
EVALUACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN GRANOS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y TRIGO (*Triticum aestivum* L.) POSTERIOR A LA APLICACION EN EL ALMACENAMIENTO Y EN EL CAMPO

JULIETA STRADA, ALEJANDRA RICCA, MARTHA CONLES, MERCEDES SILVA, DANTE ROJAS, CRISTIANO CASINI, FEDERICO PIATTI y MARÍA JOSÉ MARTÍNEZ

RESUMEN

Las aplicaciones de plaguicidas en los cultivos y productos de cosecha constituyen un serio riesgo para la salud, el medio ambiente y las exportaciones, si no se utilizan adecuadamente a fin de producir granos libres de plaguicidas o con niveles por debajo de los límites máximos de residuos (LMR) permitidos. El objetivo de este trabajo fue identificar los niveles de residuos de insecticidas aplicados en granos de maíz en almacenamiento y de fungicidas en el cultivo de trigo en el campo, sus variaciones y relación con los LMR. La finalidad de estos ensayos dirigidos fue determinar si utilizando las prácticas de manejo de plaguicidas habituales en los cultivos y productos de cosecha, quedan residuos en los granos

que superen los LMR. En los ensayos de almacenamiento de granos de maíz se aplicaron los insecticidas diclorvos (DDVP) y deltametrina + clorpirifós metil y en el cultivo de trigo el fungicida tebuconazole. Para la extracción de plaguicidas de los granos se utilizó la técnica de 'QuEChERS' y la determinación de residuos se realizó por cromatografía gaseosa de alta resolución con detector de masa. En granos de maíz almacenados los niveles de residuos disminuyeron al prolongarse el periodo de almacenamiento, encontrándose por debajo de los LMR. En cambio, en los ensayos en el campo, los resultados mostraron valores de residuos de tebuconazole en granos de trigo que exceden los LMR.

Los cultivos de maíz y trigo son fundamentales en la producción agropecuaria mundial tanto por su importancia en la alimentación directa como de los productos industriales derivados de sus granos (FAOSTAT, 2011). En Argentina se produjeron en la campaña 2009/2010 más de 33×10⁶ton de cereales, significando un importante aporte a la economía nacional (SIIA, 2011). El aumento en la demanda de alimentos debido al crecimiento sostenido

PALABRAS CLAVE / Cereales / LMR / Manejo de Plaguicidas / Residuos de Plaguicidas /

Recibido: 24/06/2011. Modificado: 23/04/2012. Aceptado: 02/05/2012.

Julieta Strada. Ingeniera Agrónoma y estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Argentina. Becaria doctoral, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas Argentina (CONICET) y Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba, Argentina. Dirección: Laboratorio de Calidad de Granos. Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Manfredi. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Ruta Nacional N° 9, km. 636, (CP5988) Manfredi, Córdoba, Argentina. e-mail: julieta.strada@gmail.com

Alejandra Ricca. Ingeniera Química, Magíster y Doctora en Química, Universidad Nacional del Litoral, Argentina. Investigadora, Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), INTA Castelar, Argentina. e-mail: aricca@cnia.inta.gov.ar

Martha Conles. Ingeniera Agrónoma, Magíster en Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina. Profesora, UNC, Argentina. e-mail: mconles@agro.uncor.edu

Mercedes Silva. Bióloga y Magíster en Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina. Profesional, INTA, Argentina. e-mail: msilva@manfredi.inta.gov.ar

Dante Rojas. Bioquímico, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Magíster en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Investigador, INTA Castelar, Argentina. e-mail: drojas@cnia.inta.gov.ar

Cristiano Casini. Ingeniero Agrónomo, Universidad Católica de Córdoba, Argentina. Ph.D. en Ciencias Agrarias, Mississippi State University, EEUU. Coordinador Programa Agroindustria, INTA, Argentina. e-mail: ccassini@correo.inta.gov.ar

Federico Piatti. Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Magíster, en Mejoramiento Genético Vegetal, Universidad Nacional de Rosario, Argentina. Jefe de Grupo, INTA Manfredi, Argentina. e-mail: fpiatti@manfredi.inta.gov.ar

María José Martínez. Bióloga y Doctora en Ciencias Biológicas, UNC, Argentina. Investigadora, INTA Manfredi, Argentina. e-mail: mjmartinez@manfredi.inta.gov.ar

nido de la población mundial presiona a los países productores de alimentos primarios a optimizar sus producciones. Sin embargo, la sostenibilidad productiva de los cultivos está afectada por factores bióticos tales como enfermedades, malezas y plagas. Los sistemas productivos de monocultivo utilizados mayormente en las regiones para la producción de cereales, hacen de fundamental importancia la utilización de productos fitosanitarios que permitan mantener la producción (CASAFE, 2007; SENASA, 2011). No obstante, las aplicaciones de plaguicidas constituyen un serio riesgo para la salud, el medio ambiente y las exportaciones, si no se aplican adecuadamente a fin de no dejar residuos en los granos (Aldana Madrid *et al.*, 2008; Novo *et al.*, 2008).

Por 'residuo de plaguicida' se entiende cualquier sustancia especificada presente en alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales como consecuencia del uso de un plaguicida. 'Límite máximo de residuo' (LMR) es la concentración máxima de un plaguicida expresada en mg de plaguicida por kg de producto ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), recomendada por la Comisión del *Codex Alimentarius*, para que se permita legalmente su uso en la superficie o la parte interna de productos alimenticios para consumo humano y de piensos (CASAFE, 2007; FAO, 2010; *Codex*, 2011). Los LMR se basan en datos de 'buenas prácticas agrícolas' (BPA), entendiéndose por esto, la utilización del plaguicida solo cuando sea necesario, con una adecuada elección del principio activo, dosis, momento y forma de aplicación respetando las indicaciones de uso (Coscollá, 1993; Novo *et al.*, 2008), y tienen por objeto lograr que los alimentos derivados de productos básicos se ajusten a los respectivos LMR y sean toxicológicamente aceptables (FAO, 2010). Las legislaciones con respecto a los LMR de plaguicidas permitidos en los granos en los mercados mundiales están en constante evolución, cada vez son más exigentes y toleran menores niveles de residuos. A nivel internacional los LMR se establecen en el *Codex Alimentarius* (FAO/OMS) y legislaciones de los distintos países. En Argentina, la norma 934/10 del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA, 2011) dispone que los productos y subproductos agropecuarios que se importen o produzcan localmente para el consumo interno deben cumplir con nuevos límites máximos de residuos, más bajos que los anteriores, a partir del mes de junio de 2010.

La contaminación de los alimentos con plaguicidas puede darse tanto en tratamientos en el campo como en almacenamiento. En los cultivos de cereales los insectos que atacan a los granos

durante el almacenamiento disminuyen el peso y calidad industrial, y constituyen una plaga de fundamental importancia. Los tratamientos recomendados para el control se basan en aplicaciones preventivas y curativas con insecticidas de los grupos químicos de organofosforados y piretroides. En el caso del cultivo de trigo revisten gran importancia las enfermedades causadas por hongos, entre las que se encuentra la fusariosis o 'golpe blanco' de la espiga, cuyo agente causal es *Fusarium graminearum*, que produce importantes pérdidas de rendimiento. El control químico de esta enfermedad se basa principalmente en la aplicación de fungicidas del grupo de los triazoles, que se aplican durante la antesis de las espigas (Novo *et al.*, 2008). Coscollá (1993) afirma que, en el caso de cereales y oleaginosas, los principales problemas de residuos de plaguicidas son debidos a tratamientos postcosecha, pues los tratamientos en el campo se dan muy distanciados de la cosecha y estos granos sufren procesos de manipulación anteriores al consumo. Además, diversos autores han reportado la disminución de los niveles de residuos de plaguicidas por prácticas de procesamiento de los alimentos tales como la molienda, el periodo de almacenamiento, el refinamiento o el lavado (Miyahara y Saito, 1994; Balinova *et al.*, 2006, 2007; Kaushik *et al.*, 2009).

En almacenamiento, la degradación depende de las condiciones físicas tales como temperatura, humedad relativa y presencia de luz, y del tipo de granos almacenados (Lalah y Wandiga, 2002). Asimismo, luego de largos periodos de almacenamiento los niveles de residuos de plaguicidas en los granos disminuyen notoriamente (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009). Sin embargo, existen evidencias en diferentes estructuras de la planta y en diversos granos y sus productos derivados, de presencia de residuos de plaguicidas por tratamientos en el campo (Correa *et al.*, 2001; Lorenzatti *et al.*, 2004a, b; Piñero González *et al.*, 2007). La creciente preocupación por la salud de los consumidores, en especial de grupos de riesgo (Balinova *et al.*, 2006; 2007), ponen de manifiesto la necesidad de evaluar si los niveles de residuos presentes en los alimentos son adecuados respecto a las nuevas exigencias.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de residuos de insecticidas aplicados en almacenamiento en granos de maíz y los niveles de residuos de fungicidas aplicados en ampo en el cultivo de trigo, sus variaciones y relación con los LMR. La finalidad fue determinar si con las prácticas habituales de aplicación de plaguicidas en almacenamiento de maíz y en el campo en el culti-

vo de trigo quedan residuos en los granos que superen los LMR.

Materiales y Métodos

Ensayos experimentales

Los ensayos se llevaron a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ubicada en la localidad de Manfredi ($31^{\circ}49'12''\text{S}$; $63^{\circ}46'00''\text{O}$), Provincia de Córdoba, Argentina. Los ensayos en almacenamiento de granos de maíz se realizaron entre julio y noviembre 2007. Los granos fueron provistos por la EEA INTA Manfredi y se colocaron en tarros plásticos negros con una capacidad de 20 litros que simulaban estructuras de almacenamiento, a razón de 15kg de granos por tarro. En cada tapa se realizaron cinco perforaciones de 1cm de diámetro distanciadas 10cm entre sí, a fin de permitir intercambio gaseoso. Los tarros fueron identificados con etiquetas y dispuestos en estanterías metálicas en un galpón con paredes y techo de zinc y piso de hormigón.

Los insecticidas aplicados, pertenecientes a los grupos de los organofosforados y los piretroides, fueron diclorvos (EC, 100%) y la mezcla deltametrina + clorpirifós metil (EC, 0,65% + 14,5%). Las aplicaciones se realizaron en dos dosis, una denominada normal, correspondiendo a aquella recomendada por CASAFE (2007) y una dosis alta, 25% superior a la normal recomendada. Las dosis normales fueron de $15\text{cc}\cdot\text{ton}^{-1}$ de granos, disueltos en 1000cc de agua para diclorvos, y en 400cc de agua para la mezcla deltametrina + clorpirifós metil. Las dosis altas resultaron de $18,75\text{cc}\cdot\text{ton}^{-1}$, disueltos en los mismos volúmenes de agua para cada insecticida. Para realizar las aplicaciones se utilizó un pulverizador de previa presión de 1500cc de capacidad Modelo H-1,5 GIBER, con pico de cono hueco. Con cada una de las dosis se realizaron dos ensayos, para extraer muestras a los 60 días y a los 90 días desde la aplicación de los insecticidas. El tratamiento control se hizo de igual manera que los anteriores, pero sin la dosis de insecticida. Se realizaron dos repeticiones por cada tratamiento. Se tomaron muestras de 300g al azar con calador apropiado y fueron colocadas en bolsas trilaminadas (polietileno, polipropileno y aluminio) y mantenidas en congelador (-20°C) para su posterior análisis. Las condiciones del galpón de almacenamiento durante el ensayo fueron una temperatura promedio de $24,75^{\circ}\text{C}$ y humedad de grano del 14,75%.

Para la determinación de residuos de fungicidas aplicados en el

campo en el cultivo de trigo, se sembraron dos cultivares en sus fechas óptimas, ACA 304 el 12/06/2006 y BIOINTA 3000 el 22/06/2006, en parcelas ubicadas en la EEA INTA Manfredi. El fungicida aplicado fue tebuconazole (EW, 25%) del grupo de los triazoles. Las aplicaciones se realizaron en dos dosis, una normal, correspondiendo a aquella recomendada por CA-SAFE (2007), de 750cc-ha⁻¹ y una dosis alta, un 50% superior a la normal recomendada, de 1125cc-ha⁻¹, con un volumen de aplicación de 200 litros de caldo fungicida por ha. En ambos cultivares las aplicaciones se efectuaron el 19/10/2006, cuando el cultivo se encontraba en la etapa fenológica de plena espigazón, para lograr el control de *Fusarium graminearum*. El tratamiento control se hizo de igual manera que los anteriores pero sin la dosis de fungicida.

Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. El cultivar ACA 304 se cosechó el 14/12/2007 y el cultivar BIOINTA 3000 el 21/12/2007, tomándose 300g de granos de trigo por repetición. Las muestras fueron colocadas en bolsas trilaminadas (polietileno, polipropileno y aluminio) y llevadas a congelador (-20°C) para su posterior análisis. En la Tabla I se muestran los registros meteorológicos diarios de precipitación (mm), temperaturas (°C) máximas, medias y mínimas, y radiación (Mj·m⁻²) correspondientes al período de ensayos, datos provenientes de la estación meteorológica ubicada en la EEA INTA Manfredi y la precipitación histórica mensual en milímetros para el mismo período (INTA, 2011).

Procesamiento de muestras y determinación de residuos de plaguicidas

Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y molidas en un molinillo Cyclotec 1093 Foss. Para la extracción de plaguicidas de los granos de maíz y trigo se utilizó la técnica de 'QuEChERS' (*quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*; Anastassiades *et al.*, 2003). Se hidrataron 5g de muestra y se extrajeron con ácido acético en acetónitrilo (AcH-MeCN), acetato de sodio (NaAc) y sulfato de magnesio (MgSO₄). Luego de agitar, sonicar y centrifugar se realizó la purificación a una porción del sobrenadante con MgSO₄, amina primaria/secundaria (PSA) y C18. Se agitó, sonicó y centrifugó, y se colocaron 500µl de sobrenadante de cada muestra en un vial.

Los patrones analíticos utilizados fueron Chlorpyrifos-methyl (Sigma Aldrich, 99,9% de pureza), Deltamethrin (Sigma Aldrich, 98% de pureza), Dichlorvos (AccuStandard, 100% de pureza) y Tebuconazol (Sigma Aldrich, 96,9%

de pureza). Se realizaron soluciones patrón en tolueno con una concentración de 1mg·ml⁻¹ para cada analito. A partir de las diluciones correspondientes se obtuvo una solución mezcla de plaguicidas en tolueno con una concentración de 40µg·ml⁻¹ para cada analito. Las soluciones fueron utilizadas para realizar los controles de calidad necesarios a partir de muestras blanco (harina orgánica) y las curvas de calibración. Se utilizó como estándar interno el plaguicida Ethoprophos (Sigma Aldrich, 93% de pureza). Se preparó una solución patrón en tolueno con una concentración de 2mg·ml⁻¹ y se diluyó para preparar la solución de trabajo en tolueno con una concentración de 20µg·ml⁻¹. El triphenyl phosphate (Sigma Aldrich, 99% de pureza) fue el estándar interno de ionización. Se preparó la solución patrón en tolueno con una concentración de 2mg·ml⁻¹ y se diluyó para preparar la solución de trabajo con una concentración de 2µg·ml⁻¹.

La determinación de residuos de plaguicidas se realizó mediante cromatografía gaseosa de alta resolución con detector de masa. Se trabajó con un cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer mode-

fue de 35°C durante 4min y luego se incrementó a 290°C (tasa 200°C/min) permaneciendo 2,5min, para disminuir hasta los 35°C (tasa 60°C/min). El volumen de inyección fue de 25µl. Al inicio, el flujo del split fue de 100ml/min, al minuto 3,9 se cerró el flujo (0ml/min) hasta el minuto 10, momento en el que se estableció un flujo de 20ml/min. La temperatura inicial del horno fue de 70°C durante 8min, luego aumentó hasta alcanzar los 170°C (tasa 25°C/min), 230°C (tasa 5°C/min) y llegar a la temperatura máxima de 290°C (tasa 20°C/min) permaneciendo a esta temperatura por 10min. En el detector, la línea de transferencia se mantuvo a 290°C y la celda de colisión a 200°C. La obtención de datos cromatográficos se realizó con ionización por impacto electrónico (EI+), analizador cuadrupolar y monitoreando iones específicos (SIM; *selected ion monitoring*) un ión de cuantificación y al menos 2 iones calibradores, para cada analito. Se realizaron curvas de calibración en matriz para maíz y trigo y los analitos mostraron comportamiento lineal (R²>0,99). Se obtuvieron en maíz recuperaciones entre 76-115% y en trigo entre 70-120% para el

TABLA I
REGISTROS METEOROLÓGICOS DURANTE EL CICLO DE ENSAYOS DE APLICACIÓN DE FUNGICIDAS EN TRIGO. AÑO 2006

Registro	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Dic
Precipitación (mm)	0	3	0	1,5	41	132,5*	140,5**
Precip. hist. mensual (mm)	10,4	12,3	12	33,5	S/D	101,4	121
T máx (°C)	17,2	19	19,6	23,6	27,1	27,5	29,2
T mín (°C)	4,7	4,5	-0,6	3,5	11,1	12,9	16,5
T media (°C)	11	11,7	9,5	13,6	19,1	20,2	22,9
Radiación (Mj/m ²)	10,2	11,4	15,2	18,4	18,6	18,9	19,9

* Acumulado al 21 de noviembre (cosecha ACA304) 19,5mm.

** Acumulado al 14 de diciembre (cosecha BIOINTA3000) 60mm.

lo Clarus 600, con puerto de inyección con vaporizador de temperatura programable (PTV) y control programable del sistema neumático, usados para inyección de grandes volúmenes, muestreador automático y guardacolumna de sílice fundida de 5m×0,25mm (Supelco), columna capilar Varian modelo Factor Four VF-5ms (cat. CP8944), de 30m×0,25mm (id. 0,25µm) de fase estacionaria 95% dimetil-5% difenil polisiloxano, de bajo sangrado. El gas portador utilizado fue helio con un grado de pureza del 99,999%. Las condiciones cromatográficas fueron las mismas para todos los plaguicidas analizados. La presión al inicio del análisis fue de 2psi mantenida durante 3,9min, llegando a los 25psi (a una tasa de 25psi/min) y permaneciendo en esas condiciones por 7min, para disminuir a 15psi (a 25psi/min) y mantenerse hasta el final del análisis (35min). La temperatura inicial del puerto de inyección

rango de concentraciones estudiado (0,01-0,6mg·kg⁻¹). Se obtuvo una reproducibilidad adecuada (Ec. Horwitz; RSD<30%). La estimación de la incertidumbre expandida fue U<±35% para maíz y U<±30% para trigo. Los LOQ estuvieron entre 0,01-0,08mg·kg⁻¹ en maíz y 0,01-0,05mg·kg⁻¹ en trigo.

Análisis estadístico

Sobre una base de datos conteniendo la información de los ensayos experimentales se realizaron los análisis estadísticos necesarios a fin de identificar los factores involucrados en la variación de niveles de residuos de plaguicidas (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los niveles de residuos fueron comparados mediante un ANAVA y prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher (nivel de significancia del 5%). Se estableció la influencia de los factores tiempo de

almacenamiento, dosis y sus interacciones para los resultados de ensayos de aplicación de plaguicidas en almacenamiento de granos de maíz y de los factores fecha de siembra/cultivar, dosis y sus interacciones en el caso de ensayos de aplicación de plaguicidas en el campo en granos de trigo. Se graficaron las medias y desvío estándar de los resultados obtenidos en gráficos de dispersión y se estableció gráficamente el LMR actualizado y permitido por las legislaciones vigentes (*Codex*, 2011; SENASA, 2011).

Resultados y Discusión

En todas las muestras analizadas se detectaron residuos de los plaguicidas aplicados en los ensayos experimentales. Los resultados se expresan en sus valores de media y desvío estándar en μg de plaguicida por kg de tejido vegetal de granos de maíz y de trigo ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

En los granos de maíz almacenados se detectaron residuos de los tres insecticidas aplicados, tanto en las muestras de 60 como en las de 90 días de almacenamiento tras la aplicación (Tabla II). Para clorpirifós metil ($p=0,0070$) existen diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) entre las dosis normal y alta, en los restantes tratamientos no hubo diferencias estadísticas entre los resultados considerando el factor dosis (normal/alta), no obstante existió una marcada tendencia a encontrar mayores niveles de residuos de plaguicidas cuando se aplicaron mayores dosis. Además, se evidenció influencia del periodo de almacenamiento sobre el nivel de residuos para clorpirifós metil ($p=0,0058$), diclorvós ($p=0,0473$) y deltametrina ($p=0,0340$). A mayor periodo transcurrido desde la aplicación los niveles de residuos fueron menores. Por otra parte, en ninguno de los casos analizados se evidenció influencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) de la interacción dosis \times días de almacenamiento. Los valores de residuos de plaguicidas en todos los casos se encontraron por debajo de los LMR vigentes en la legislación actual (*Codex*, 2011; SENASA, 2011). El LMR para clorpirifós metil es de $5000\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, y para deltametrina es de $2000\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ en *Codex alimentarius* y de $1000\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para SENASA. El periodo de carencia para estos dos insecticidas aplicados en almacenamiento es de 48h.

En este estudio aún en dosis altas a partir de los 60 días de almacenamiento para ambos productos los niveles de residuos se encontraron por debajo del LMR (Figura 1) coincidiendo con lo reportado en investigaciones similares (Aldana Madrid *et al.*, 2008), como así también en otros principios activos aplicados en almacena-

TABLA II
NIVELES DE RESIDUOS DE TRES INSECTICIDAS ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) APLICADOS EN DOS DOSIS EN ALMACENAMIENTO DE GRANOS DE MAÍZ A LOS 60 Y 90 DÍAS DESDE SU APLICACIÓN

	Clorpirifós-metil		Diclorvós		Deltametrina	
	60 días	90 días	60 días	90 días	60 días	90 días
Dosis normal	1037,00 a (*) $\pm 223,16$ (1)	700,45 b $\pm 8,56$	2325,50 a $\pm 1205,19$	102,00 b $\pm 0,00$	112,00 a $\pm 42,71$	39,90 b $\pm 32,10$
Dosis alta	1469,50 a $\pm 118,65$	1019,65 d $\pm 50,70$	2893,15 a $\pm 1561,93$	570,00 b $\pm 662,56$	121,20 a $\pm 30,12$	73,25 b $\pm 15,63$

(*) Los valores corresponden a la media de dos repeticiones \pm el desvío estándar.

(*) Valores con letras distintas en cada insecticidas dentro de las filas indican diferencias significativas por el test de LSD Fisher ($\alpha<0,05$). Valores con letras distintas en cada columna dentro de cada periodo de almacenamiento indican diferencias significativas por el test de LSD Fisher ($\alpha<0,05$).

miento de granos (Lalah y Wandiga, 2002), en los cuales las diferencias en niveles de residuos fueron explicadas en términos de las condiciones de almacenamiento, tipo de grano, contenido de humedad del grano y fisiología de la semilla. Sin embargo, si se consideran los requerimientos de grupos más vulnerables para los cuales los LMR son menores, algunos autores señalan en que podrían encontrarse residuos por encima de estos valores (Balinova *et al.*, 2006, 2007). El LMR de DDVP para cereales almacenados es de $5000\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (*Codex*, 2011; SENASA, 2011) y su periodo de carencia es de 20 días; una vez cumplido este tiempo se considera que los niveles de residuos deben encontrarse por debajo del LMR (CASAFE, 2007). Los resultados (Figura 2) mostraron que no hubo residuos por encima de los LMR de DDVP aún en dosis altas de aplicación y tras 60 días de almacenamiento.

Hay autores que aseguran que luego de largos periodos de almacena-

miento los niveles de residuos de plaguicidas en granos almacenados disminuyen notoriamente, encontrándose reducciones de hasta el 85% del nivel inicial de residuos (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009). Coincidentemente, en el presente trabajo los resultados arrojan disminuciones en los niveles de residuos en los periodos de almacenamiento de 60 y 90 días, los que varían según cada producto insecticida. En DDVP los residuos disminuyeron un 96% para dosis normal y 80% para dosis alta, seguido por deltametrina con 65% de disminución en dosis normal y 40% de disminución en dosis alta, y por último clorpirifós metil con 33% de disminución de residuos en dosis normal y 30% en dosis alta. Estos resultados coinciden con las características de cada producto, ya que DDVP es un producto organofosforado de alta tensión de vapor y bajo poder residual, y su periodo de protección es de 15 días (CASAFE, 2007). En cambio, la mezcla del piretroide deltametrina y el organofosforado clorpirifós metil

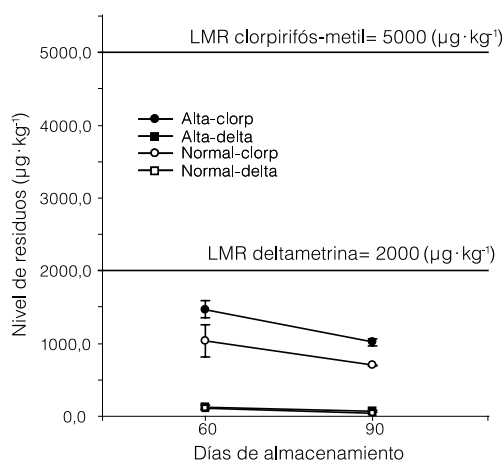


Figura 1. Medias y desvío estándar de los niveles de residuos de clorpirifós-metil y deltametrina aplicados en almacenamiento de granos de maíz en dos dosis (normal/alta) tras 60 y 90 días de almacenamiento luego de la aplicación y su relación con los LMR.

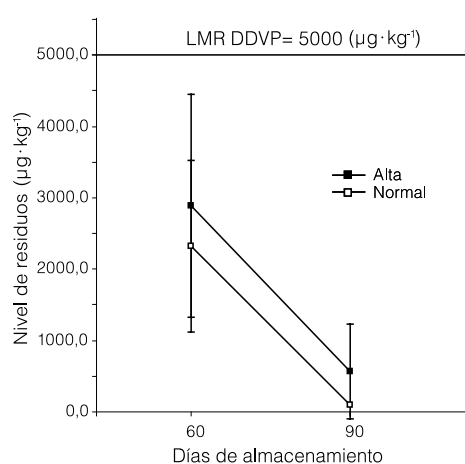


Figura 2. Medias y desvío estándar de los residuos de diclorvós (DDVP) aplicados en almacenamiento de granos de maíz en dos dosis (normal/alta) tras 60 y 90 días de almacenamiento luego de la aplicación y su relación con los LMR.

TABLA III
NIVELES DE RESIDUOS DE
TEBUCONAZOLE ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) APLICADO
EN DOS DOSIS EN GRANOS
DE TRIGO DE DOS CULTIVARES,
ACA 304 Y BIOINTA 3000,
SEMBRADOS EL 12 Y 22/06/2006,
RESPECTIVAMENTE

	Cultivares	
	ACA 304	BIOINTA 3000
Dosis normal	404,9a (*) $\pm 85,8$ (1)	443,6a $\pm 200,1$
Dosis alta	688,9b $\pm 185,5$	939,0b $\pm 185,1$

(*) Los valores corresponden a la media de tres repeticiones \pm el desvío estándar.

(^o) Valores con letras distintas dentro de una columna o fila indican diferencias significativas por el test de LSD Fisher ($\alpha < 0,05$).

tiene menor tensión de vapor que DDVP y su período de protección con la dosis normal es de 90 días (CASAFE, 2007). Se han reportado estudios similares sobre el efecto de diferentes prácticas de procesamiento en la disipación de los residuos coincidiendo en que mayores períodos de almacenamiento permiten una mayor disipación de los residuos, dependiendo de las condiciones (Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009).

En los granos de trigo de ambos cultivares, provenientes de los ensayos de aplicación de tebuconazole en el campo, se detectaron residuos del fungicida aplicado. Los resultados mostraron evidencia estadísticamente significativa ($p=0,0042$) de la influencia de la dosis sobre el nivel de residuos encontrados en los granos, de modo tal que a mayores dosis aplicadas existen mayores niveles de residuos del fungicida en los granos cosechados (Tabla III). No existe evidencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) de la influencia de cultivar-fecha de siembra ($p=0,1803$) ni de la interacción dosis/cultivar-fecha de siembra ($p=0,3137$). El tiempo de carencia del tebuconazole es de 35 días y los LMR permitidos para este fungicida están establecidos en $200\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para SENASA (2011) y $50\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ para *Codex alimentarius* (Codex, 2011). Los niveles de residuos cuantificados en el presente estudio se encontraron por encima de estos valores para las dosis normal y alta en ambos cultivares (Figura 3).

Existen trabajos que demuestran que las condiciones ambientales ejercen influencia sobre los valores de residuos de plaguicidas encontrados en diferentes alimentos de origen vegetal (Coscollá, 1993; Arrébola *et al.*, 2001). Analizando los registros meteorológicos de los meses en los cuales se desarrolló el ensayo (Tabla I) puede observarse que las precipitaciones fueron menores respecto a las precipitaciones

históricas. Algunas causas de eliminación de residuos relacionadas a las condiciones meteorológicas son los fenómenos de 'eliminación aparente' y de 'eliminación mecánica' (Coscollá, 1993). Respecto al fenómeno de 'eliminación aparente' existen estudios que demuestran que con el crecimiento del vegetal, al aumentar el peso de la planta la cantidad relativa del plaguicida queda reducida en proporción al aumento producido (Coscollá, 1993). Debido a las condiciones climáticas del año, el crecimiento del cultivo puede no haber sido máximo y no haberse producido este fenómeno de eliminación aparente. El efecto de la 'eliminación mecánica' se refiere a la acción de fenómenos meteorológicos, en especial lluvias y viento, que disminuyen el depósito inicial de plaguicida sobre el tejido vegetal y de esta forma el nivel de residuos. Las condiciones secas del año del ensayo pueden haber limitado la influencia de estas causas. Los ciclos de ambos cultivares se vieron reducidos por las condiciones restrictivas, realizándose la cosecha del cultivar BIOINTA 3000 (segunda fecha de siembra) antes de haberse cumplido el período de carencia del fungicida. En el cultivar ACA 304 (primera fecha de siembra) los niveles de residuos son menores ya que transcurrió un período mayor entre la aplicación y la cosecha, y se conoce por trabajos previos que existe un efecto de los días tras la aplicación sobre el nivel de residuos (Lorenzatti *et al.*, 2004a), aunque en este caso no hay evidencias significativas de la influencia de las fechas de siembra sobre el nivel de residuos.

En conclusión, utilizando las prácticas habituales de manejo de los insecticidas diclorvos y deltametrina + clorpirifós metil aplicados en almacenamiento de granos de maíz, luego de 60 días de almacenamiento ya no se encuentran residuos

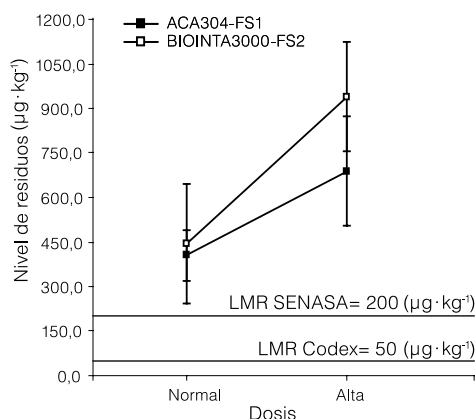


Figura 3. Medias y desvío estándar de los niveles de residuos de tebuconazole aplicados en el campo en granos de trigo en dos dosis (normal/alta) en dos cultivares/fecha de siembra ACA304-FS1 y BIOINTA3000-FS2 y su relación con los LMR.

de plaguicidas que superen los LMR permitidos, por lo que estos granos serían toxicológicamente aptos para el consumo humano. Con respecto a la aplicación del fungicida tebuconazole en el cultivo de trigo, es necesario considerar las condiciones ambientales del año, ya que es posible que aún respetando las indicaciones de uso, en años secos se encuentren niveles de residuos en los granos por encima de los LMR.

Es necesario profundizar en estudios sobre los niveles de residuos de los plaguicidas utilizados en el almacenamiento y en el campo para el control de plagas en cultivos de cereales a fin de conocer en mayor profundidad los efectos de las prácticas habituales en el manejo de plaguicidas y enriquecer las bases científicas en el tema para adecuar las prácticas a cada región geográfica y temporada agrícola en particular. Ello permitirá asegurar alimentos sanos y toxicológicamente aceptables para el consumo humano, procurando la preservación del medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) el subsidio a través de los Proyectos PNCER 03353, PNCER 023531, AETA 03693 y AETA 0283921; a Mauricio Santajuliana, PRECOP INTA Manfredi; a Mónica Balzarini y Cecilia Bruno, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina; al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y al Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba, Argentina.

REFERENCIAS

- Aldana Madrid ML, Valdez Hurtado S, Vargas Valdez ND, Salazar Lopez NJ, Silveira Gramont M, Loarca Piña FG, Rodríguez Olibarria G, Wong Corral FJ, Borboa Flores J, Burgos Hernández A (2008) Insecticide residues in stored grains in Sonora, México: Quantification and Toxicity Testing. *Bull. Env. Contam. Toxicol.* 80: 93-96.
- Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC* 86: 412-431.
- Arrébola F, Egea González F, Moreno M, Fernández Gutiérrez A, Hernández Torres M, Martínez Vidal J (2001) Evaluation of endosulfán residues in vegetables grown in greenhouses. *Pest Manag. Sci.* 57: 645-652.
- Balinova AM, Mladenova RI, Obretenchev D (2006) Study on the effect of grain storage and processing on Chlorpyrifos-methyl and Pirimiphos-methyl residues in post-harvest treated wheat with regard to baby-food safety requirements. *Food Addit. Contam.* 23: 391-397.
- Balinova AM, Mladenova RI, Shtereva DD (2007) Study on the effect of grain storage and processing on deltamethrin residues in post-har-

- vest treated wheat with regard to baby-food safety requirements. *Food Addit. Contam.* 24: 896-901.
- CASAFE (2007) *Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina*. Tomos I y II. 13^a ed. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes-República Argentina. Buenos Aires, Argentina. 2252 pp.
- Codex (2011) *Normas Alimentarias. Codex Alimentarius*. FAO/OMS. www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp (Cons. 29/04/2011).
- Correa CMD, Olivera J do V, Tomisielo VL (2001) Avaliação de resíduos de endossulfan em matriz de vagem e soja para comparação de dois sistemas de aplicação do produto formulado. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 60: 135-139.
- Coscollá R (1993) *Resíduos de Plaguicidas en Alimentos Vegetales*. Mundi-Prensa. Madrid, España. 205 pp.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW (2011) *InfoStat Versión 2011*. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. www.infoestat.com.ar
- FAO (2010) *Límites Máximos del Codex para Resíduos de Plaguicidas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.htm (Cons. 03/05/2011).
- FAOSTAT (2011) *Estadísticas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://faostat.fao.org/> (Cons. 21/06/2011).
- Holland P, Hamilton D, Ohlim B, Skidmore M (1994) Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *Pure Appl. Chem.* 66: 335-356.
- INTA (2011) *Información Meteorológica*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi. Área Agronomía. www.inta.gov.ar/manfredi/info/meteor.htm (Cons. 04/05/2011).
- Kaushik G, Satya S, Naik SN (2009) Food processing a tool to pesticide residue dissipation-A review. *Food Res. Int.* 42: 26-40.
- Lalah JO, Wandiga SO (2002) The effect of boiling on the removal of persistent malathion residues from stored grains. *J. Stored Prod. Res.* 38: 1-10.
- Lorenzatti E, Althaus R, Lajmanovich R, Peltzer P (2004a) Residues of endossulfan in soy plants in Argentina croplands. *Fresenius Env. Bull.* 13: 89-92.
- Lorenzatti E, Maitre M, Argelia L, Lajmanovich R, Peltzer P, Anglada M (2004b) Pesticide residues in immature soybeans of Argentina croplands. *Fresenius Env. Bull.* 13: 675-678.
- Miyahara M, Saito Y (1994) Effects of the processing steps in tofu production on pesticide residues. *J. Agric. Food Chem.* 42: 369-373.
- Novo R, Cavallo A, Cragnolini C, Nóbile R, Bracamonte E, Conles M, Ruosi G, Viglianco A (2008) *Protección Vegetal*. 3^a ed. SIMA. Córdoba, Argentina. 610 pp.
- Piñero González M, Izquierdo Córser P, Allará Cagnasso M, Urdaneta A (2007) Organochlorine pesticide residues in 4 types of vegetable oils. *Arch. Latinoam. Nutr.* 57: 397-401.
- SENASA (2011). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Disponible en <http://www.senasa.gov.ar/indexhtml.php>. (Cons. 12/04/2011).
- SIIA (2011) *Serie Estadísticas. Agricultura*. Sistema Integrado de Información Agropecuaria. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Buenos Aires, Argentina. www.siiia.gov.ar/index.php/series-por-tema/agricultura (Cons. 02/05/2011).

EVALUATION OF PESTICIDE RESIDUES ON CORN (*Zea mays* L.) AND WHEAT (*Triticum aestivum* L.) GRAINS IN STORAGE AND FIELD AFTER APPLICATION

Julieta Strada, Alejandra Ricca, Martha Conles, Mercedes Silva, Dante Rojas, Cristiano Casini, Federico Piatti and María José Martínez

SUMMARY

Pesticide applications are a serious risk to health, environment and exports, if not applied properly in order to produce healthy grains without pesticide or under maximum residue limits (MRL). The objective of this work was to identify the level of residues that are generated by insecticide application in storage trials in corn and fungicide application in experimental field trials in wheat, their variations and the relationship with the MRLs. The purpose of the storage trials and experimental field in corn and wheat respectively, was to determine whether the management practices currently used in relation to pesticide applica-

tion results in toxic residues in the grains exceeding MRLs. The insecticide treatments were dichlorvos and deltamethrin plus chlorpyrifos-methyl applied on stored corn grains and the fungicide tebuconazole applied at the wheat field. For pesticide extraction from grains the 'QuEChERS' technique was used, while pesticide residues were determined by high resolution gas chromatography with mass detector. In stored corn the residue levels decrease with prolonged storage time of the grains, being below the MRLs. In field experiments the results show high values of tebuconazole residues in wheat grains, exceeding MRLs.

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM GRÃOS DE MILHO (*Zea mays* L.) E TRIGO (*Triticum aestivum* L.) POSTERIOR À APLICAÇÃO EM ARMAZENAMENTO E NO CAMPO

Julieta Strada, Alejandra Ricca, Martha Conles, Mercedes Silva, Dante Rojas, Cristiano Casini, Federico Piatti e María José Martínez

RESUMO

As aplicações de praguicidas nos cultivos e produtos de colheita constituem um sério risco para a saúde, o meio ambiente e as exportações, se não se utilizam adequadamente com o fim de produzir grãos livres de praguicidas ou com níveis abaixo dos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos. O objetivo deste trabalho foi identificar os níveis de resíduos de inseticidas aplicados em grãos de milho durante o armazenamento e de fungicidas no cultivo de trigo no campo, suas variações e relação com os LMR. A finalidade destes ensaios dirigidos foi determinar se, utilizando as práticas de manejo de praguicidas habituais nos cultivos e produtos de colheita, ficam resíduos nos grãos

que superem os LMR. Nos ensaios de armazenamento de grãos de milho se aplicaram os inseticidas diclorvós (DDVP) e deltametrina mais clorpirifós metil e no cultivo de trigo o fungicida tebuconazole. Para a extração de praguicidas dos grãos se utilizou a técnica de 'QuEChERS' e a determinação de resíduos se realizou por cromatografia gasosa de alta resolução com detector de massa. Em grãos de milho armazenados os níveis de resíduos diminuíram ao prolongar-se o período de armazenamento, encontrando-se por abaixo dos LMR. Ao contrário, nos ensaios no campo, os resultados mostraram valores de resíduos de tebuconazole em grãos de trigo que excedem os LMR.