tabla 1.

Proceso de fortificación de la muestra

La muestra de quínoa de procedencia ecuatoriana fue fortificada por duplicado a dos concentraciones 0,01 mg/kg y 0,10 mg/kg, rango comprendido para todos los pesticidas de interés, luego se le aplicó la técnica de extracción en fase sólida QuEChERS.

Método de extracción QuEChERS

Para llevar a cabo este método de extracción se pesó por duplicado, 5 gramos de cada muestra de quínoa ecuatoriana previamente molida (a 15 min y 30 min), se colocó en un tubo de polipropileno, se añadió la mezcla de pesticidas organoclorados y organofosforados para concentraciones finales de 0,01 ppm y 0,10 ppm respectivamente dejando impregnar por 5 minutos, se agitó en un vortex por 5 minutos y se dejó reposar por una hora. Posteriormente se homogeneizó la muestra con 5 mL de agua Milli-Q, se le agregó 10 mL de acetonitrilo como agente extractivo, se agitó vigorosamente 1 minuto, se agregó 1 g de cloruro de sodio y 6 g de sulfato de magnesio para la limpieza del extracto. Se agitó la muestra en vortex durante 1 minuto y luego se centrifugó por 5 minutos a 400 rpm, se tomó 5 ml del sobrenadante y se purificó empleando un cartucho de extracción en fase sólida de amina primaria - secundaria PSA, el extracto final fue analizado por duplicado en un cromatografía de gases masas.

Análisis cromatográfico

La separación cromatográfica de los compuestos fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones experimentales: temperatura del inyector: 250°C,

Tabla 1: Parámetros considerados en la molienda de las muestras de quínoa ecuatoriana y venezolana

Parámetros	Tiempo = 15 min	Tiempo = 30 min
Masa de la muestra de quínoa	(25,00 ± 0,01) g	(25,00 ± 0,01) g
Relación masa carga	≈ 1	≈ 1
Tiempo de molienda continuo	5 min	5 min
Tiempo de descanso	2 min	2 min
Repeticiones	3 repeticiones	6 repeticiones
Total tiempo de la molienda	15 min	30 min
Total tiempo del trabajo	19 min	40 min

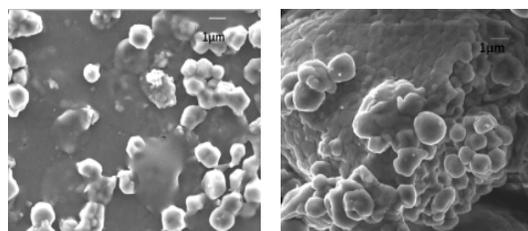
tiempo total de corrida: 30 minutos, volumen de inyección: 1 μ L, en modo splitless temperatura del horno: 350°C isotérmico, flujo del gas de helio: 1 mL/min. El programa térmico utilizado para la separación de los diferentes pesticidas fue: temperatura inicial 80°C por 2,5 min, luego a 20°C/min hasta 175°C por 1 minuto, luego a 10°C/min hasta 245°C por 1 minuto, y finalmente a 20 °C/min hasta llegar a 295 °C por 5 minutos.

Preparación de patrones y curva de calibración

A partir de una mezcla de estándares certificados marca Chiron AS de concentración 5 ppm de pesticidas organoclorados y organofosforados respectivamente, se preparó la curva de calibración en un rango comprendido desde 0,05 ppm hasta 0,50 ppm.

3. Discusión de resultados

Análisis micro estructural de las muestras



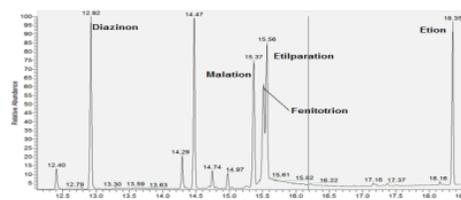
(a) a 15 minutos. (b) a 30 minutos.

Figura 1: Microscopía electrónica de barrido para muestras de quínoa molidas.

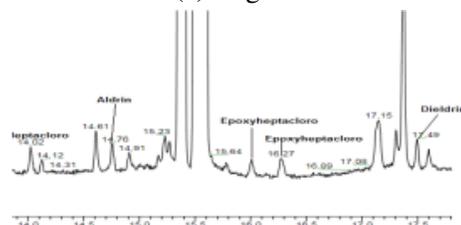
Las muestras molidas a 15 minutos y a 30 minutos, fueron analizadas en un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), con el fin de

determinar el tamaño y morfología de las partículas del producto generado. Los resultados obtenidos son mostrados en la Figura 1. Las micrografías muestran la presencia de partículas con diferentes tamaños y morfologías. Para la muestra molida a 15 minutos (Figura 1a) se observan partículas de forma casi circular con un tamaño promedio de 1,20 μ m, mientras que para la muestra molida a 30 minutos (Figura 1b) se observan partículas aglomeradas también de formas esféricas pero de menor tamaño promedio de 0,88 μ m, indicando que el tiempo de molienda afecta el tamaño de partículas, disminuyendo el tamaño de estas al aumentar el tiempo de molienda, la medida del tamaño de partícula se realizó considerando una población con $n = 15$.

Análisis por Cromatografía de Gases



(a) original.



(b) ampliación.

Figura 2: Cromatograma de la mezcla de pesticidas.

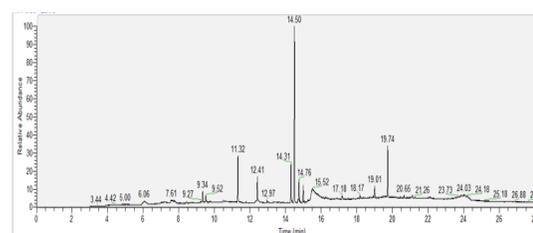
La Figura 2, muestra el orden de elución de los pesticidas evaluados bajo las condiciones optimizadas. La Figura 2a muestra el cromatograma de la mezcla de los 10 pesticidas evaluados, la Figura 2b es una ampliación del cromatograma para visualizar la presencia de los pesticidas organoclorados, debido a que estos compuestos mostraron picos con intensidades mucho menores que los pesticidas organofosforados mostrando que los pesticidas organoclorados son menos sensibles que los organofosforados.

Evaluación de los parámetros analíticos

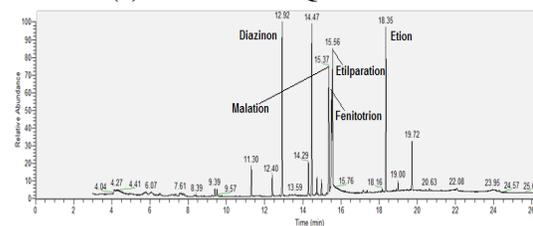
A fin de verificar el procedimiento analítico a usar, se evaluaron los parámetros analíticos, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación y sensibilidad, calculados a partir de la construcción de la curva de calibración obtenida de patrones en un rango de concentraciones de 0,05 mg/L hasta 0,50 mg/L. Los resultados obtenidos son presentados en la Tabla 2, donde se observa que todos los compuestos presentaron coeficientes de correlación $r^2 \geq 0,99$ excepto el Epoxiheptacloro CIS que arrojó un valor de 0,9667. Los límites de detección (LD) variaron desde 0,00013 mg/kg hasta los 0,01819 mg/kg, los límites de cuantificación (LC) desde 0,00018 mg/kg hasta 0,04416 mg/kg. Las pendientes de las curvas de calibración muestran valores mayores para los compuestos organofosforados que para los compuestos organoclorados evidenciando que los pesticidas organofosforados son más sensibles que los organoclorados.

Evaluación del método QuEChERS

La quínoa es una muestra compleja que contiene componentes que pudieran interferir en la identificación y cuantificación de los pesticidas evaluados, a fin de solventar los problemas presentados por el efecto de matriz se aplicó el método QuEChERS a una muestra de quínoa ecuatoriana sin pesticidas y otra enriquecida con una concentración conocida de los pesticidas organoclorados y organofosforados de interés luego de realizada la extracción QuEChERS, con el fin de verificar la presencia de los mismos. Estos resultados son mostrados en la Figura 3.



(a) extraída con QuEChERS.



(b) enriquecida con una mezcla de pesticidas y extraída con d QuEChERS.

Figura 3: Muestra de quínoa ecuatoriana.

Si comparamos los cromatogramas mostrados en las Figuras 3a y 3b se puede observar que no existen señales (picos) que muestren interferencia entre los pesticidas analizados y los componentes orgánicos naturales de la quínoa, se evidencia la presencia de cada pico de pesticida sin superponerse con algún otro pico presente que pudiera corresponder a algún ácido graso de la matriz de la quínoa, se observó un pico ancho en la muestra sin pesticidas a los 15,52 minutos, el cual se determinó que corresponde a un ácido graso, sin embargo, se logró diferenciar del pesticida fenitrotión que eluye en estas condiciones cromatográficas en el tiempo de 15,53 minutos, cabe destacar que aunque en la Figura 3b solo se ve identificada la presencia de los pesticidas organofosforados se verificó de igual forma la presencia de los compuestos organoclorados ampliando la escala y los mismos tampoco interfieren con los componentes naturales del pseudo cereal.

Estudio de recuperación de los pesticidas

El estudio de recuperación fue llevado a cabo sobre la muestra ecuatoriana. Los resultados obtenidos para todos los pesticidas analizados bajo las condiciones estudiadas considerando la variable tamaño de partícula (0,88 μm y 1,20 μm) y concentración de pesticida añadido (M1=0,01

Tabla 2: Límites de detección (LD) y límite de cuantificación (LC).

Pesticida	TR (min)	(LD = Y0 + 3S) (mg/kg)	(LC = Y0 + 10S) (mg/kg)	(r ²)	Pendiente y = ax + b
Diazinón	12,91	0,00013	0,00018	0,9948	7E+09
Heptacloro	14,03	0,00861	0,00667	0,9976	2E+07
Aldrin	14,74	0,00708	0,01767	0,9991	9E+06
Malatión	15,36	0,00036	0,00082	0,9984	8E+09
Fenitrotión	15,51	0,01075	0,01668	0,9990	3E+08
Etilparatión	15,56	0,00747	0,01354	0,9993	2E+08
Epoxyheptacloro CIS	16,01	0,01456	0,02859	0,9667	9E+06
Epoxyheptacloro TRANS	16,27	0,00439	0,00889	0,9961	7E+06
Dieldrin	17,5	0,01819	0,04416	0,9954	2E+07
Etión	18,37	0,00034	0,00079	0,9910	6E+09

Tabla 3: Porcentaje de recuperación de los compuestos estudiados, enriquecidos con 0,01 mg/kg de pesticidas.

Pesticidas	Recuperación (%)			
	M1(1,20 μm)		M1(0,88 μm)	
	Promedio	RSD	Promedio	RSD
Heptacloro	0,00	0,00	0,00	0,00
Aldrin	3314	1,33	37,13	1,58
Epoxiheptacloro Cis	39,86	5,78	0,00	0,00
Epoxiheptacloro Trans	72,32	3,63	76,20	0,68
Dieldrin	79,77	3,25	84,86	0,77
Diazinon	43,50	2,76	44,74	0,48
Malation	60,49	3,54	63,68	1,36
Fenitrotion	61,89	3,78	64,82	0,83
Etilparation	71,10	3,40	70,30	0,92
Etion	66,38	4,04	73,84	0,81
Promedio	52,85	22,80	51,56	19,08

Tabla 4: Porcentaje de recuperación de los compuestos estudiados, enriquecidos con 0,10 mg/kg de pesticidas.

Pesticidas	Recuperación (%)			
	M1(1,20 μm)		M1(0,88 μm)	
	Promedio	RSD	Promedio	RSD
Heptacloro	71,85	1,51	77,76	0,07
Aldrin	68,59	1,45	72,00	0,23
Epoxiheptacloro Cis	79,92	1,62	81,98	0,36
Epoxiheptacloro Trans	77,44	1,51	81,34	1,31
Dieldrin	84,94	0,96	91,10	0,52
Diazinon	89,04	0,55	90,29	1,50
Malation	75,94	4,04	79,01	2,65
Fenitrotion	79,36	1,04	82,19	1,57
Etilparation	92,40	0,73	94,75	1,09
Etion	86,94	0,34	90,32	1,58
Promedio	80,64	21,63	84,13	20,10

mg/kg y M2=0,10 mg/kg) se muestra en las Tablas 3 y 4. Como puede observarse en la Tabla 3, los porcentajes de recuperación obtenidos cuando las muestras son enriquecidas con 0,01mg/kg de los pesticidas estudiados, varían desde 0,00 % hasta 79,77 % cuando el tamaño de partícula es de 1,20 μm y desde 0,00 % hasta 84,86 % cuando el tamaño es de 0,88 μm. Sin embargo el promedio en los porcentajes de recuperación en ambos tamaños de partícula son de 52,85 % y 51,56 % con porcentajes de variación del 22,80 % y 19,08 %. Los criterios establecidos por la Unión Europea [16] para la validación de métodos analíticos multiresiduales establecen que los porcentajes de recuperación deben estar entre un 70 y 110 % con coeficientes de variación menores o iguales al 20 % para rangos de concentración de 0,01 a 0,1 mg/kg. Los resultados encontrados en esta investigación muestran que en estas condiciones los valores arrojados en los porcentajes de recuperación no cumple con los criterios establecidos, sin embargo si evaluamos de forma individual los valores cuando el tamaño de partícula es de 1,2 μm los pesticidas epoxiheptacloro trans, dieldrin y etil paratión están dentro de los límites establecidos, mientras que cuando el tamaño de partícula es de 0,88 μm cumple para los pesticidas epoxiheptacloro trans, dieldrin, etil paratión y etión.

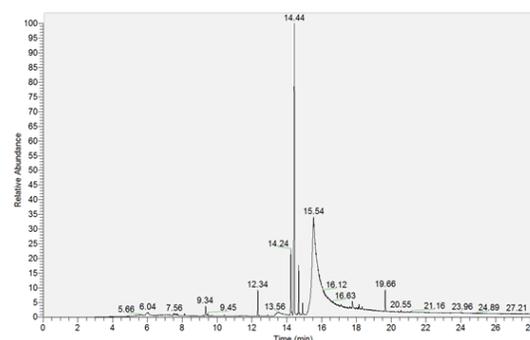
La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos cuando las muestras son enriquecidas con 0,10 mg/kg de pesticidas. Los valores arrojados

para las muestras con tamaño de partícula de $1,20 \mu\text{m}$ varían desde un 68,59 % hasta 92,40 %, indicando que es más eficiente recuperar los pesticidas evaluados cuando las concentraciones de pesticidas son más altas, y que a excepción del aldrin todos los compuestos entran en los límites establecidos por la Comisión Europea para la validación del método multiresidual. La Tabla 4 también muestra los resultados obtenidos para las muestras con tamaño de partícula $0,88 \mu\text{m}$ observándose que para estas condiciones de estudio se obtienen porcentajes de recuperación por encima del 70 % para todos los compuestos analizados con un promedio de recuperación de 84,13 % y un coeficiente de variación del 20 %, indicando que bajo estas condiciones de estudio el método multiresidual usado es preciso para el análisis de los pesticidas estudiados.

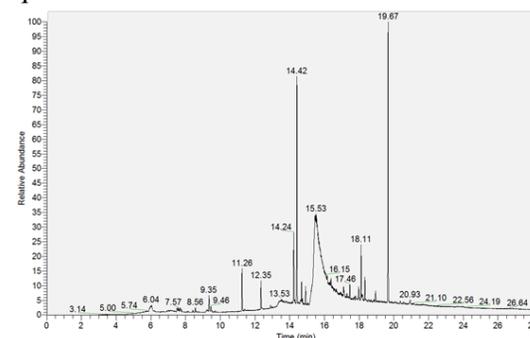
En el 2016 Ortega y colaboradores [12] también consideraron el estudio de algunos pesticidas organoclorados entre los cuales analizaron el heptacloro, modificando las concentraciones de pesticida añadido, ellos evaluaron las concentraciones añadidas de 0,01 mg/kg y 0,1 mg/kg obteniéndose recuperación del 128 % para la concentración de 0,1 y del 103 % para la de 0,01. Resultados similares a los encontrados por Ortega y colaboradores [12], fueron obtenidos en esta investigación para los pesticidas dieldrin y el heptacloro donde se aprecia que las recuperaciones son mejores cuando la concentración de pesticida añadido es de 0,1 mg/kg. De estos resultados se infiere que la variable concentración de pesticida añadido, debe ser considerada como una variable determinante en los estudios de recuperación de pesticidas en alimentos, ya que representa un compromiso cuando las concentraciones añadidas son muy altas o muy bajas. Por otra parte cabe destacar que estos autores realizaron su trabajo usando como solvente de extracción el acetato de etilo el cual posiblemente permitió mejor eficiencia en la recuperación de los compuestos analizados.

Estudio de la presencia de pesticidas en muestras de quínoa ecuatoriana y venezolana

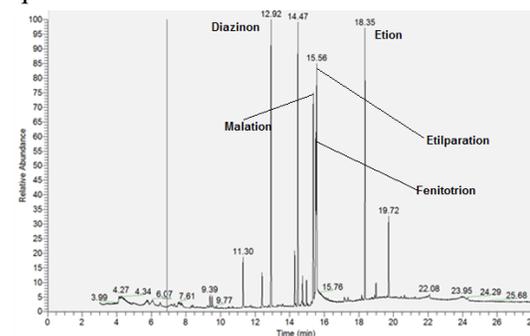
La determinación de la presencia de los pesticidas estudiados fue llevada a cabo en muestras



(a) Extracción QuEChERS para la muestra de quínoa ecuatoriana.



(b) Extracción QuEChERS para la muestra de quínoa venezolana.



(c) Muestra ecuatoriana extraída por QuEChERS y contaminada con pesticidas.

Figura 4: Comparación cromatográfica para distintas muestras de quínoa.

de quínoa ecuatoriana y venezolana siguiendo el mismo protocolo de extracción QuEChERS, considerando el tiempo de molienda de 30 minutos tamaño de partícula de $0,88 \mu\text{m}$. La Figura 4 muestra los cromatogramas obtenidos luego de la extracción QuEChERS para las muestras analizadas. Para ambas muestras extraídas con QuEChERS (Figura 4a y Figura 4b), se observa la ausencia de los pesticidas organoclorados y organofosforados estudiados. Existe cierta similitud

en los tiempos de retención de los picos observados a 14,24 minutos y entre 15,54 a 15,56 minutos con algunos de los tiempos de retención de los picos de los pesticidas evaluados, sin embargo usando la librería NIST [17], se corroboró que los espectros de masas corresponden a compuestos que son co-extraíbles en solventes orgánicos propios del pseudocereal como lo son los ácidos grasos [18], sin embargo a fin de verificar el efecto de matriz que pudiera causar estos compuestos, a la muestra de quínoa ecuatoriana después de aplicar el método QuEChERS fue contaminada con los pesticidas evaluados (Figura 4c). En la Figura se puede apreciar tanto la presencia de los ácidos grasos característicos de la quínoa como la de los picos correspondientes a los pesticidas analizados, mostrando que no existe coelución entre los picos de los analitos de interés y los compuestos presentes en la muestra de quínoa, esto corrobora que no hay efecto de matriz en el análisis de las muestras.

4. Conclusiones

El método de extracción QuEChERS fue preciso y exacto para los 10 pesticidas estudiados a las concentraciones añadidas de 0,10 mg/kg y a un tamaño de partícula de 0,88 μm , obteniéndose recuperaciones mayores al 72 %, con valores de CV de 20 %. No se detectó la presencia de los pesticidas organoclorados ni organofosforados estudiados en las muestras de quínoa venezolana ni ecuatoriana. La cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas es una técnica sensible y versátil que permite medir simultáneamente los pesticidas organoclorados y organofosforados estudiados en muestras de quínoa de diferente procedencia usando el método QuEChERS.

5. Referencias

- [1] J. Tadeo. *Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples*. Taylor, 2008.
- [2] Á. Mujica y E. Sven. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, chapter La quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres, pages 449–457. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia, 2006.
- [3] D. Vargas, M. Boada, L. Araca, W. Vargas, y R. Vargas. Agrobiodiversidad y economía de la quínoa (*Chenopodium quinoa*) en comunidades aymaras de la cuenca del titicaca. *Idesia (Arica)*, 33(4):81–87, 2015.
- [4] S. Elsohaimy, T.M Refaay, and M. Zaytoun. Physico-chemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Annals of Agricultural Science*, 60(2):297–305, 2015.
- [5] G. Bastidas, R. Díaz, E. Roura, T. Massanés, and R. Gomis. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), from nutritional value to potential health benefits: An integrative review. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(3):1–10, 2016.
- [6] Food and agriculture organizations (FAO). Energy and protein requirements report of a joint fao/who/unu meeting. Technical report, Food and agriculture organizations of the United States/World Health organizations, Geneva, 1995.
- [7] L.E.A. James. Chapter 1. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional and functional properties. *Advances in food and nutrition research*, 58(3):1–31, 2009.
- [8] F. Vilca, G. Rossi, M. Andrade, W. Zamalloa, and V. Tornisielo. Determination of pesticides residues in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) using quechers and lc-ms. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(5):421–427, 2018.
- [9] A. Wilkowska and M. Biziuk. Determination of pesticide residues in food matrices using the quechers methodology. *Food Chemistry*, 125(3):803–812, 2011.
- [10] S. Herrmann, P. Hajeb, G. Andersen, and E. Poulsen. Effects of milling on the extraction efficiency of incurred pesticides in cereals. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34:1948–1958, 2017.
- [11] F. Vilca, N. Torres, C. Nazato, and V. Tomisielo. Effect of the particle size of the quinoa simple (*Chenopodium quinoa* Willd.) on the validation process of the QuEChERS method for seven pesticides using GC-ECD. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 8:352–357, 2012.
- [12] R. Ortega, W. Zamalloa, V. Tornisielo, and F. Vilca. Determination of organochlorine pesticides in organic quinoa grains (*Chenopodium quinoa* Willd.) by GC- μECD , using the QuEChERS method. *Revista Investigaciones Altoandinas*, 18(1):19–26, 2016.
- [13] H. Zeumer HP. Thier. *Manual of pesticide residue analysis*, volume II. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany, 1992.
- [14] P. Van Zoonen. *Analytical methods for residues of pesticides in foodstuffs, Part I*, P.A. Greve (edit.). Government Publishing Office, The Hague, Netherlands, 6th edition, 1998.
- [15] L. Alder, K. Greulich, and G. Kempe. Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass spectrometry reviews*, 25:838–865, 2006.

- [16] European Commission. Quality control procedures for pesticides residues analysis. Document SAN-CO/10232/2006, European Union, Brussels, Belgium, 2006.
- [17] S. Stein, Y. Mirokhin, D. Tchekhovskoi, and G. Mallard. The NIST Mass Spectral Search Program for NIST/EPA/NIH, Mass Spectral Library. Technical report, Agilent Technologies for use with the GC/MS and LC/MS Chemstation, USA, 2008. Version 2.0.
- [18] M. Miranda, A. Vega, E. Martínez, J. López, M. Rodríguez, K. Henríquez, and F. Fuentes. Genetic diversity and comparison of physicochemical and nutritional characteristics of six quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*) genotypes cultivated in Chile. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32(4):835–843, 2012.