

Pesticidas tradicionales y contaminantes emergentes en la producción hortofrutícola

Claudio Jiménez Cartagena*,
Gustavo Antonio Peñuela Mesa**

Resumen

Las actividades enmarcadas dentro de la cotidianidad del hombre y del sector productivo, conducen a la generación de residuos que impactan drásticamente los ecosistemas y, en especial, los cuerpos de agua. La presencia de microcontaminantes orgánicos persistentes en el ciclo del agua es un tema de gran preocupación debido a la dificultad para su remoción durante los procesos de tratamiento, al aumento considerable de su reuso, al desconocimiento de su presencia o ausencia y a las limitaciones analíticas e instrumentales en el medio. No solo desconocer la naturaleza y persistencia de éstos, sino también sus productos de transformación, constituye una problemática ambiental que pone en peligro la estabilidad de los ecosistemas y la seguridad alimentaria de la población colombiana. El reto analítico e investigativo es muy grande, pero solo el desarrollo de nuevo conocimiento nos hará competitivos en el campo fitosanitario. La preocupación global en cuanto a contaminantes del agua y productos alimenticios como frutas, vegetales, cárnicos y lácteos, entre otros, no se detiene solo en los pesticidas; está orientada a productos como el triclosán y las fragancias (productos de cuidado personal), al nonilfenol y al bisfenol (subproductos del metabolismo de los detergentes), a hormonas esteroidales y antibióticos usados en medicina veterinaria y en farmacoterapia, a policlorados bifenílicos y polibromados bifenílicos (agentes ignífugos), a ftalatos (agentes plastificantes)

* Químico farmacéutico, magíster en Ciencias Básicas Biomédicas Subespecialidad Bioquímica, candidata a doctor en Ingeniería Ambiental. Director Grupo de Investigación Aplicada al Medioambiente (GAMA), Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Lasallista. Caldas- Antioquia-Colombia. Correspondencia: clajimenez@lasallista.edu.co

** Químico, magíster en Química, doctor en Ingeniería Ambiental. Director Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación-GDCON, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia

y a analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (fármacos), entre otros. Por lo anterior, es necesario desarrollar no solo metodologías instrumentales para su cualificación y su cuantificación, sino, pruebas de ecotoxicidad que permitan aproximaciones reales al riesgo de exposición.

Traditional pesticides and emerging pollutants in horticultural production

Abstract

Human activities, including those related to production, lead to generate liquid, solid and gas waste that impact ecosystems in a dramatic way, especially water bodies. Organic micropollutants that persist in water cycles constitute an issue of great concern, given the difficulty to remove them in water treatment processes, the considerable increase of water re-use, the lack of knowledge about their presence or absence in the systems and the analytic and instrumental limitations. Not only ignoring the nature and persistence of such pollutants, but also ignoring their transformation products, is an environmental problem that jeopardizes the stability of ecosystems and the food security of Colombian people. The analytic and research challenge is enormous, but only developing new knowledge will Colombia be a competitive country in the fitosanitary field in international markets. The global concern about water pollutants and food, such as fruits, vegetables, meat and dairy products among others, not only is about pesticides, It is addressed towards products such as triclosan and fragrances in personal care products, nonylphenol and bisphenol (sub products from detergent's metabolisms) steroidal hormones and antibiotics used in veterinary medicine and pharmacotherapy, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyls (flame retardants), phthalates (plasticizers) and non-steroidal anti-inflammatory pain killers, among others. Due to this reason, it is necessary not only to develop instrumental methodologies for their qualification and quantification, but eco-toxicity tests to allow real approaches to the exposition risk.

Introducción

La producción agrícola constituye la principal fuente de alimentos frescos o insumos para la obtención de alimentos procesados. Esta actividad es intervenida por el hombre para aumentar la productividad y obtener el mejor rendimiento. Lo anterior ha llevado a que la agricultura sea extensiva mediante el uso de una gran variedad de agentes agroquímicos con la consecuente probabilidad de que éstos se incorporen en la dieta directamente o a través del agua, del suelo o del

aire, entre otros. La situación anterior se ve favorecida principalmente por el desconocimiento de los agricultores de las implicaciones toxicológicas del producto, el tipo de principio activo, la dosis mínima efectiva, la frecuencia de aplicación, la compatibilidad de principios activos, el correcto almacenamiento y la correcta disposición final de residuos y del material de empaque, entre otros.

En conjunto, los tópicos anteriores determinan pérdidas de grandes cantidades sobre principio activo con una mayor disponibilidad sobre el producto o las diferentes matrices ambientales. Dependiendo de su categoría toxicológica, éste puede ser inocuo o, por el contrario, en algunos casos producir intoxicaciones agudas o intoxicaciones crónicas por exposición continua a pequeñas dosis, que pueden producir efectos fatales a largo plazo.

Para muchos de los contaminantes de mayor uso se han fijado las dosis diarias que no causan consecuencias en el organismo humano, partiendo de las cantidades tolerables por animales de experimentación. Estas concentraciones han permitido definir los límites máximos de residuos químicos en los alimentos. Pese a que en el mundo la contaminación química de los alimentos es objeto de investigación constante y constituye una parte primordial dentro de las políticas de seguridad alimentaria, en Colombia, no solo no constituye una política de gobierno, sino que forma parte del desconocimiento por los organismos de vigilancia y control, e incluso por la academia y la investigación. Estamos limitados solo a determinaciones de metales pesados y dentro de los compuestos orgánicos acudimos a algunos pesticidas tradicionales. Pareciese que no se hubiesen desarrollado nuevas moléculas y que la dinámica del manejo de plagas estuviese estancada.

Entre los contaminantes orgánicos^{1,2}, cuya presencia en los alimentos es más reportada, se pueden citar las siguientes categorías.

- Pesticidas. Por formar parte de una de las prácticas más antiguas de control biológico, estos compuestos son los de mayor uso en muchos países y sustentan la producción masiva de alimentos. Básicamente, los herbicidas, los insecticidas y los fungicidas constituyen el abanico de mayor demanda para controlar enfermedades de cultivos agrícolas en el país.
- Medicamentos de uso veterinario. Sustancias como los agentes antimicrobianos, los antihelmínticos, los agentes anabolizantes, las hormonas, los factores de crecimiento y en especial los antibióticos son del conocimiento popular, pero su residualidad y efectos a largo plazo sobre los ecosistemas aún no son objeto de legislación en Colombia. Se utiliza en los animales de granja para prevenir enfermedades de origen bacteriano o fúngico.
- Microcontaminantes orgánicos emergentes. Definidos como aquellos no previamente reconocidos como tales, dentro de los cuales se incluyen los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP), los detergentes, los policlorobifenilos (PCB), los

ignífugos, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), las fragancias, los agentes plastificantes, las policlorodibenzo-p-dioxinas (PCDD) y los herbicidas ácidos, entre otros. Los cuales en la mayoría de los casos se asocian a procesos de disrupción endocrina no solo en humanos, sino en organismos acuáticos.

- Toxinas naturales. Entre las cuales están las fitotoxinas, las enterotoxinas y las micotoxinas, que deben su presencia en los alimentos a prácticas indebidas dentro de la cadena productiva.

Pesticidas

Según La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de ellas utilizada para prevenir o controlar cualquier especie de planta o animal indeseable, incluyendo las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores de crecimiento como defoliantes o desecantes, durante la producción, almacenamiento, transporte, comercialización o procesamiento.

Debido a su gran variedad y diversidad, su clasificación no se ha estandarizado, pero se orienta en diferentes enfoques, dependiendo de su utilización, naturaleza química, grado de toxicidad y persistencia en el ambiente, entre otras. Entre las categorías más reconocidas tenemos:

1. Tipo de organismo blanco: herbicida, rodenticida, insecticida, fungicida, acaricida, nematocida, entre otros.
2. Naturaleza química: constituye quizá una de las categorías más amplias, ya que el desarrollo de la síntesis química y la creciente rentabilidad dinamizan su producción. Entre las categorías más reconocidas tenemos los compuestos organofosforados, los carbamatos, los organoclorados, las triazinas, entre otros.
3. Toxicidad según la OMS: expresada como DL_{50} (dosis requerida para matar al 50% de la población objeto de estudio), ha clasificado los pesticidas en cuatro categorías: extremadamente peligrosos, altamente peligrosos, moderadamente peligrosos y poco peligrosos.
4. Persistencia: persistentes, poco persistentes o no persistentes

Los principales grupos de pesticidas utilizados en la agricultura se describen a continuación.

Herbicidas

Los herbicidas son productos fitosanitarios utilizados para controlar especies vegetales, no deseadas que dificultan el desarrollo de los cultivos y que han llegado a sustituir en más de un 90% las actividades para tal fin de la agricultura tradicional. Atendiendo a su complejidad química, éstos están en capacidad de interferir el metabolismo de las plantas en diferentes niveles como sistemas enzimáticos, división celular y fotosíntesis, entre otros. Por lo anterior, es difícil agruparlos

en una única clasificación; se pueden agrupar según su mecanismo de acción, su naturaleza química y su método de aplicación, entre otros.

Herbicidas que afectan la fotosíntesis

Básicamente comprende cuatro grupos de los cuales los tres primeros actúan sobre la fase luminica de ésta. No solo son de uso agrícola, sino que su aprovechamiento comprende limpieza de zonas industriales, vías férreas y zonas de almacenamiento

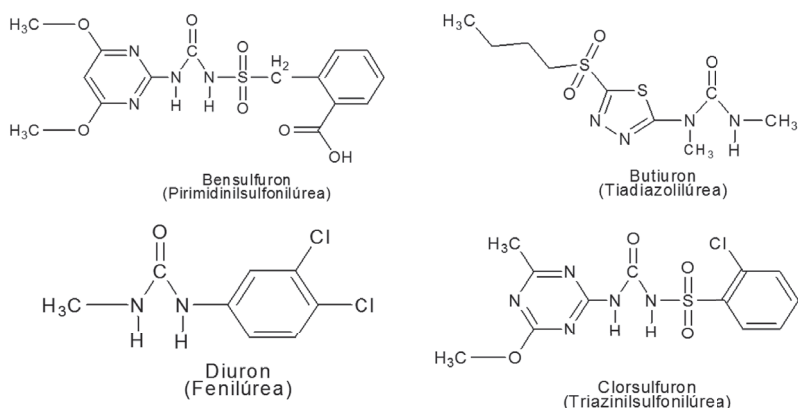
Herbicidas que inhiben la transferencia de electrones

Éstos son aplicados al suelo y absorbidos a través de las raíces, por el xilema hasta la parte aérea, llegan a los cloroplastos e inhiben la fase luminosa, convirtiéndose en compuestos con capacidad de afectar a cualquiera tipo de planta. Entre estos se destacan:

Las ureas

Son compuestos que tiene incorporado el núcleo de la urea, (NH₂CONH₂). Dentro de esta categoría se distinguen las siguientes subcategorías: las sulfonilúreas de tipo pirimidinilsulfonilúreas (amidosulfurón, bensulfurón, imazosulfurón, mesosulfurón y oxasulfurón, entre otras.) y triazinilsulfonilúreas (metsulfurón y clorsulfurón, entre otras.); las tiodiazonilúreas (butiurón y tebutiurón, entre otras.) y las fenilúreas (diurón, linurón, monurón y fenobenzurón, entre otras). A pesar de que las fenilúreas han sido las más tradicionales actualmente las sulfonilúreas se emplean más ampliamente por presentar una actividad herbicida mucho más eficiente, que favorece una baja dosificación y por ende una menor posibilidad de residualidad en los productos. En la figura 1 se presenta una estructura química por categoría.

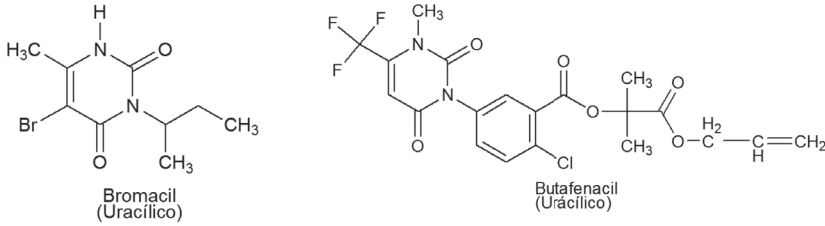
Figura 1. Heterogeneidad estructural de las ureas más representativas



Las diazinas o uracilos

Los uracilos son herbicidas residuales de absorción radicular, recomendados en cítricos cuya evolución supere los 4 años; se utilizan pre y postemergencia. En la figura 2 se puede apreciar la estructura química de los más representativos.

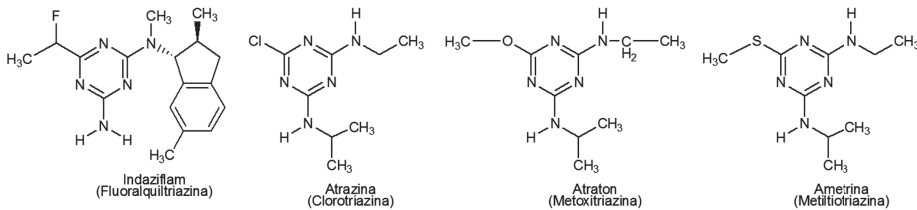
Figura 2. Representación de uracilos de amplio uso



Las triazinas

Las triazinas forman parte de una de las familias de herbicidas más empleados en la agricultura y de los primeros desarrollados. La atrazina fue el más utilizado en cultivos de maíz en países de la Unión Europea (EU) y en Estados Unidos. A partir del año 2006 fue prohibida en la EU por los potentes efectos nocivos sobre la salud humana y animal. Entre las triazinas, están las clorotirazidas (poseen cloro como sustituyente), las fluoroalquiltriazinazinas (indaziflán y triaziflán), las metoxitriazinas (terbumeton, sebumeton y atratón, entre otras) y las metiltiotriazinas (desmetrina, ametrina y desmetrina, entre otras.). En la figura 3 se muestran las estructuras químicas de algunos de estos compuestos.

Figura 3. Triazinas de mayor comercialización

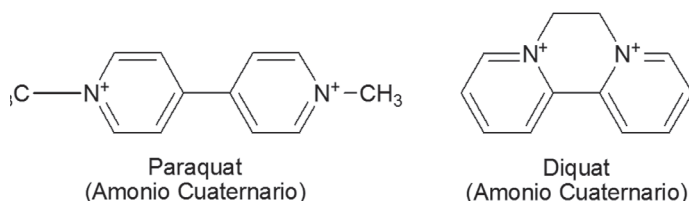


Herbicidas desacopladores de la cadena transportadora de electrones

Aumenta la producción del anión superóxido, el cual es un potente oxidante de los lípidos de los cloroplastos, haciéndolos no funcionales. Dentro de este grupo de compuestos están los herbicidas bipiridílicos, los cuales actúan como pares

iónicos, altamente solubles en agua y de fácil absorción radicular. Se utilizan vía foliar y no edáfica, ya que por su carácter catiónico se absorben de forma irreversible sobre los coloides del suelo, disminuyendo su biodisponibilidad y facilitando su movilidad por lixiviación. En la figura 4 se muestran los dos más representativos.

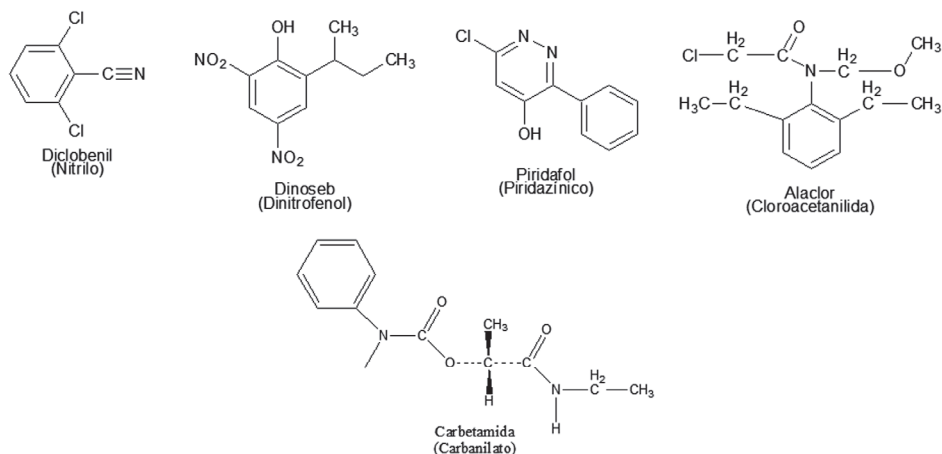
Figura 4. Estructura química de los herbicidas de amonios cuaternarios



Herbicidas que bloquean la formación de ATP

Dentro de éstos están los hidroxibenzonitrilos (bromoxinil, cloroxinil), los dinitrofenoles (dinosam, dinoprop, etinofen), los n-fenilcarbamatos (barban, desmedifan, clorprofam), las piridazinas (credacina y piridafol) y las acilanilidas (propanil, fenasulam, flufenican). Éstos no sólo desacoplan la fosforilación oxidativa en el cloroplasto, sino que también lo hacen en la mitocondria. Algunos de esta categoría se pueden usar como herbicidas y fungicidas. De todas las subcategorías, los dinitrofenoles son los más utilizados. En la figura 5 se observan algunos representantes de esta categoría.

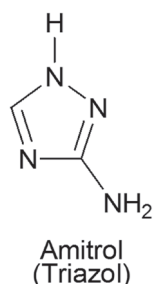
Figura 5. Agentes bloqueantes de la síntesis de ATP



Herbicidas que alteran la biosíntesis de carotenoides

Dentro de los cuales se destacan el amitrol, el epronaz y el flupoxam. Estos se caracterizan porque interfieren con la síntesis del licopeno. En la figura 6 se observan algunos representantes de esta categoría.

Figura 6. Herbicida bloqueante de la síntesis de carotenoides

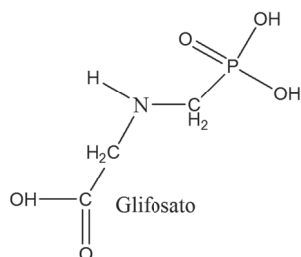


Los que alteran la biosíntesis de metabolitos diferentes a carbohidratos

Herbicidas que alteran la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos

La síntesis de aminoácidos aromáticos es imprescindible, ya que no sólo son constitutivos de proteínas, sino que aminoácidos como el triptófano y la fenilalanina son precursores de la lignina y de los compuestos aromáticos de la planta. El glifosato constituye el representante más utilizado de esta categoría en el mundo. En la figura 7 se observa la estructura del glifosato.

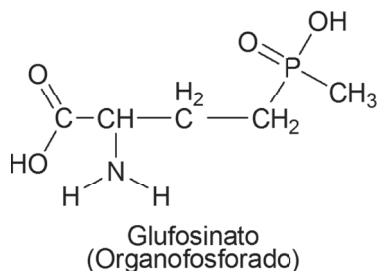
Figura 7. Glifosato



Herbicidas que alteran la biosíntesis de la glutamina

Como el glufosinato, el cual se aprecia en la figura 8.

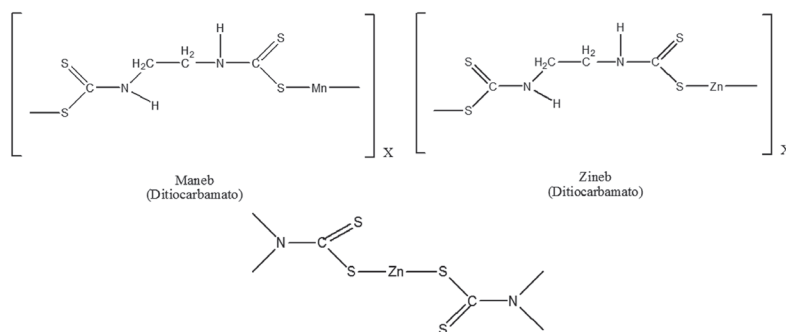
Figura 8. Glufosinato



Herbicidas que inhiben la síntesis de los lípidos

Dentro de este grupo están los tiocarbamatos, los cuales inhiben la elongación de los ácidos grasos, frenando el crecimiento del vegetal. Son usados en acondicionamiento de suelos para semillas en proceso de germinación. Estos compuestos se degradan fácilmente por mecanismos enzimáticos y en contacto con el suelo. Dentro de estos están el ziram, el zineb y el maneb, entre otros. En la figura 9 se observan algunos representantes de esta categoría.

Figura 9. Tio y ditiocarbamatos



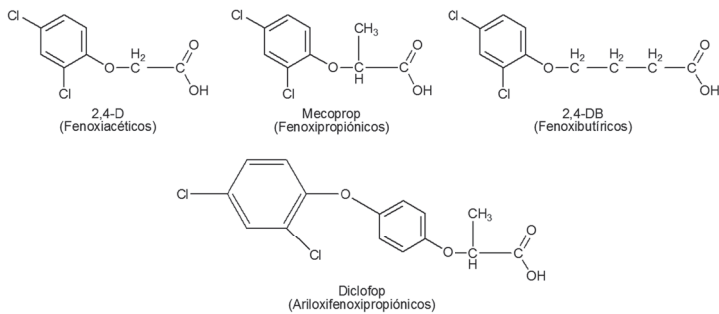
Herbicidas que alteran el crecimiento de los vegetales

Constituyen un grupo muy amplio de compuestos los cuales, al ser incorporados en la planta, inducen un crecimiento anormal con deformaciones, pérdida de la funcionalidad y muerte. Básicamente su efecto está asociado a alteraciones en la elongación y la división celular.

Herbicidas que alteran la elongación celular

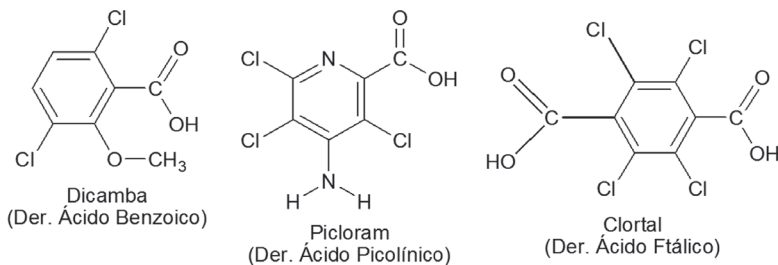
La elongación celular depende de las células meristemáticas es inducido por las auxinas, las cuales, a altas concentraciones, propician una elongación celular descontrolada con malformaciones en los ápices y la muerte de la planta. Dentro de este grupo de herbicidas se incluyen los fenoxiácidos, sus derivados acéticos (2,4-D y MCPA, entre otros), derivados propiónicos (mecoprop, fenoprop y 3,4-DB, entre otros.), derivados butíricos (4-CPB y 2,4-DB entre otros.) y derivados ariloxílicos (metamifop y diclofop, entre otros), (ver figura 10). Aunque es conocido que su proceso síntesis conlleva a la liberación de dioxinas, su uso ha sido muy difícil de controlar.

Figura 10. Herbicidas ácidos



Otros herbicidas con actividad similar a los fenoxiácidos son los herbicidas aromáticos, dentro de los cuales están los derivados del ácido benzoico, sus derivados halogenados y algunos heterocíclicos que son foliares de contacto sin traslocación. Lo anterior es una fortaleza para el control de malezas dicotiledóneas, las cuales poseen descubierto el ápice, proceso contrario a lo que sucede con las monocotiledóneas que presentan resistencia por ausencia de contacto entre el producto y la estructura. Dentro de esta variedad están, entre otros, el dicamba, el 2, 3, 6-TBA, el picloram y el clortal, entre otros. En la figura 11 se observan algunos de los compuestos referenciados.

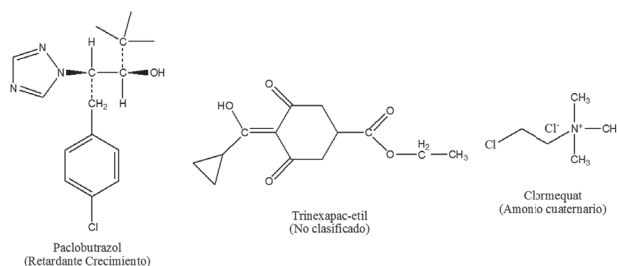
Figura 11. Herbicidas ácidos aromáticos



Herbicidas que inhiben la síntesis de giberelinas

Las giberelinas son fitohormonas responsables del crecimiento de la planta, debido a que determinan la longitud entre los nudos. Su inhibición produce plantas muy pequeñas, pecíolos cortos, aumento del aparato radicular y muerte. Dentro de estos compuestos se destacan el cloromequat, el paclobutrazol y el trinexapac-etil (ver figura 12).

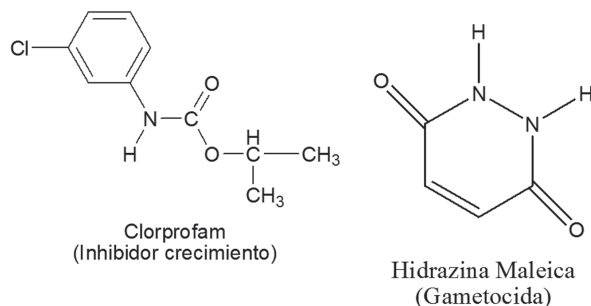
Figura 12. Herbicidas inhibidores de la síntesis de hormonas de crecimiento vegetal



Herbicidas que de inhiben la mitosis

Los N-fenilcarbamatos (clorprofam) y la hidracida maleica constituyen los representantes más comunes de esta categoría. Éstos presentan poca movilidad y se usan en el suelo. Alteran la división celular ya que bloquean el ordenamiento de las proteínas de los microtúbulos del huso acromático, dando lugar a la formación de megacélulas con núcleos gigantes, lo que conlleva a la no diferenciación celular y posterior muerte de la planta. Por su parte, la hidracida maleica es un isómero del uracilo, se incorpora al ácido ribonucleico (ARN) de la célula por competencia con el uracilo, generando un ARN no funcional, e incompatible con los procesos fisiológicos de la célula.

Figura 13. Inhibidores de la división celular



Herbicidas con otros mecanismos de acción

- Herbicidas que provocan la disrupción de la membrana celular
- Herbicidas que actúan sobre pigmentos
- Herbicidas con actividad hormonal

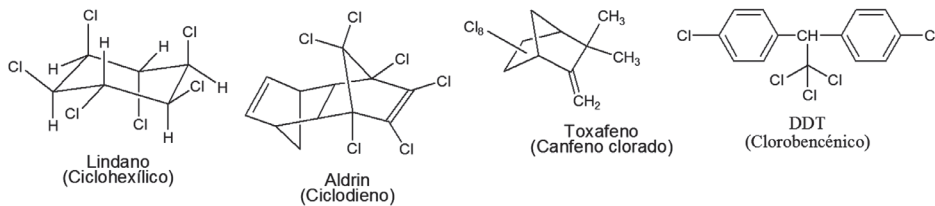
Insecticidas

Han sido considerados como uno de los principales factores del incremento de la productividad de los cultivos en el último siglo. Los insecticidas son sustancias ampliamente utilizadas en el sector agroindustrial para controlar y erradicar las plagas, y para la protección de los productos almacenados. Su funcionalidad comprende cualquier etapa del desarrollo del insecto. Generalmente se han clasificado según su estructura química en organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides.

Insecticidas organoclorados

Por su alta toxicidad, gran persistencia y biomagnificación, los organoclorados son los compuestos más polémicos de los utilizados para el control de plagas. Su desarrollo se inició en la Segunda Guerra Mundial por el descubrimiento y síntesis del diclorodifenildicloroetano (DDT), lo cual constituyó el primer paso para la proliferación y desarrollo de moléculas de síntesis. Actualmente, la mayoría de estos compuestos están prohibidos en los países industrializados; sin embargo, en el resto de países del mundo su utilización está condicionada a actividades de ilegalidad o como política para luchar contra el vector de malaria.

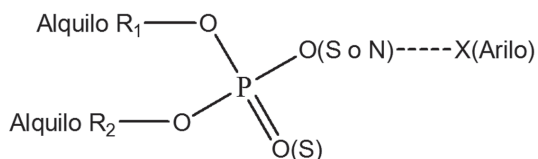
Los insecticidas organoclorados se han agrupado en cuatro familias: los derivados del clorobenceno (DDT, metoxicloro y análogos), los derivados del ciclohexano (lindano), los ciclodienos y derivados (aldrín, dieldrín, endosulfan y clordano, entre otros.) y los canfenos clorados (clordecona y toxafenos). En la figura 14, se muestran los núcleos fundamentales de los organoclorados.



Insecticidas organofosforados

Los organofosforados (OP) constituyen los pesticidas más ampliamente usados para controlar plagas en la agricultura, los hogares y las industrias. Estos pesticidas constituyen un grupo diverso y cuyas estructuras químicas muestran una amplia gama de propiedades físico-químicas, y unos efectos toxicológicos derivados de la inhibición de la enzima colinesterasa (AChE, EC 3.1.1.7) mediante su fosforilación, que causa acumulación de acetilcolina, sobreestimulación de los receptores colinérgicos, y los consiguientes signos clínicos de toxicidad. Los derivados fosforados ocupan actualmente un lugar preponderante entre los plaguicidas más conocidos y utilizados, ya que constituyen un grupo con una elevada eficacia insecticida. Su actividad fue descubierta por el químico alemán Gerhard Schrader durante la Segunda Guerra Mundial.

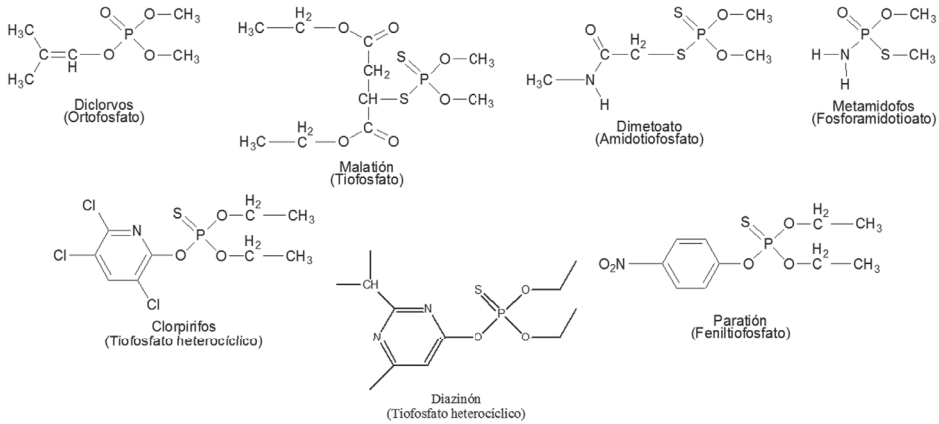
Los pesticidas organofosforados son derivados del ácido fosfórico, expresado por su fórmula general:



Estructura general

Estos constituyen una familia muy amplia de compuestos, agrupados en 14 grupos, entre los cuales se destacan los ortofosfatos (diclorvos, clorfeninfos, metocotofos y naled, entre otros), los tiofosfatos alifáticos (malation, acetofos, disulfuton y cadusafos, entre otros), los tiofosfatos amídicos alifáticos (dimetoato y formotion, entre otros), los tiofosfatos oxímicos (clorfoxim y foxim), los tiofosfatos heterocíclicos (cumafos, endotion, ticrofos, azinfos etil, fosmet, isoxation, pirasofos, clorpirifos, diazinon, quinalfos, metidation e isazofos entre otros), los feniltiofosfatos (bromofos, fention, paration, y dicapton entre otros), los fosfonatos (triclorfon), los fosfonotioatos (mecarfon, fonofos y leptofos, entre otros), los fosforamidatos (pirimetafos y fenamifos, entre otros), los fosforamidotioatos (acefate y metamidofos entre otros) y los fosforodiamidas (dimefox). Este grupo de insecticidas está constituido por compuestos hidrofílicos fácilmente hidrolizables, lo que determina su baja persistencia en el medio ambiente. Por lo anterior, su uso es bastante frecuente para combatir parásitos de plantas y animales, insectos adultos, y para el tratamientos previo de semillas y de terrenos de siembra. En la figura 15 se muestran algunos de los organofosforados incorporados en la investigación.

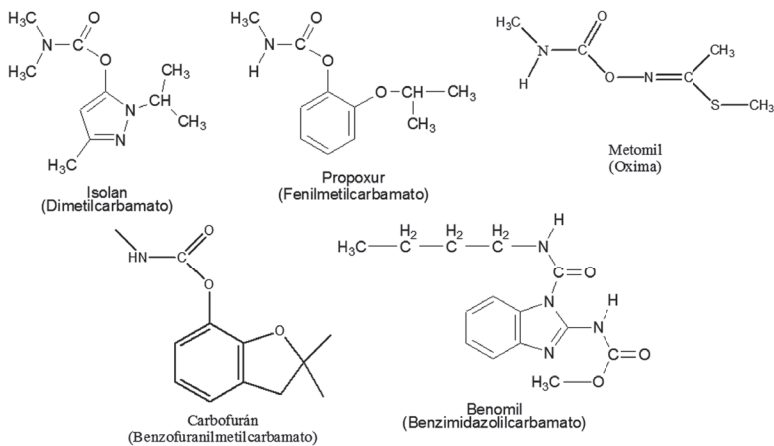
Figura 15. Complejidad estructural de los pesticidas organofosforados



Insecticidas Carbamatos

Los carbamatos, a diferencia de los organofosforados, son inhibidores reversibles de la acetilcolinesterasa, enzima determinante en la transmisión del impulso nervioso. Son derivados del ácido carbámico (HO-CO-NH_2). Entre éstos se distinguen: los benzofuranilmetilcarbamatos (carbosulfan y carbofuran), dimetilcarbamatos (pirimicarb e isolan, entre otros), las oximas (aldicarb y metomil, entre otros) y los fenilmetilcarbamatos (propoxur, metiocarb y promacil, entre otros). En la figura 16 se muestran las estructuras químicas de algunos de los, más utilizados.

Figura 16. Carbamatos de mayor uso regional

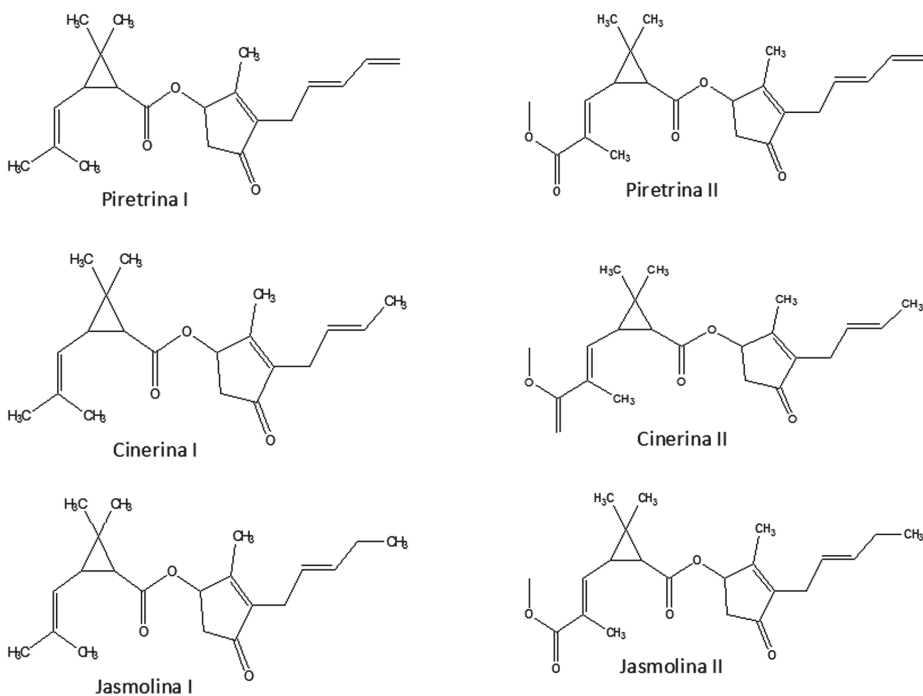


Piretroides

El piretro o pelitre es uno de los derivados de origen vegetal más empleado como plaguicida, especialmente para insectos voladores en aplicaciones domésticas. Actualmente, su uso ha aumentado a casi todos los cultivos agrícolas, jardines, viveros, sitios urbanos de paisajismo y acondicionamiento de zonas de urbanización, entre otros sitios. El éxito de su comercialización se asocia a su amplio espectro, baja toxicidad en mamíferos y aves, bajo potencial de lixiviación a aguas subterráneas y fácil aplicación; sin embargo, recientes estudios reportan la presencia de éstos en sedimentos y productos alimenticios, al igual que se reportan un aumento en el número de bioensayos que los asocian a toxicidad sobre diferentes organismos de ecosistemas acuáticos y terrestres.

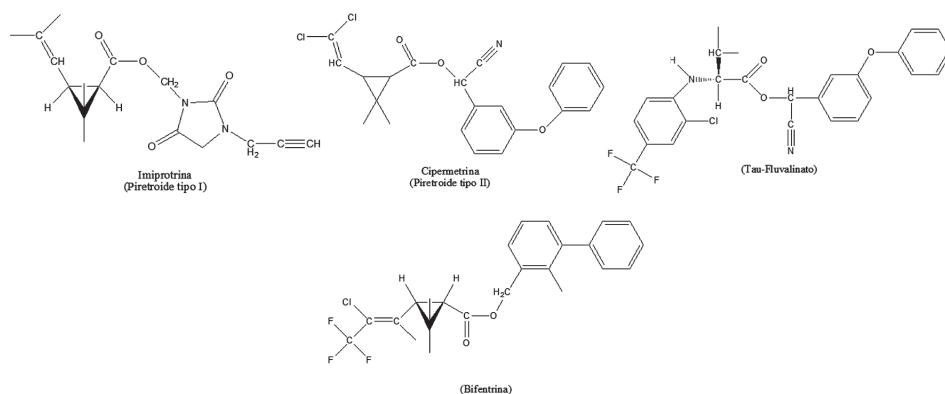
El piretro es una mezcla de compuestos que forman parte del extracto crudo de flores de crisantemos (*Chrysanthemum cinerariaefolium* y *Chrysanthemum cinereum*). Esta mezcla de compuestos está constituida por una familia de sustancias cuyo máximo representante son las piretrinas, las cuales, a su vez, están agrupadas en seis núcleos fundamentales, que se muestran en la figura 17. A partir de modificaciones químicas sobre éstos se obtienen los piretroides que son la base de muchos productos comerciales con diferentes actividades biológicas.

Figura 17. Núcleos químicos fundamentales de las piretrinas



Una característica estructura de varios piretroides sintéticos es la presencia o no de un grupo α -ciano. Los piretroides de tipo I son ésteres carentes de dicho grupo y en la mayoría de los casos son derivados 3-fenoxibenzílicos; por su parte, los piretroides tipo II lo poseen, son ésteres 3-ciano-3-fenoxibencílicos y su actividad biológica es mucho mayor que los de tipo I. Adicionalmente, la mayoría de los piretroides sintéticos presentan varios carbonos ópticamente activos (anillo de ciclopropano) y algunos otros poseen una fracción olefínica (vinilciclopropil carboxilatos) que da lugar a un enriquecimiento isomérico de gran importancia para la actividad comercial, y para la actividad biológica. En la figura 18 se pueden apreciar algunos de los piretroides más representativos, al igual que algunas de sus particularidades estructurales más representativas.

Figura 18. Piretroides sintéticos



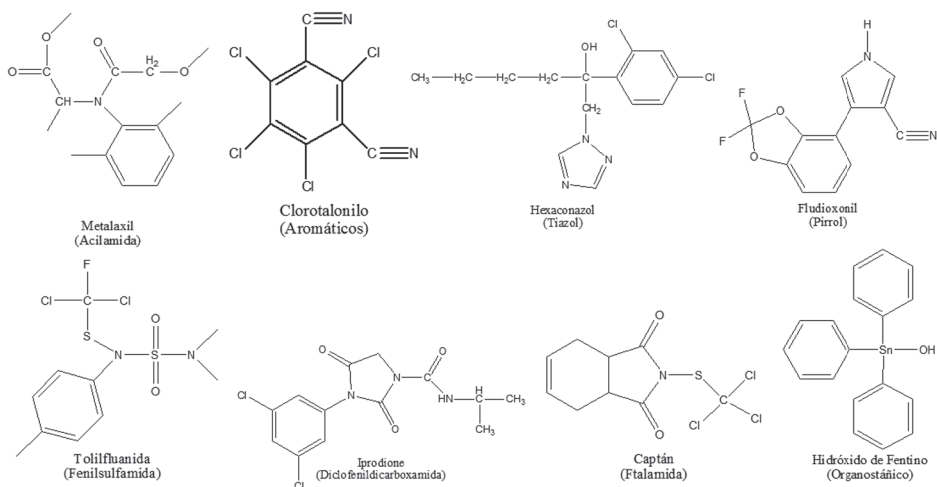
Fungicidas

Al igual que muchos de los plaguicidas anteriormente mencionados, los fungicidas se constituyen en una alternativa ampliamente utilizada por el sector agroalimentario en cada una de las diferentes etapas de la cosecha y la poscosecha. Tanto en hortalizas, como en frutas y en algunos cereales, éstos son ampliamente utilizados para el control de enfermedades producidas por hongos, cuyo desarrollo se ve favorecido por el alto contenido de carbohidratos, vitaminas y la humedad de muchos productos hortofrutícolas.

Los fungicidas se clasifican químicamente de acuerdo con su naturaleza en inorgánicos y orgánicos. Los fungicidas inorgánicos son básicamente polisulfuros y otras sales de azufre y cobre; mientras que los fungicidas orgánicos son históricamente sintetizados a inicios de la Segunda Guerra Mundial con el objetivo de mejorar la productividad y disminuir los efectos tóxicos de los fungicidas de carácter inorgánico.

Dentro de los fungicidas orgánicos se incluyen: algunos compuestos alifáticos nitrogenados (cimoxanil), las amidas (fenoxanil), los acilaminoácidos (metalaxil), las anilidas (fenhexamida y tiadinil, entre otras), las benzanilidas (benodanil), las furanilidas (furalaxil), las benzamidas (fluopiram y fluopilida, entre otros), las furamidas (furmeciclox), las fenilsulfamidas (tolilfluanida), las sulfonamidas (amisulbrom), vanilamidas (iprovalicarb), los antibióticos (estreptomicina y validamicina, entre otros), las estrobilurinas (azoxistrobina, picoxistrobina y fluoxastrobina entre otros), los aromáticos (dicloran y clorotalonilo, entre otros), las benzimidazoles (albendazol, benomil y tiabendazol, entre otros), los benzotiazoles (probenbazol y bentaluron, entre otros), los imidazoles (climbazol e imazalil, entre otros), los tiazoles (difenoconazol, epoxiconazol, hexaconazol, y tebuconazol, entre otros), las diclofenildicarboxamidas (iprodone y vinclozolin, entre otros), las ftalamidas (captan y folpet, entre otros), los dinitrofenoles (binapacril y dinocron, entre otros), los ditiocarbamatos (tiram, mancozeb, propineb y disulfiram, entre otros), las morfolininas (aldimorf y tridemorf, entre otros), los organofosforados (hexiltiofos y tolclofosmetil, entre otros), los organostánicos (hidróxido de fentino), los oxazoles (miclozolin y famoxadona, entre otros), los pirazoles (sedaxane e isopirazam, entre otros), las piridinas (fluazinam y piroxifur, entre otros), los pirroles (fludioxonil), las pirimidinas (pirimetanil y bupirimate, entre otros) y algunos no clasificados como el diclomezina, el fenitropan y el piperalina, entre otros. En la figura 19 se muestran las estructuras químicas de algunos representantes de estas familias de fungicidas.

Figura 19. Núcleos estructurales de los fungicidas de mayor aplicación

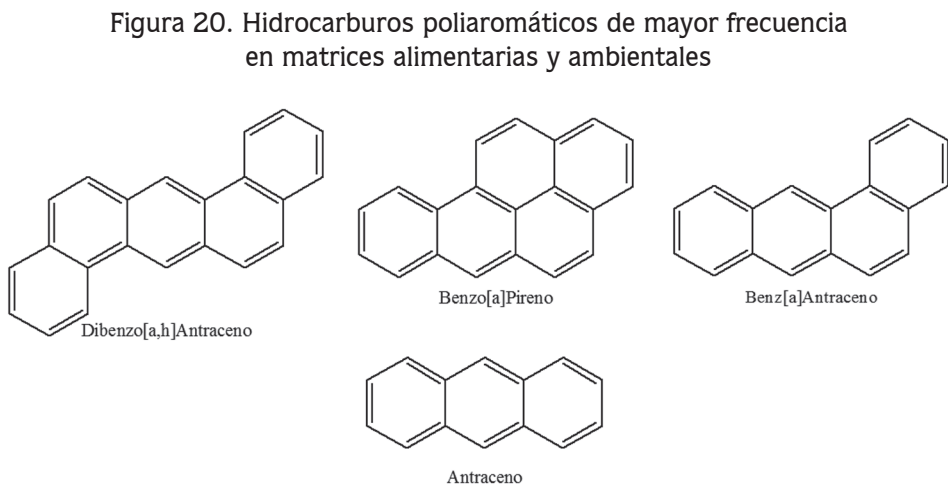


Otros contaminantes orgánicos

Las constantes investigaciones y la imperante seguridad alimentaria han permitido, en forma clara, añadir a la larga lista de plaguicidas, la presencia de otro tipo de compuestos de origen antropogénico, cuyo uso ha sido totalmente conocido, pero cuya presencia en las matrices ambientales y alimenticias ha empezado a ser motivo de preocupación en muchas regiones del mundo.

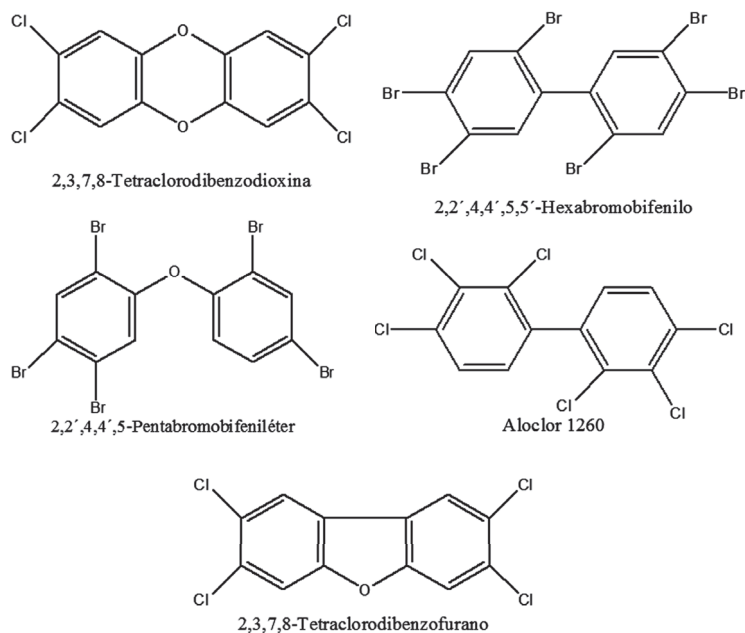
Entre los compuestos de mayor incidencia en los alimentos se encuentran los PAH, de los cuales, 16 son considerados prioritarios según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). Estos son incorporados en los alimentos y el medioambiente por proceso como tostado, ahumado, cocción excesiva, sistemas de calefacción, automotores e industria petroquímica, entre otras o a través de procesos combustión incompleta de materia orgánica. Básicamente la mayor preocupación se centra en los continuos estudios que los asocian con propiedades citotóxicas y genotóxicas.

Fisicoquímicamente los PAH (figura 20) son compuestos altamente solubles en materiales grasos, por lo que su acumulación en alimentos se dirige fundamentalmente a productos como peces³ o como semillas oleaginosas⁴; sin embargo, es posible encontrarlo en hortalizas⁵, cereales⁶, frutas⁷, caña de azúcar⁸, whisky⁹, vinos¹⁰, miel¹¹, cárnicos ahumados¹² y café¹³, entre otros. Cabe destacar que atendiendo a que algunos de los PAH presentan propiedades citotóxicas y genotóxicas, el Comité Científico de la Alimentación Humana (CCAH) en el año 2002 recomendó la utilización del benzo(a)pireno (BaP) como trazador para PAH en alimentos; adicionalmente, organismos como la Unión Europea (EU), en su directiva N° 208/2005 define los niveles máximos de BaP en grasas y aceites para consumo humano (2 µg/kg peso fresco), en productos alimenticios para lactantes y niños (1 µg/kg peso fresco) y en productos cárnicos y pescados (2-10 µg/kg peso fresco).



Recientes estudios reportan la presencia de otros contaminantes como las dioxinas¹⁴, las furanonas¹⁵ y los policlorados bifenílicos¹⁶, los cuales constituyen compuestos de origen antropogénico pero cuyo potencial tóxico es devastador (ver figura 21). Su presencia en los alimentos está asociada a los procesos de combustión de la materia orgánica en presencia de cloro o químicamente clorada, a los procesos de cocción¹⁷, a la utilización de piensos contaminados¹⁸ o, a los procesos de migración específica¹⁹, entre otros.

Figura 21. Compuestos organoclorados emergentes

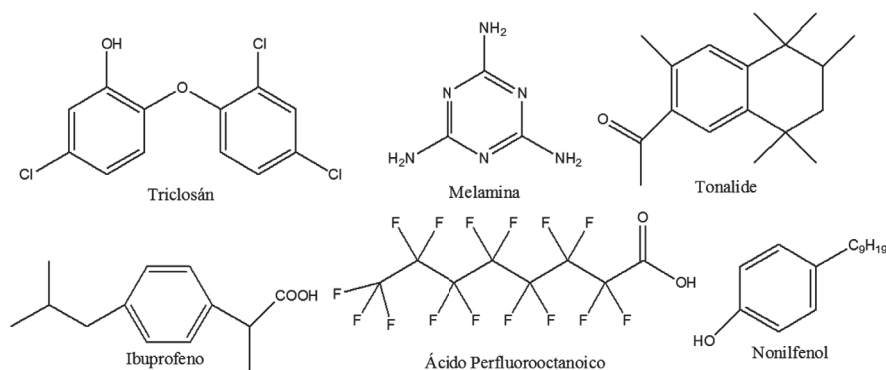


Junto a los contaminantes referidos en los dos párrafos anteriores, las investigaciones se concentran en los denominados contaminantes orgánicos emergentes²⁰, los cuales son aquellos previamente desconocidos o no reconocidos como tales, cuya presencia en el medio ambiente genera preocupación por las posibles consecuencias. El estudio de éstos se ha convertido en una línea prioritaria de investigación para la OMS, la EPA y la UE, debido a su continua descarga en el medioambiente por lo que no necesitan tener una persistencia elevada para ocasionar efectos negativos.

Dentro de este tipo de contaminantes hay compuestos muy heterogéneos (ver figura 22) como los retardantes de llama polibromodifeniléteres (PBDEs)²¹, los productos farmacéuticos²² como los antibióticos²³ y los analgésicos²⁴, los productos

para el cuidado personal²⁵ como las fragancias (almizcles sintéticos)²⁶ y el triclosán²⁷, los productos para la protección solar²⁸, las biotoxinas marinas²⁹, los agentes quelantes³⁰, algunas aminas como los benzotriazoles³¹, la melamina³² y las nitrosaminas³³, surfactantes como los perflurados³⁴ y el nonilfenol³⁵, los productos de desinfección del agua³⁶, los ftalatos³⁷, el bisfenol a³⁸, los ácidos nafténicos³⁹ y los nanomateriales⁴⁰, entre otros.

Figura 22. Compuestos orgánicos emergentes



Por lo anterior, se evidencia que el grado de exposición de un alimento a contaminación por agentes químicos y de carácter antropogénico es altamente viable; por lo que se hace necesario documentarse al respecto de las características fisicoquímicas y de los métodos analíticos para la identificación y para la cuantificación de éstos agentes y garantizar alimentos seguros e inocuos para la población.

Pesticidas en alimentos: distribución y persistencia

En Colombia suele partirse del principio de precaución, consagrado en la Ley 99 de 1993, cuando se trata de abordar las responsabilidades con respecto a los procesos de residualidad de pesticidas en alimentos o a las responsabilidades civiles y penales ante los daños recibidos por el uso desmedido, indiscriminado e inadecuado de agentes agrotóxicos. Desde hace dos siglos se habló sobre la primera revolución agrícola y a finales del siglo XX surgió la llamada Revolución Verde, debido a el auge de la industria de pesticidas y agroquímicos y con el surgimiento de grandes centros de investigación; revolución que solo se orientaba a la obtención de la tierra el mayor número de plantas por metros cuadrados de suelo. El uso indiscriminado de pesticidas repercute notablemente en la salud a través de intoxicaciones agudas y crónicas, además de los efectos directos sobre los ecosistemas acuáticos, sobre el suelo, sobre el aire y en especial sobre la biodiversidad.

Es necesario enfatizar que a pesar de la alta especificidad y del conocimiento del mecanismo de acción de los pesticidas, éstos se asocian a múltiples efectos secundarios como son la generación de organismos resistentes, contaminación del recurso hídrico y la alta persistencia medioambiental de algunos. Se estima que un organoclorado puede permanecer alrededor de 28 años en el suelo, sin que su degradación sea significativa. Todos los compuestos considerados altamente persistentes terminan incorporados en las cadenas tróficas, se biomagnifican y se acumulan en algunos tejidos de animales y humanos; adicionalmente, contribuyen a la alteración de los mecanismos de defensa de las especies, a las modificaciones bioquímicas, a las alteraciones reproductivas e incluso exterminan constituyentes de los ciclos vitales del ecosistema.

Directamente la exposición en humanos a pesticidas ha estado asociada a actividades ambientales y actividades domésticas; sin embargo, estudios recientes demuestran la importancia de los procesos de biomagnificación en la incorporación de éstos a los seres humanos⁴¹⁻⁴³. Lo anterior conduce a que la exposición se dé durante largos períodos y que las sintomatologías aparezca a largo plazo, lo que hace muy difícil la identificación etiológica, e incluso la no asociación con procesos como cáncer, necrosis tisular, leucemia y malformaciones congénitas, entre otras. Actualmente, en la mayoría de los casos no se tiene claridad acerca del verdadero causante de algunas de las afecciones mencionadas, solo se parte del factor de riesgo o de la exposición del individuo, ya que ha empezado a tomar relevancia la presencia de productos de la degradación de los plaguicidas en el medioambiente debido procesos como la fotólisis, la óxido-reducción y la biorremediación, lo cual aumenta notablemente el número de posibles compuestos acumulables en los tejidos biológicos⁴⁴⁻⁴⁶.

Un caso particular posee la EU, la cual define directivas para los contenidos máximos permisibles de residuos de plaguicidas (MRL) no solo con fines comerciales, sino, en piensos y para productos destinados al consumo humano, en fresco o como materia prima para la fabricación de alimentos. Los MRL son establecidos por el Codex Alimentarius, el cual constituye un programa mixto entre la FAO y la OMS, que tiene por objeto proteger la salud de los consumidores, promover la coordinación de trabajos sobre normas alimentarias emprendidos por organizaciones gubernamentales e internacionales y garantizar prácticas equitativas en el comercio de alimentos⁴⁷.

En la EU, los MRL están regulados por el Real Decreto 280 de febrero 18 de 1994 y el Reglamento 396 del 2005 que los armoniza en el ámbito comunitario incluyendo piensos de origen vegetal y animal; adicionalmente, estableció por defecto el valor de 0,01 mg/kg para los productos que no tengan fijado un MRL específico, e incluyó productos como la miel, las infusiones y los productos y partes de productos que van a usarse como alimentos o piensos. Por su parte, en Colombia fueron adoptados según el decreto 1843 de 1991 del Ministerio de

Salud y para aquellos países donde no hay normativa, en la mayoría de los casos se acogen a la directiva del Codex.

Los MRL son fijados para un compuesto y en un determinado alimento como los mg de sustancia por kg de alimento. El cálculo se efectúa con base en el Nivel sin Efecto Observable (NOAEL) determinado mediante estudios en animales de experimentación a través del suministro crónico del compuesto⁴⁸, estimación de la concentración máxima administrada sin que se presenten efectos fisiológicamente observables y extrapolación al ser humano mediante factores de seguridad sobre el NOAEL para obtener la Ingesta Diaria Admisible (ADI), definida como la cantidad de compuesto que se puede ingerir diariamente por toda la vida sin que haya manifestaciones tóxicas. Adicionalmente, para los pesticidas que pueden causar efectos agudos, se determina la dosis de referencia aguda (ArfD), la cual permite estimar la cantidad de pesticida en los alimentos que se puede ingerir durante 24 horas o menos sin manifestación de riesgo para la salud del consumidor^{49,50}.

Los estudios de dieta total son uno de los métodos más utilizados para evaluar la exposición a los contaminantes y otras sustancias químicas, así como la valoración nutricional de la dieta. Para realizarlos es preciso conocer tanto el consumo real de alimentos como los datos de su composición nutricional y concentraciones de los contaminantes y otras sustancias químicas que pueden estar presentes en los mismos, tal y como se consumen.

Evaluar el impacto de una molécula en la cadena alimenticia es un proceso complejo ya que las prácticas agrícolas convencionales son muy ligeras y dicha molécula, atendiendo a sus propiedades fisicoquímicas y a las condiciones ambientales, termina en el ciclo del agua, en el suelo, en el aire y en la superficie de frutos y vegetales que posteriormente son incluidos en la dieta de los humanos. Lo anterior constituye no solo un problema de seguridad alimentaria, sino que demanda un aumento en los controles fitosanitarios a través del desarrollo y optimización de las metodologías analíticas para garantizar la detección de estas moléculas, a niveles de subtrazas y en las diferentes matrices ambientales y alimentarias. El proceso de análisis es complicado y se lleva a cabo en varias etapas, y es generalmente la última de éstas, la determinación y cuantificación cromatográfica a través de sus variables gaseosa o líquida, con un detector específico para los compuestos de interés. El éxito de este proceso depende de la planeación de todas las etapas a las que se somete la muestra; todas éstas son fuente de error que se introducen en el proceso analítico, por lo que los procesos de validación y control de calidad de las metodologías permiten asegurar la calidad del dato.

Cabe destacar que Colombia posee 4 millones de hectáreas cultivables de las 114 millones que posee el país, lo cual indica que los sistemas masivos de producción aún no han abierto la brecha del deterioro en los suelos y que aún es posible orientar mecanismos de producción que se articulen con la armonía y la eficiencia natural, donde los paquetes tecnológicos no determinen una distribución y

un destino final de los agroquímicos sobre y los alimentos y donde las fortalezas de ser habitantes de un país tropical no se conviertan en grandes inversiones en tecnología y en mecanismos para recuperar el medio ambiente⁵¹.

Conclusión

La seguridad alimentaria concebida como garantizar que los alimentos para los ciudadanos del mundo sean lo más seguros posible exige un riguroso conocimiento de los insumos y productos a lo largo de la cadena productiva, demanda diseños tecnológicos para garantizar la calidad cualitativa y cuantitativa y sistemas exhaustivos de trazabilidad de contaminantes orgánicos que permitan garantizar la seguridad e inocuidad de los productos antes de ser consumidos. Por lo anterior, es necesario establecer mecanismos de inspección y vigilancia de los cuerpos de agua y productos frescos, para garantizar la conservación y la calidad de los productos alimenticios.

Referencias bibliográficas

1. Nielen MWF, Marvin HJP. Chapter 1 Challenges in Chemical Food Contaminants and Residue Analysis. In: Yolanda P, editor. *Comprehensive Analytical Chemistry*: Elsevier; 2008. p. 1-27.
2. Yolanda P, editor. *Food Contaminants And Residue Analysis*. In: *Comprehensive Analytical Chemistry*: Elsevier; 2008. p. v-v.
3. Neves RLS, Oliveira TF, Ziolli RL. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fish bile (Mugil liza) as biomarkers for environmental monitoring in oil contaminated areas. *Marine Pollution Bulletin*. 2007;54(11):1818-24.
4. Teixeira VH, Casal S, Oliveira MBPP. PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: Evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chemistry*. 2007;104(1):106-12.
5. Khan S, et al. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in lettuce grown in the soils contaminated with long-term wastewater irrigation. *Journal of Hazardous Materials*. 2008;152(2):506-15.
6. Kobayashi R, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible grain: A pilot study of agricultural crops as a human exposure pathway for environmental contaminants using wheat as a model crop. *Environmental Research*. 2008;107(2):145-51.
7. Rojo Camargo MC, Toledo MCF. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. *Food Control*. 2003;14(1):49-53.
8. Tfouni SAV, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sugarcane juice. *Food Chemistry*. 2009;116(1):391-4.
9. Da Porto C, Moret S. Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) between smoked marc spirits and whiskies. *Food and Chemical Toxicology*. 2007;45(10):2069-71.

10. Dasgupta S, et al. Optimization of two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for separation and estimation of the residues of 160 pesticides and 25 persistent organic pollutants in grape and wine. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(24):3881-9.
11. Dobrinás S, Birghila S, Coatu V. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey and propolis produced from various flowering trees and plants in Romania. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008;21(1):71-7.
12. Djinić J, Popović A, Jira W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia. *Meat Science*. 2008;80(2):449-56.
13. Orecchio S, Ciotti VP, Culotta L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47(4):819-26.
14. Schecter A, et al. Levels of dioxins, dibenzofurans, PCB and DDE congeners in pooled food samples collected in 1995 at supermarkets across the United States. *Chemosphere*. 34(5-7):1437-47.
15. Bocio A, Domingo JL. Daily intake of polychlorinated dibenzo-p-dioxins/polychlorinated dibenzofurans (PCDD/PCDFs) in foodstuffs consumed in Tarragona, Spain: a review of recent studies (2001-2003) on human PCDD/PCDF exposure through the diet. *Environmental Research*. 2005;97(1):1-9.
16. Domingo JL, Bocio A. Levels of PCDD/PCDFs and PCBs in edible marine species and human intake: A literature review. *Environment International*. 2007;33(3):397-405.
17. Perelló G, et al. Influence of various cooking processes on the concentrations of PCDD/PCDFs, PCBs and PCDEs in foods. *Food Control*. 2010;21(2):178-85.
18. Traag WA, et al. Residues of dioxins (PCDD/Fs) and PCBs in eggs, fat and livers of laying hens following consumption of contaminated feed. *Chemosphere*. 2006;65(9):1518-25.
19. Goulas AE, et al. Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study. *Food and Chemical Toxicology*. 2007;45(4):585-91.
20. Scippo M-L, et al. Chapter 14 Persistent Organochlorine Pollutants, Dioxins and Polychlorinated Biphenyls. In: Yolanda P, editor. *Comprehensive Analytical Chemistry*; Elsevier; 2008. p. 457-506.
21. Trudel D, et al. PBDE exposure from food in Ireland: optimising data exploitation in probabilistic exposure modelling. *J Expos Sci Environ Epidemiol*. 2010.
22. Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 2006;76(2):122-59.
23. De Brabander HF, et al. Residue analysis: Future trends from a historical perspective. *Journal of Chromatography A*. 2009;1216(46):7964-76.
24. Bendz D, et al. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*. 2005;122(3):195-204.

25. Loretz L, et al. Exposure data for personal care products: Hairspray, spray perfume, liquid foundation, shampoo, body wash, and solid antiperspirant. *Food and Chemical Toxicology*. 2006;44(12):2008-18.
26. Duedahl-Olesen L, et al. Synthetic musk fragrances in trout from Danish fish farms and human milk. *Chemosphere*. 2005;61(3):422-31
27. Binelli A, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of in vitro exposure to Triclosan and Trimethoprim on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) hemocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2009;150(1):50-6.
28. Nash JF. Human Safety and Efficacy of Ultraviolet Filters and Sunscreen Products. *Dermatologic Clinics*. 2006;24(1):35-51
29. Toyofuku H. Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). *Marine Pollution Bulletin*. 2006;52(12):1735-45.
30. Bucheli-Witschel M, Egli T. Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. *FEMS Microbiology Reviews*. 2001;25(1):69-106.
31. Ohe T, Watanabe T, Wakabayashi K. Mutagens in surface waters: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2004;567(2-3):109-49.
32. Hsieh DPH, et al. Toxicological analysis points to a lower tolerable daily intake of melamine in food. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009;55(1):13-6.
33. Levallois P, et al. Excretion of volatile nitrosamines in a rural population in relation to food and drinking water consumption. *Food and Chemical Toxicology*. 2000;38(11):1013-9.
34. Haug LS, et al. Levels in food and beverages and daily intake of perfluorinated compounds in Norway. *Chemosphere*. 2010;80(10):1137-43.
35. Fernandes AR, Costley CT, Rose M. Determination of 4-octylphenol and 4-nonylphenol congeners in composite foods. *Food Additives and Contaminants*. 2003;20(9):846 - 52.
36. Oudgal CJ, Lipscomb JC, Bruce RM. Potential health effects of drinking water disinfection by-products using quantitative structure toxicity relationship. *Toxicology*. 2000;147(2):109-31.
37. Latini G. Monitoring phthalate exposure in humans. *Clinica Chimica Acta*. 2005;361(1-2):20-9.
38. Ballesteros-Gómez A, Rubio S, Pérez-Bendito D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *Journal of Chromatography A*. 2009;1216(3):449-69.
39. Young RF, Wismer WV, Fedorak PM. Estimating naphthenic acids concentrations in laboratory-exposed fish and in fish from the wild. *Chemosphere*. 2008;73(4):498-505.
40. Landsiedel R, et al. Genotoxicity investigations on nanomaterials: Methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations-Many questions, some answers. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2008;681(2-3):241-58.

41. Weber K, Goerke H. Persistent organic pollutants (POPs) in antarctic fish: levels, patterns, changes. *Chemosphere*. 2003;53(6):667-78.
42. Borgå K, Gabrielsen GW, Skaare JU. Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environmental Pollution*. 2001;113(2):187-98.
43. Polder A, et al. Geographic variation of chlorinated pesticides, toxaphenes and PCBs in human milk from sub-arctic and arctic locations in Russia. *The Science of The Total Environment*. 2003;306(1-3):179-95.
44. Hernández F, et al. Investigation of pesticide metabolites in food and water by LC-TOF-MS. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2008;27(10):862-72.
45. Vorkamp K, et al. Chlorobenzenes, chlorinated pesticides, coplanar chlorobiphenyls and other organochlorine compounds in Greenland biota. *Science of The Total Environment*. 2004;331(1-3):157-75.
46. Iyer P, Makris S. Developmental and Reproductive Toxicology of Pesticides. In: Robert K, editor. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition)*. New York: Academic Press; 2010. p. 381-440.
47. Tritscher A. Joint FAO/WHO Expert Meetings (JECFA and JMPR). In: Philip W, editor. *Encyclopedia of Toxicology*. New York: Elsevier; 2005. p. 660-2.
48. Araya M, et al. Confirmation of an acute no-observed-adverse-effect and low-observed-adverse-effect level for copper in bottled drinking water in a multi-site international study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2003;38(3):389-99.
49. Solecki R, et al. Guidance on setting of acute reference dose (ARfD) for pesticides. *Food and Chemical Toxicology*. 2005;43(11):1569-93.
50. Renwick AG, et al. Risk characterisation of chemicals in food and diet. *Food and Chemical Toxicology*. 2003;41(9):1211-71.
51. Milagros Mezcuca, et al. Simultaneous Screening and Target Analytical Approach by Gas Chromatography-Quadrupole-Mass Spectrometry for Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. *Journal of AOAC International*. 2009;92(6):1790-806.