




Determinación de residualidad de fungicidas benomil y carbendazim en arveja (*Phisum sativum*) sometida a procesos de conservación

Determination of residuality of benomil and carbendazim fungicides in peas (*Phisum sativum*) subjected to conservation processes

Oswaldo Osorio Mora , Andreina Samper ,
Juan José Lozada Castro , David Arturo-Perdomo 
Universidad de Nariño, Colombia

OPEN ACCESS

Recibido:
21/06/2024
Aceptado:
16/08/2024
Publicado:
18/10/2024

Correspondencia:
osorio_oswaldo@udenar.edu.co

DOI:
<https://doi.org/10.17081/invinno.12.2.7198>



Copyright 2024 by
Investigación e Innovación en
Ingenierías

Resumen

Objetivo: Validar una metodología analítica para la determinación de la concentración de los plaguicidas benomil y carbendazim en muestras de arveja frescas y procesadas. **Metodología:** Se realizó la validación del método determinando los parámetros analíticos de sensibilidad, precisión y exactitud, utilizando para la extracción de los compuestos de interés el método de extracción sólido-líquido denominado Quechers y el análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia. **Resultados:** Los resultados de la validación del método analítico fueron adecuados para la separación, identificación y cuantificación de los plaguicidas carbendazim y benomil. De igual manera, el método de extracción de los plaguicidas arrojó resultados muy adecuados en cuanto a la exactitud. En cuanto a la determinación de los plaguicidas en muestras se determinó un contenido entre 0.004 a 0.560 mg. L-1 de carbendazim. **Conclusiones:** La concentración de este compuesto en las muestras de arveja enlatada se encuentran dentro de los límites aceptados por el Codex alimentario.

Palabras claves: Pesticidas, alimentos, agroquímicos, arvejas, cromatografía líquida.

Abstract

Objective: Validation of analytical methodology to determine the concentration of the benomyl and carbendazim pesticides in fresh and processed peas. **Methodology:** The analytical validation was carried out determining the analytical parameters of sensitivity, precision and accuracy, using solid-liquid extraction of the compounds by the Quechers method and analysis by high efficiency liquid chromatography. **Results:** The results of the analytical method validation were adequate for the separation, identification and quantification of the pesticides carbendazim and benomyl. Likewise, the pesticide extraction method had very adequate results in terms of accuracy. Regarding the determination of pesticides in the samples, a content between 0.004 to 0.560 mg L-1 was determined for carbendazim. **Conclusions:** The contents of carbendazim in canned peas are below the limits accepted by the Codex Alimentarius.

Keywords: Pesticides, foods, agrochemicals, peas, liquid chromatography.

Como citar (IEEE): J.E. Herrera Rubio, G.A. Portilla González, A.M. Osorio Velazco "Determinación de residualidad de fungicidas benomil y carbendazim en arveja (*Phisum sativum*) sometida a procesos de conservación", *Investigación e Innovación en Ingenierías*, vol. 12, no. 2, pp. 141-153, 2024, doi: <https://doi.org/10.17081/invinno.12.2.7198>

Introducción

En regiones agrícolas, para combatir el deterioro de la arveja (*Phisum sativum*) debida a hongos, se usan los fungicidas Benomil (BEH) y Carbendazim (MBC), los cuales se aplican desde el tratamiento de la semilla de manera preventiva hasta terminada la cosecha. Estos plaguicidas clasificados como benzimidazólicos, son usados por su acción fungicida y debido a su acción sistémica, entran en los tejidos vasculares de la planta a través del follaje o raíces, y son trasladados por la savia a diferentes partes de la planta en donde actúan inhibiendo la biosíntesis de ergosterol [1]. La Arveja después de la cosecha tiene un corto tiempo de vida útil (7 a 10 días sin refrigeración), por acción de procesos fisiológicos en su desarrollo y frecuentemente por la aparición de especies de hongos del género *Ascochyta* (*Ascochyta pisi*, *Ascochyta pinodes* y *Ascochyta pinodella*) [2].

Para reducir el deterioro de productos agrícolas en postcosecha por procesos fisiológicos, es necesario recurrir a métodos de conservación; los más utilizados son el enlatado y los empaques plásticos, métodos que protegen y preservan las características favorables del producto y presentan ventajas adicionales como disponibilidad en épocas fuera de cosecha, fácil manipulación, manejo, transporte y almacenamiento del producto por largo tiempo inclusive a temperatura ambiente [3]. En el enlatado se realiza una etapa de esterilización, que implica, aplicación de tratamiento térmico a alta temperatura durante tiempos ya establecidos (HTST) para destruir microorganismos; el cierre hermético mantiene un entorno en el contenedor que impide el crecimiento de otros microorganismos de mayor resistencia, e importante, evita la contaminación y crecimiento de patógenos que pueden producir toxinas durante el almacenamiento.

Los pesticidas BEH y MBC producen efectos agudos indeseables para la salud como vómitos, irritaciones, abortos y coma, en exposiciones cortas de tiempo; y crónicos, como cáncer, malformaciones, etc., en exposiciones largas en tiempo, finalmente en ambos casos puede conllevar hasta la muerte [4]. El uso indiscriminado de BEH y MBC contaminan también suelos, fuentes hídricas y vegetales, afectando a organismos que hacen parte de ecosistemas, principalmente aves y abejas, además de influir en microorganismos favorables al suelo, llevando al aumento de plagas en cultivos y posibilitando su resistencia [5]. Cuando los productos agrícolas llegan al consumidor, actividades iniciales como lavado y limpieza, reducen la cantidad de residuos de plaguicidas, sin embargo, algunos metabolitos y productos de degradación de interés toxicológico, persisten en alimentos frescos y procesados [6].

La determinación de pesticidas benzimidazólicos requiere de métodos selectivos, precisos y exactos, puesto que son compuestos inestables, se encuentran a nivel de trazas y están presentes en matrices complejas, por ello en este estudio se validó una metodología para determinar residuos de benzimidazoles en arvejas, en concentraciones inferiores a sus límites máximos de residuos (LMR) y establecidos en el Codex alimentarios aplicando como técnica analítica HPLC, en la preparación de las muestras se aplicó la técnica QuEChERS, la cual permite una extracción y limpieza efectiva de los pesticidas presentes en la muestra; este método de extracción ha sido utilizado con adecuados resultados por otros autores [7,8].

Metodología

Reactivos y materiales

Estándares de los pesticidas Benomil estándar analítico de 98.5% y Carbendazim estándar analítico de 97%, fueron adquiridos con Sigma-Aldrich, (St. Louis, MO, EE. UU). Los reactivos acetato de etilo 99.5% y ácido acético glacial 99.8% de la marca

Sigma-Aldrich, (St. Louis, MO, EE. UU). Acetonitrilo grado HPLC adquirido de Honeywell Burdick & Jackson (NJ, EE. UU), hidroxido de sodio 97% adquirido con Carlo Erba (Milan, Italia). QuEChERS roQ™ Extraction Kit (Phenomenex, EE. UU).

Muestreo

Se realizó un muestreo simple aleatorio a las muestras obtenidas de 3 fincas productoras de arveja de las variedades Alcalá y San Isidro, provenientes del municipio de Ipiales, Nariño, suroccidente de Colombia [9,10], cada plantación se dividió en 4 unidades, dentro de éstas se tomaron sub-unidades cuyo follaje fuera uniforme, la selección fue basada en los criterios establecidos por la Norma NTON-17002-02 [11]. De las dos muestras de arveja tanto fresca como para procesar y de las variedades estudiadas, se tomó una sub-muestra de 100 g, se homogeneizaron, se tomó una muestra analítica de 10 g que representa el 0.5% de la muestra tomada inicialmente y se procedió a la extracción.

Validación del método mediante HPLC-DAD

Preparación de soluciones estándar

A partir de una solución stock de 100 mg L⁻¹ de BEH y MBC, se preparó una solución de concentración 5.0 mg L⁻¹ la cual se filtró a través de un filtro de GHP de 0.45 µm x 13 mm (Pall corporation, EE. UU). Esta solución se utilizó para la determinación de las condiciones cromatográficas adecuadas para el análisis de los compuestos de interés.

Condiciones cromatográficas

Para el análisis de los compuestos de interés se utilizaron como referencia las condiciones analíticas reportadas por Araujo y Dallos [1]. Para la separación de los plaguicidas se utilizó una columna analítica C18 Kinetex (4.6 x 250 mm, 3.5 µm; Phenomenex, EEUU). Se ajustaron condiciones para el equipo HPLC-PDA evaluando los parámetros de flujo óptimo con la elaboración de curvas de Van Deemter, se realizaron pruebas para la separación de los analitos en modo de elución isocrática y gradiente, cambiando la composición de la fase móvil, se realizó un análisis de idoneidad del sistema evaluado con los criterios de factor de capacidad (*k'*), número de platos teóricos, resolución y precisión de los tiempos de retención y áreas cromatográficas. Luego de la verificación de las condiciones de análisis, se procedió a la validación de los parámetros cromatográficos.

Selectividad

Se realizaron análisis de identificación y confirmación de los analitos de productos comerciales de interés frente a las siguientes posibles interferentes, utilizando productos comerciales componentes de la matriz. Se evaluaron las señales cromatográficas correspondientes a los excipientes cercanos a los tiempos de retención de los analitos de interés. Se prepararon blancos de matriz (muestras libres de fungicidas) y muestras fortificadas con BEH y MBC por separado a concentración de 1.0 mg L⁻¹, las muestras fortificadas fueron homogeneizadas con 10 mL de agua tipo I (acidificada con 5.0 µL de ácido acético). Posteriormente se realizó el procedimiento de extracción con QuEChERS, se tomó 1.0 mL de los extractos los cuales fueron acidificados con 5.0 µL de ácido acético adicionales. Los extractos se filtraron y analizados por HPLC-DAD. Para la evaluación de excipientes, se preparó una solución de 100 mg L⁻¹ a partir de los productos comerciales de los

fungicidas MBC y BEH, se adicionó 20 mg de cada uno (teniendo en cuenta que el principio activo es del 50%) a un matraz de 100 mL. A partir de esta solución se preparó una solución de concentración de 1.0 mg L^{-1} la cual se filtró y analizó por HPLC.

Evaluación efecto matriz

Muestras libres de fungicidas (blanco matriz) fueron fortificadas a concentración de 5.0 mg L^{-1} con solución estándar de MBC, posteriormente se realizó extracción con QuEChERS, el extracto se filtró y analizó por HPLC.

Efecto del pH en muestras fortificadas

45 g de muestra libre de fungicidas (blanco matriz) se dividió en 3 partes (15 g c/u), las cuales fueron homogeneizadas con 10 mL de agua tipo I (acidificada con $5.0 \mu\text{L}$ de ácido acético) posteriormente fueron fortificadas a concentración de 1.0 mg L^{-1} . Esta solución representa el nivel medio (pH 4.25), posteriormente se realizó extracción con QuEChERS. Se prepararon dos extractos adicionales, uno con adición de $5.0 \mu\text{L}$ de NaOH en 1.0 mL del extracto para el nivel alto (pH=6.0) y en la adición de $5.0 \mu\text{L}$ de ácido acético en 1.0 mL del extracto para el nivel bajo (pH=3.0), este procedimiento se realizó de acuerdo a lo reportado por Michel y Boguslaw [12], los 3 extractos fueron filtrados y analizados por HPLC.

Efecto de la temperatura con muestras fortificadas

45 g de Muestra libre de fungicidas y homogeneizada se dividió en 3 partes (15 g c/u) las cuales fueron homogeneizadas con 10 mL de agua (acidificada con $5.0 \mu\text{L}$ de ácido acético) posteriormente fueron fortificadas a concentración de 1.0 mg L^{-1} con el estándar obtenido de las soluciones madre de BEH y MBC. Cada muestra fue sometida a un baño de hielo a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ nivel bajo, calentamiento a $90 \text{ }^\circ\text{C}$, nivel medio y $120 \text{ }^\circ\text{C}$ nivel alto. Posteriormente se realizó la extracción con QuEChERS, los 3 extractos fueron filtrados y analizados por HPLC.

Linealidad del sistema cromatográfico

Se realizó una recta de calibración, para lo cual se prepararon soluciones de concentración conocida a partir del estándar de MBC en un rango de concentración de 0.01; 0.05; 0.10; 0.50; 1.00 y 5.0 mg L^{-1} .

Linealidad del método

Se determinó analizando la matriz (blanco de arveja) fortificada con el estándar de MBC en el siguiente rango de concentraciones: 0.01; 0.05; 0.10; 0.50; 1.0 y 5.0 mg L^{-1} . Se trabajó con tres replicas para cada punto de la recta de calibración, además se determinó el rango lineal a partir de herramientas estadísticas como ANOVA utilizando el paquete estadístico Statgraphics centurión plus versión XVII, para validar el ajuste a los modelos matemáticos establecidos, mediante el estadístico F y el R^2 y otros como T-student y G-cochran.

Límites de detección y cuantificación

Se estimaron a partir de la recta de calibración para bajas concentraciones de los analitos con 10 determinaciones individuales (n'), de la recta de calibración se determinó la pendiente (b) y por extrapolación a concentración cero, se obtuvo un estimado de la respuesta del blanco (Y_{bl}), a partir de la desviación estándar correspondiente a cada concentración, se determinó la recta correspondiente y por extrapolación se estimó la desviación estándar del blanco (S_{bl}), los límites de detección y cuantificación se calcularon a partir de las ecuaciones 1 y 2, en las cuales se considera 3 y 10 veces la desviación estándar del blanco respectivamente.

$$\text{Límite de detección} = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

$$\text{Límite de Cuantificación} = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

Como complemento a este método se llevó a cabo la determinación de los límites mediante las ecuaciones 3 y 4

$$LOD = 3 * \frac{N}{b} \quad (3)$$

$$LOQ = 10 * \frac{N}{b} \quad (4)$$

Dónde: N = desviación estándar de 10 determinaciones individuales, b = pendiente de la recta calibración a bajas concentraciones de los analitos.

Precisión

La repetibilidad del sistema se determinó a partir de la solución madre de 100 mg L⁻¹, se preparó una solución estándar a concentración de 5.0 mg L⁻¹ realizando 5 inyecciones de esta solución. La precisión del método se realizó fortificando muestras libres de fungicidas (blanco matriz a una concentración de 5.0 mg L⁻¹ con una solución estándar de MBC total, posteriormente se llevó a cabo el procedimiento de extracción QuEChERS, una vez obtenidos los extractos se filtraron y se analizaron por HPLC-DAD. La reproducibilidad del método se evaluó realizando 6 inyecciones, entre días diferentes y entre 2 analistas y valorando tres réplicas por día a partir de muestras libres de fungicidas (blanco matriz) fortificadas a concentración de 5.0 mg L⁻¹ con solución estándar de MBC.

Exactitud

Se evaluó mediante estudios de recuperación, para ello se llevaron a cabo 3 réplicas de cada extracto enriquecidos a 0.01; 0.05; 0.1; 0.5; 1.0 y 5.0 mg L⁻¹, la evaluación de este parámetro tuvo como criterio de aceptación el establecido por el Codex para residuos de plaguicidas, que considera recuperaciones aceptables entre 70% y 120% [13].

Preparación de muestras

Las muestras se trituraron y homogeneizaron en un mortero por separado. Para la muestra fresca se adicionó 10 mL agua tipo I (acidificada con 5.0 µL de ácido acético) garantizando una mezcla homogénea y para la muestra procesada se retiró el líquido de conservación y se acidificó. Debido a que el LMR para Benomil corresponde a la suma de los residuos de éste y de su forma hidrolizada activa (Carbendazim) fue necesario asegurar la hidrólisis de BEH a MBC acidificando las muestras antes de realizar el proceso de extracción a pH 4.25, por ello se adicionó ácido acético, esto con tratamiento térmico a temperatura de 80 °C durante una hora con agitación magnética constante siguiendo los protocolos reportados para estos compuestos [1,14]. El pH 4.25 mantiene estable al MBC. Para la extracción de los residuos de plaguicidas se aplicó el procedimiento de extracción QuEChERS [15] utilizando el kit, que contiene sulfato de magnesio anhidro, PSA (amina primaria secundaria), GCB (carbón grafitado), C18 (octadecilsilil), cloruro de sodio y citrato de trisodio dihidratado. El procedimiento implicó las siguientes etapas: se pesó 10 g de la muestra ya homogenizada con tratamiento térmico, se trasvaso a tubos de centrifuga y se adicionó 10 mL de acetonitrilo grado HPLC, se agitó y se adicionó el tubo contenedor de las sales (QuEChERS), se agitó vigorosamente durante 16 minutos, se centrifugó durante 20 minutos a 4500 rpm, se obtuvieron dos fases separadas debido a la adición de cloruro de sodio y cloruro de magnesio, se tomó la fase superior donde se encontraron los analitos de interés, se añadieron los citratos como agentes reguladores de pH, se tomó 1.0 mL del extracto al cual se le realizó limpieza de la muestra con un filtro GHP de 0.45µm x 13mm, quedando así listo para el análisis por HPLC.

Proceso de conservación de la arveja

Una vez recolectadas las muestras de arveja de las variedades establecidas, se procedió a realizar tres (3) tratamientos; T0 solamente un lavado con agua a temperatura ambiente, T1 = tratamiento térmico a 100 °C durante 5 min, T2= exhausting y enlatado, para ello se utilizó la metodología descrita por Pinchao y Osorio [16] con algunas modificaciones, para el caso de T2, el material fue previamente seleccionado y escaldado a 100 °C por 5 minutos, se utilizaron latas de 65 x 102 mm, con 165 g de arveja y completadas con líquido de cobertura (temperatura del líquido 92-95 °C) hasta obtener un espacio de cabeza de 8 mm aproximadamente. Posteriormente se llevó a cabo el exhausting por 1 minuto a 92-95 °C y se realizó el sellado hermético de las latas con una cerradora Julius M.J., las latas selladas se colocaron en autoclave All American Epss modelo 75X. Las condiciones de operación conforme al protocolo reportado por Pinchao y Osorio [16], incluidas las etapas de venteo y esterilización, en esta última se subió la temperatura lo más rápido posible hasta alcanzar la requerida del proceso. Posteriormente el producto se enfrió en un freezer hasta alcanzar los 30°C, el enlatado de arveja se conservó en refrigeración para ser analizado por HPLC utilizando la metodología planteada para la preparación de las muestras frescas.

Resultados

Idoneidad del sistema

Los resultados de factor de capacidad y el número de platos teóricos obtenidos a partir de 5 inyecciones del estándar MBC + BEH a una concentración de 5.0 mg L⁻¹ se registran en la Tabla 1. La evaluación de los parámetros se realizó teniendo en cuenta las especificaciones establecidas en AEFI [17].

Tabla 1. Datos de idoneidad del sistema para MBC

Inyección	Área (mV min ⁻¹)	Tiempo de retención (min)	K'	Platos teóricos	Resolución
1	726360	8.500	2.380	2235	7.660
2	745252	8.380	2.300	2350	8.450
3	756940	8.380	2.300	2223	8.250
4	752730	8.380	2.300	2353	8.480
5	743602	8.370	2.290	2223	8.330
Promedio	744976	8.420	2.310	2276	8.230
S	11745,0	0.090			
% RSD	1.57	1.100			

Dónde K' es el factor de capacidad. Límites de confianza al 95% del tiempo de retención: 7.69-8.5.

Fuente: Elaboración propia

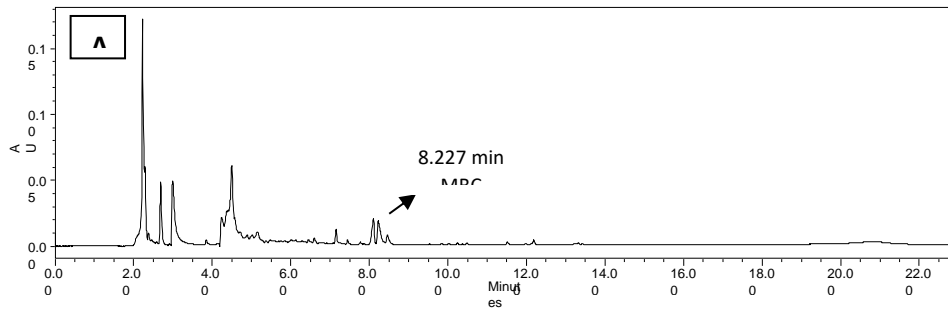
Teniendo en cuenta los criterios establecidos se determinó que el sistema es confiable y se puede utilizar para la validación de la metodología y análisis de los compuestos sometidos a estudio, debido a que cumple con los criterios de aceptación, los platos teóricos son mayores a 2000, el factor de capacidad y la resolución es mayor a 2.0 y el coeficiente de variación de áreas y tiempos de retención es < 2%, teniendo en cuenta que se permite un intervalo no mayor al 10% en tiempo de retención. El límite de confianza del tiempo de retención para el MBC está en el rango de 7.69 a 8.51 min.

Selectividad

El cromatograma del experimento de hidrólisis ácida para BEH y MBC se registra en la Figura 1.A. Se observan 5 señales (picos cromatográficos), a los 8.2 min aproximadamente aparece la señal correspondiente al Carbendazim, a los 7.2; 8.1; 8.4 y 12.2 min aproximadamente, aparecen señales correspondientes a compuestos presentes en la matriz del extracto de arveja. No se observan picos que correspondan a una posible degradación del Carbendazim y este mantiene su concentración inicial de 1.0 mg L⁻¹ de acuerdo a la recta de calibración. En el cromatograma correspondiente a hidrólisis ácida de BEH (Figura 1.B); se presentan 3 señales; en el rango de 8.2 a 8.5 min aproximadamente aparece las señales correspondientes a la conversión de BEH a MBC; a los 11.6 min aparece un pico correspondiente a componente de la matriz y a los 12.4 min aparece el pico correspondiente a Benomil. En disolución acuosa y pH ácido (4.25) BEH se transforma rápidamente en MBC con un tiempo de vida medio de 2 horas siendo el único producto de degradación de Benomil a estas condiciones [12,14]. Por esta

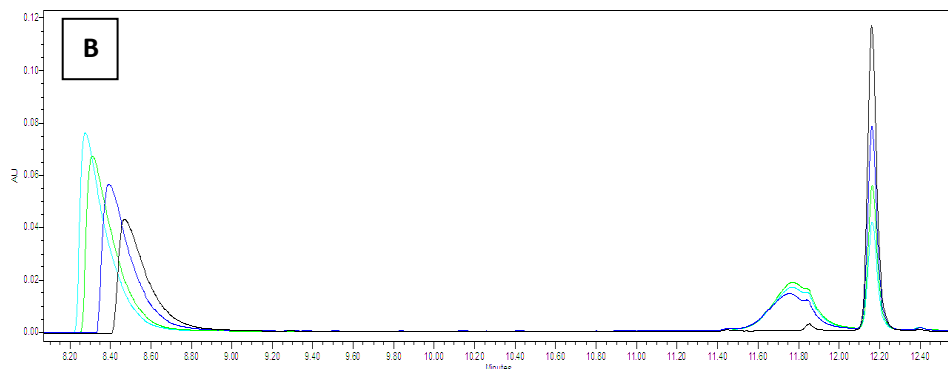
razón, los análisis reportados para estos dos fungicidas se determinaron de manera conjunta como MBC total. Se realizó el análisis de un extracto fortificado con Benomil al cabo de 1 hora con tratamiento térmico a 80 °C y acidificado, determinando que no existe presencia de Benomil; únicamente se observó la señal correspondiente al Carbendazim, confirmando la efectividad del tratamiento de hidrólisis ácida.

Figura 1. A. Cromatograma de Carbendazim a 1mg/L y luego acidificada. Detección a 285nm



Fuente: Elaboración propia

Figura 1.B. Comparación de cromatogramas de soluciones de Benomil acidificadas. Detección a 285nm

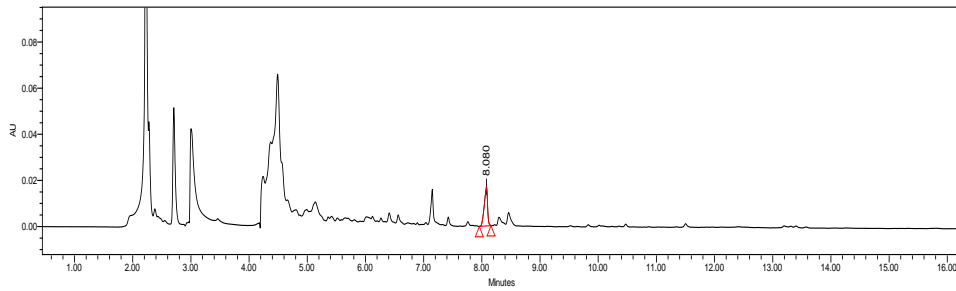


Fuente: Elaboración propia

Evaluación del efecto matriz

El cromatograma correspondiente al efecto matriz (Figura 2) presenta 4 señales significativas en el rango de 7.4 a 8.4 min cercanas a la señal del MBC; a los 7.4; 7.7; 8.2 y 8.4 min aparecen las señales correspondientes a componentes de la matriz; la señal que aparece a los 8.0 min corresponde a la fortificación de MBC. Ninguno de los picos cromatograficos de la matriz interfieren en identificación y cuantificación del MBC.

Figura 2. Cromatograma de señales cercanas a MBC en extracto de muestras de arveja; Detección 285nm



Fuente: Elaboración propia

Linealidad del sistema

El coeficiente de correlación es igual a 0.9999, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables; por tanto; se evidencia un comportamiento lineal en el intervalo de concentraciones entre 0.01 a 5.0 mg L⁻¹ para MBC. De igual forma se evaluó la linealidad del método; fortificando muestras libres de fungicidas utilizando soluciones estándares de MBC, con lo cual se obtuvo un coeficiente de determinación con valor de 99.98%, lo que indica una relación fuerte entre las variables; por lo tanto, se evidenció un comportamiento lineal en el intervalo de concentraciones entre 0.01 a 5.0 mg L⁻¹ para el método.

Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación para el método implementado presentan valores de 3.9 y 4.8 ng L⁻¹ respectivamente indicando que el método permite determinaciones de benomil+carbendazim a nivel de trazas.

Precisión

Los valores obtenidos para la precisión en términos de repetibilidad se registran en la Tabla 2. El valor de la desviación estándar relativa (RSD) para el sistema fue de 0.55 y el análisis de varianza para los resultados de precisión inmediata no presentan diferencias estadísticamente significativas entre días y analistas; por lo que el método es preciso desde puntos de vista de repetitividad y reproducibilidad. Una vez calculados los %RSD obtenidos para la precisión intra e interdía; se evidencia que estos valores son aceptables; pues se ajustan a los rangos establecidos al máximo establecido por el ANLA [18] para trazas en concentraciones de 10 mg L⁻¹ de analito.

Tabla 2. Precisión del método cromatográfico

Repetibilidad		Reproducibilidad		
Inyección	Área mV s ⁻¹	Analista	Área cromatográfica	
			Día 1	Día2
1	723112		713844	642442
2	728488			
3	721719			

4	732899	1	762781	663829
5	727210		707692	682121
6	726884	2	684723	672478
Desv.	3990,00		684358	636176
Prom.	726718			
% RSD	0.549			
		623390	683646	

Donde %RSD: Valor de la Desviación Estándar Relativa.

Fuente: Elaboración propia

Exactitud

Los porcentajes de recuperación para las muestras fortificadas están en el rango del 94.5 hasta 101.8% por lo cual; son adecuados según lo establecido en los criterios de aceptación reportados por Ambrus y Fajgel [19] en la validación para el análisis de residuos de plaguicidas para concentraciones mayores a 1.0 mg L⁻¹.

Análisis de muestras

Las muestras de arveja procesadas según metodología de Pinchao y Osorio [16] y Garrote et al [20] presentaron concentraciones de MBC las cuales se registran en la Tabla 3. En La primera etapa (T₀) se encontraron contenidos de MCB de 0.56 y 0.22 mg L⁻¹ para las dos variedades San Isidro y Alcalá respectivamente; indicando que después del tratamiento (T₀) se presentan concentraciones que sobrepasaron el LMR. Aplicando el tratamiento (T₁) se disminuyó los contenidos de MBC total sin que se llegaran a encontrar por debajo del LMR; mientras que el tratamiento final (T₂) dio como resultado que las muestras analizadas presentan concentración cuantificable, pero por debajo del LMR, lo cual le confiere al producto final (enlatado) la característica de apto para comercialización y consumo según el Codex [6]. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que la variedad San Isidro presenta mayor concentración de MBC total durante todo el procesamiento por lo que existe una mayor bioacumulación en las muestras de esta variedad con respecto a la variedad Alcalá [21]. Como análisis complementario se realizó la extracción y cuantificación a las vainas de las dos variedades para determinar el porcentaje de fungicida (MBC) remanente al momento de la cosecha.

Tabla 3. Cuantificación de MBC total variedad San Isidro y Alcalá

Variedad	Tratamiento	Concentración	LMR
		mg L ⁻¹	mg L ⁻¹
San Isidro	T ₀	0.56 >	0.01
	T ₁	0.27 >	
	T ₂	0.01 ≤	
Alcalá	T ₀	0.22 >	0.01
	T ₁	0.17 >	
	T ₂	0.004 ≤	

Donde T₀: Lavado con agua a temperatura ambiente; T₁: Calentamiento a 100 °C durante 5 min; T₂: Exhausting y enlatado; LMR: Límites Máximos de Residuos.

Fuente: Elaboración propia

Respecto al análisis de las vainas de arveja registrados en la Tabla 4, se determinó que las concentraciones encontradas en estas muestras sobrepasan en gran

medida los LMR y aunque estas no son consumibles es notable la bioacumulación y persistencia que presentan. De acuerdo a las indicaciones de los productos comerciales empleados en este tipo de cultivo, los agricultores agregan un promedio de 1500 mg L⁻¹ durante la siembra, crecimiento y cosecha, que representarían la residualidad en las vainas de las variedades, que corresponden a 3.69 % de la variedad Alcalá y 2.52 % de la variedad San Isidro. Aunque el tiempo de vida media de algunos fungicidas puede ser muy corto se puede observar que algunos pueden ser muy persistentes en las plantas aunque no sean aplicados directamente; No obstante las concentraciones pueden ser pequeñas como se observaron en las tablas de resultados pero muy posiblemente se presente una bioacumulación lo cual hace que aumente la concentración gradualmente; convirtiendo esto en un riesgo potencial para la salud humana y el medio ambiente, teniendo en cuenta que estos desechos orgánicos son comúnmente utilizados como abonos o incluso como alimento para animales, lo que los convierte en contaminantes de fuentes hídricas y suelos.

Tabla 4. Cuantificación de MBC total en las vainas de las dos variedades

Variedad	Concentración (mg L ⁻¹)	% Residualidad
Alcalá	55.30	3.69%
San Isidro	37.86	2.52%

Fuente: Elaboración propia

Conclusión

Los resultados de la validación del método analítico fueron adecuados para la separación, identificación y cuantificación de los fungicidas MBC y BEH. La precisión alcanzó RSD % menores a 6%, determinando que el método es repetible y reproducible, como también es exacto debido a que se encontró un % de recuperación igual al 97.63 % en promedio, lo que permitió la cuantificación apropiada de los fungicidas. La extracción a partir del método QuEChERS mostró ser eficiente debido al menor tiempo de preparación de las muestras y otorga adecuados porcentajes de recuperación, obteniéndose extractos adecuados para ser analizados en el HPLC-DAD. Por otra parte, en cuanto a los tratamientos, Los extractos de las arvejas del T0 y T1 mostraron una residualidad de MBC total superior a los LMR establecidos por el Codex alimentarius para ambas variedades, observándose un decrecimiento en las concentraciones de residuos a medida que se avanzó en el proceso de conservación, finalmente los extractos del T2 correspondientes al producto final (enlatado) de arveja no presentaron residuos superiores al 0.01 mg L⁻¹ permitido para el consumo.

Referencias bibliográficas

1. Dangond Araujo, J. J., Guerrero Dallos, J. A. Metodología para la determinación de Residuos de fungicidas benzimidazolicos en fresa y lechuga por HPLC-DAD. Revista Colombiana de Química. 35(1), 67-79, 2006. [<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309026667001>]
2. Valencia, A., Timana, Y., Checa, O. Evaluación de 20 Líneas de Arveja (*Pisum sativum* L.) y su Reacción al Complejo de Ascochyta. Revista de Ciencias Agrícolas. 29(2), 39 - 52. 2012.
3. Charley, H. Tecnología de Alimentos: Procesos Físicos y Químicos en la Preparación de Alimentos, 1ra Ed Limusa: Madrid, 2011.
4. Phytohemeroteca 196. La evolución del equipo mecánico para la aplicación de fitosanitarios en los últimos veinte años, 2020. En línea. Disponible en: <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/196-febrero-2008/la-evolucion-del-equipo->

mecanico-para-la-aplicacion-de-fitosanitarios-en-los-ultimos-veinte-anos.

5. Montti, M., Visciglio, S., Raviol, F., Subovich, G., Munitz, M. Incidencia de la carga inicial de pesticidas en fruta sobre los niveles residuales en aceites esenciales cítricos. *Ciencia, Docencia y Tecnología*. 47, 187-218. 2013. [<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14529884008>]

6. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Límites máximos del codex para residuos de plaguicidas.2005. En línea. Disponible en: <http://www.fao.org/waicent/faostat/Pest-Residue/pest-s.html>.

7. Danaher, M., Ruyck, H., Crooks, S., Dowling, G., O'keeffe, M. Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices; *J. Chromatogr. B*. 845,1–37, 2007.

doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.07.046

8. Nantia, E.; González, D.; Manfo, F.; Gracia, L.; Campaña, A. Quechers-based method for the determination of carbamate residues in aromatic herbs by UHPLC-MS/MS. *Food Chem*. 216, 334–341. 2017.

doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.038

9. Pacheco, C.; Vergara, M.; Ligarreto, G. Clasificación de 42 líneas mejoradas de arveja (*Pisum sativum* L.) por caracteres morfológicos y comportamiento agronómico. *Revista Facultad Nacional de Agronomía – Medellín*. 63(2), 5543-5553. 2010.<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179918602008>.

10. Checa, O.; Bastidas, J.; Narváez, O. Arveja arbustiva; épocas y tutorado Evaluación Agronómica y Económica de Arveja Arbustiva (*Pisum sativum* L.) En diferentes épocas de siembra y sistemas de tutorado. *Actualidad & Divulgación Científica*. 20 (2), 279- 288. 2017. <https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n2.2017.380>.

11. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO); NTON 17002-02. Norma de procedimientos para muestreo de productos vegetales; comisión nacional de normalización técnica y calidad ministerio de fomento; industria y comercio; Nicaragua. Nov.15. p1-17. 2002.

12. Michel, M., Bogusław, B. J. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method for the determination analysis of carbendazim residue in plant material. *Journal of Chromatography B*. 800, 1-2, 309 - 314. 2004. doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.08.039

13. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). CODEX ALIMENTARIUS. Normas internacionales de los alimentos-plaguicidas. Publicación electrónica. 2010. En línea. Disponible en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/pesticides/es/>.

14. Chiba, M., Cherniak, E. Kinetic Study of Reversible conversion of Methyl 1- (Butylcarbamoil)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl) to Methyl 2-benzimida-zolecarbamate (MBC) and n-Butyl Isocyanate (BIC) in organic Solvents. *J. Agric. Food Chem* .26 (3), 573-576, 1978.[doi:10.1021/jf60217a015](https://doi.org/10.1021/jf60217a015).

15. Food Contaminant and Residue Information System FCRIS, AOAC. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. Official Method. 2007. En línea. Disponible en: <https://nucleus.iaea.org/sites/fcris/Pages/Pesticide-Residue-Methods.aspx>
16. Pinchao, Y., Osorio, O. Determination of Thermal Death Time F0 from Canned Andina and Sureña Pea (*Pisum sativum*). *Revista Vitae*. 23 (S1), 255-259, 2016.
17. Asociación Española Farmacéutica de la Industria AEFI. Validación de métodos analíticos. Ed. Publicaciones AEFI, Madrid, 2001.
18. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia; Autoridad Nacional de Licencias ANLA. Resolución 01233. Bogotá. 24P. 2018.
19. Ambrus, A., Fajgelj. Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals. En principles and practices of methods validation. Royal society of chemistry: Cambridge, 2000.
20. Garrote, L.; Silva, R.; Roa, R. Diffusion and thermal degradation of ascorbic acid during canned fresh green peas sterilization. *International Journal of Food Science and Technology*. 44(10), 1990–1996, 2009. DOI: 10.1111 / j.1365-2621.2009.02018.x.
21. D. F. Ramírez Jiménez, "Sistema de medición y control de temperatura para un prototipo de planta de tratamiento de aguas residuales", *Investigación e Innovación en Ingenierías*, vol. 9, n.º 1, pp. 100–113, abr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.17081/invinno.9.1.4305>