


Potencial de la espectroscopia vibracional y análisis quimiométrico para la detección de residuos agroquímicos en alimentos

Potential of vibrational spectroscopy and chemometric analysis for the detection of agrochemical residues in food

Eudes Villanueva López 


Universidad Nacional Autónoma de Tayacaja Daniel Hernández Morillo, Perú
eudesvillanueva@unat.edu.pe

Javier S. Córdova-Ramos 

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú
jcordovar1@unmsm.edu.pe

Gino Prieto Rosales 

Universidad Nacional Autónoma de Tayacaja Daniel Hernández Morillo, Perú
ginoprieto@unat.edu.pe

Ronald Ortecho Llanos 

Universidad Nacional Autónoma de Tayacaja Daniel Hernández Morillo, Perú
ronaldortecho@unat.edu.pe

Adiel Álvarez Tiellasuca 

Universidad Nacional Autónoma de Tayacaja Daniel Hernández Morillo, Perú
adielalvarez@unat.edu.pe

Beethssy Zzussy Hurtado-Soria 

Universidad Nacional Autónoma de Tayacaja Daniel Hernández Morillo, Perú
beethssy.hurtado@unat.edu.pe

Oscar Jordán-Suárez 

Universidad Le Cordon Bleu, Perú
oscar.jordan@ulcb.edu.pe

RESUMEN

La agricultura orgánica es muy valorada a nivel internacional ya que tiene como resultado apreciadas ganancias económicas para las cadenas de valor de diversos productos alimentarios. Dentro del proceso de certificación orgánica, es vital la identificación de residuos agroquímicos de los alimentos para tamizar lotes de producción que provienen de cultivos orgánicos y/o convencionales. Actualmente, al análisis de residuos agroquímicos se realiza con técnicas sofisticadas como la cromatografía líquida (LC) y cromatografía gaseosa (GC) acopladas a detectores de masas (MS), estas técnicas resultan costosas y complejas. La presente revisión brinda perspectivas respecto a que combinación de la espectroscopia vibracional con apropiadas técnicas quimiométricas (estadística multivariada) puede servir para desarrollar métodos de clasificación y cuantificación los residuos agroquímicos en diversas matrices alimentarias de forma sencilla, evitando el uso de reactivos tóxicos, reduciendo costos de operación y tiempos largos de análisis en laboratorios. El desarrollo de tecnología portátil en la espectroscopia vibracional permitiría realizar análisis in-situ en campos de cultivo e industrias agroalimentarias.

Palabras clave: Espectroscopia vibracional, orgánico, análisis quimiométrico, residuos agroquímicos.

ABSTRACT

Organic agriculture is highly valued internationally as it results in significant economic gains for the value chains of various food products. Within the organic certification process, the identification of agrochemical residues in food is vital for screening production lots that come from organic and/or conventional crops. Currently, the analysis of agrochemical residues is performed with highly sophisticated techniques such as liquid chromatography (LC) and gas chromatography (GC) coupled to mass detectors (MS), these techniques are highly expensive and complex. The present review provides insights into how the combination of vibrational spectroscopy with appropriate chemometric techniques (multivariate statistics) can be used to develop methods for classification and quantification of agrochemical residues in various food matrices in a simple way, avoiding the use of toxic reagents, reducing operating costs and long analysis times in laboratories. The development of portable technology in vibrational spectroscopy would allow in-situ analysis in crop fields and agri-food industries.

Keywords: Vibrational spectroscopy, organic, chemometric analysis, agrochemical residues.

INTRODUCCIÓN

La producción orgánica está basada en una serie de principios que incluyen la prohibición del uso de organismos genéticamente modificados, hormonas de crecimiento, radiaciones de naturaleza ionizante. Además, se limita el uso de antibióticos, fertilizantes artificiales (minerales), agroquímicos con efecto herbicida, insecticida, fungicida, entre otros (European Commission, 2023). En la actualidad los agroquímicos son una preocupación mundial debido a sus efectos negativos sobre toda la cadena agroalimentaria, que incluye a trabajadores, consumidores y medio ambiente (Villanueva et al., 2023). Los mercados internacionales son rigurosos en el monitoreo de residuos agroquímicos para determinar la naturaleza orgánica de los alimentos, debido a la creciente demanda en la producción de alimentos muchos productores e industrias optan por incrementar el uso de agroquímicos en sus cultivos (Morgera et al., 2019). El presente ensayo pretende informar a los lectores sobre que la importancia de la espectroscopia vibracional como una metodología adecuada para poder detectar y cuantificar la presencia de estos agroquímicos en alimentos. Existe la necesidad de realizar más investigación en el desarrollo de estas técnicas que incluyan como herramienta a la quimiometría o también conocido como análisis multivariado para poder hacer un adecuado tratamiento de los datos espectrales a fin de predecir los tipos de pesticidas que se encuentran en diversas matrices alimentarias. Adicionalmente, el presente trabajo brinda directrices acerca de las tecnologías basadas en la espectroscopia vibracional para la detección de agroquímicos y como estas pueden aplicarse en campos de cultivo, lo que facilitaría enormemente a determinar si un producto presentaría potencial de denominación “orgánica”.

DESARROLLO

Los agroquímicos o también denominados pesticidas son compuestos químicos muy utilizados en la agricultura durante la producción para controlar plagas (Davydov et al., 2018).

El uso de pesticidas está restringido en la producción orgánica. Sin embargo, puede haber contacto indirecto inadvertido con granjas convencionales vecinas o instalaciones de manipulación compartidas.

Para reconocer que puede ocurrir un contacto inadvertido o inevitable con sustancias prohibidas, las regulaciones orgánicas del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) permiten residuos de pesticidas prohibidos (hasta un 5% del nivel de tolerancia de la Agencia de Protección Ambiental de EUA). La determinación de los residuos agroquímicos en alimentos se realiza mediante el uso de la cromatografía GC y LC acoplado a la espectrometría MS, también existe en tándem (GC-MS/MS, LC-MS/MS), cubriendo ampliamente todo el espectro de agroquímicos gracias a la elevada selectividad y sensibilidad de los analizadores (David et al., 2017). Estas técnicas garantizan el cumplimiento de normativas respecto a agroquímicos en relación con los Límites Máximos de Residuos (LMR) establecidas en la EC/396/2005 (Comisión Europea, 2023). Sin embargo, estas técnicas son costosas, poco amigables con el ambiente debido al uso de reactivos tóxicos, también se requiere largos tiempos de análisis y personal especializado. La espectroscopia vibracional aparece como una técnica de sencilla aplicación para poder resolver este tipo de problemas relacionados a los agroquímicos. Las técnicas de espectroscopia vibracional más utilizadas son la espectroscopía infrarroja cercana (NIR), espectroscopia infrarroja media (MIR) y dispersión Raman. Las técnicas de espectroscopia vibracional más utilizadas son la espectroscopía infrarroja cercana

(NIR), espectroscopia infrarroja media (MIR) y dispersión Raman. La espectroscopia NIR, ubicada en el rango de 4000 – 10000 cm^{-1} (Figura 1A), mide los enlaces químicos sobre la base de sobretonos y bandas de combinación grupos funcionales específicos, siguiendo la teoría de la oscilación anarmónica en la que los niveles de energía no están espaciados por igual, lo que puede dar lugar a transiciones entre estados de energía mayores que uno (Blanco y Villarroya, 2002).

Por otro lado, en la espectroscopia MIR las bandas de absorción, ubicadas en el rango de 400 – 4000 cm^{-1} (Figura 1B), están relacionadas con los modos vibracionales de grupos funcionales específicos y su posición e intensidad de banda están correlacionadas con la energía del enlace y su concentración en la matriz (Rubio-Díaz y Rodríguez-Saona, 2010).

La dispersión Raman (Figura 2C) surge de los cambios en la polarizabilidad de la molécula a medida que vibra; en cambio, la absorción infrarroja requiere un cambio del momento dipolar intrínseco con la vibración molecular. Así pues, las espectroscopias infrarroja y Raman son técnicas complementarias, dado que las transiciones permitidas en Raman pueden estar prohibidas en IR o viceversa. La complementariedad de estas técnicas hace que Raman sea ideal para medir en soluciones, debido a que los modos de estiramiento O-H del agua y alcoholes presentan una fuerte absorción en la región infrarroja, pero producen débiles señales en Raman (Reichenbacher y Popp, 2012; Ali et al., 2013).

El desarrollo de técnicas basadas en la espectroscopia vibracional ha servido para caracterizar, desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo, la trazabilidad en el control de calidad de los alimentos (Rodríguez-Saona et al., 2016).

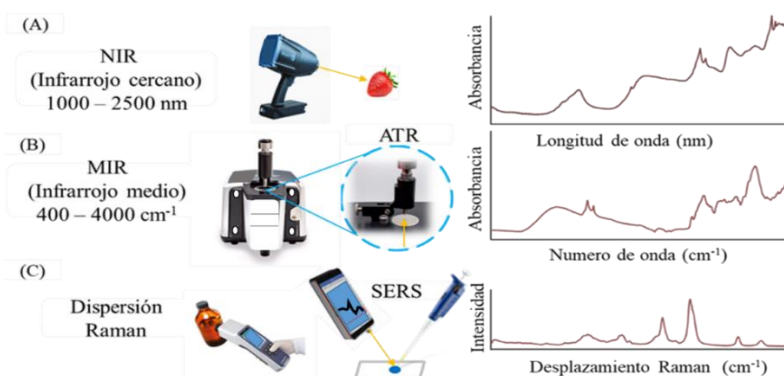
En los últimos años estas tecnologías han pasado de ser equipos exclusivos de análisis en laboratorios a ser equipos portátiles de fácil aplicación en las industrias, campos de cultivo y otros (Figura 1).

Debido a que los métodos espectroscópicos son métodos indirectos, requieren el hacer uso de la quimiometría o también denominado análisis multivariado para transformar mediante herramientas estadísticas la información espectral. Estas transformaciones pueden ser de clasificación dentro de los que se encuentra el Análisis de Componentes Principales (PCA), Análisis Lineal de Discriminante (LDA), Modelamiento Independiente Suave de Clases (SIMCA), Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA). También existen los análisis de clasificación en los que se ubican los Mínimos cuadrados clásicos (CLS), Mínimos cuadrados inversos (MCI), Regresión de Componentes Principales (PCR), Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLSR), Redes Neuronales Artificiales (RNA) (Romía y Bernàrdez, 2009). En la Figura 2A, se representa como los tipos de agroquímicos (Clase 1, 2, 3 ... 7) pueden ser clasificados en un modelo de proyección SIMCA para tres componentes principales (PCs).

El otro tipo de análisis se representa en la Figura 2B, donde se construye un modelo PLSR para la predicción de la concentración de residuos agroquímicos en alimentos por espectroscopia vibracional (eje de abscisas) utilizando como método de referencia a la cromatografía LC o GC – MS (eje de ordenadas).

Figura 1

Espectroscopia vibracional infrarroja (A) NIR, (B) MIR y (C) Raman sobre la toma de datos en muestra de alimentos



Nota. La figura muestra los tipos de Espectroscopia vibracional infrarroja.

Artículo científico

Volumen 6, Número 2, julio - diciembre, 2023

Recibido: 27-04-2023, Aceptado: 25-07-2023


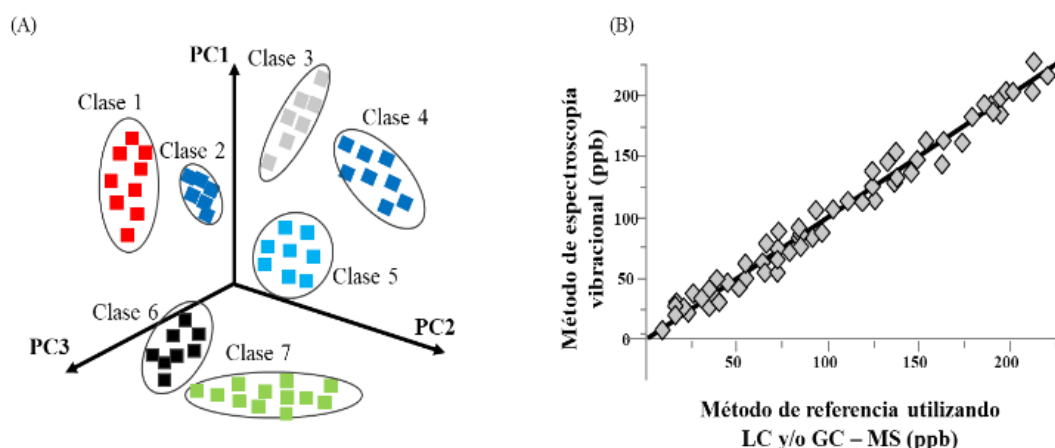
 <https://doi.org/10.46908/tayacaja.v6i2.208>



Figura 2

Análisis quimiométrico para (A) clasificación y (B) cuantificación de residuos agroquímicos (ppb) en alimentos



Nota. La figura muestra los análisis quimiométricos para clasificación y cuantificación.

La espectroscopia vibracional ha sido utilizada para la detección de pesticidas en agroquímicos en diversos alimentos; por ejemplo, Villanueva et al., (2023) utilizó un instrumento MIR – FTIR portátil equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de triple reflexión para detectar residuos de pesticidas en granos de cacao de las principales regiones productoras del Perú, obteniendo un modelo de clasificación (SIMCA) entre cacaos libres de pesticidas versus cacaos con presencia de pesticidas y un modelo de cuantificación (PLSR) con un coeficiente de determinación $R_{cal2} = 0.91$ para cuatro tipos de pesticidas (carbaril, cipermitrina, clorpirifos y ácido 2,4 diclorofexiacético). Lo interesante de este trabajo es que el método desarrollado consiguió tener un límite de detección (LOD) de 9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) y un límite de cuantificación (LOQ) de 23,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb), estos límites son muy cercanos a los que normalmente presentan los equipos de referencia como los de espectrometría de masas (LC y/o GC – MS/MS). Sin embargo, a pesar de presentar LOD y LOQ bajos, no llegan a superar la sensibilidad de los métodos de referencia, aunque en esta aplicación particular serviría para descartar lotes de cacao con presencia agroquímica superior a los límites permisibles del mercado internacional, especialmente de Europa y Estados Unidos.

Yang et al., (2016) desarrollaron modelos en NIR y MIR combinados con PLSR para detectar la presencia simultánea de los agroquímicos cartap (Ca), tiociclam (Th) y tebufenozida (Te) en hierbas medicinales chinas, encontrando que ambos modelos podían dar resultados precisos y solo el rendimiento de MIR-PLSR fue ligeramente mejor que el de NIR-PLSR. En

realidad, la mayoría de los estudios con detección de agroquímicos están vinculados al uso de NIR.

Asimismo, González-Martín et al., (2017) analizaron la presencia de triamidofón en muestras de propóleos procedentes de España y Chile, utilizando la espectroscopia NIR logrando desarrollar un modelo PLSR que generó un coeficiente de determinación $R_{cal2} = 0.81$, en un rango de 0.35 – 42.17 ppm. Otro estudio realizado por Nazarloo et al., (2021), consistió en contaminar artificialmente tomates con diferentes concentraciones de insecticida “prefonos” para analizarlos utilizando espectroscopia NIR y desarrollar modelos PLSR y ANN (redes neuronales).

Los datos espectrales obtenidos por espectroscopia se utilizaron como datos de entrada y los valores de pesticidas obtenidos por cromatografía de gases se utilizaron como datos de salida. Finalmente, los resultados determinaron coeficientes de correlación significativos para los modelos PLSR y ANN en la calibración (RC) y predicción (RP) (RC= 0.988; RP = 0,982).

Además, Lu et al., (2021) emplearon la espectroscopia visible/infrarroja cercana (Vis/NIR) combinada con métodos quimiométricos para determinar cuantitativamente los residuos de clorpirifos y carbendazim en muestras de repollo artificialmente contaminado, obteniendo coeficientes de regresión (R) entre 0.998 – 1; sin embargo, el estudio concluye que para cumplir con los requisitos de detección de contaminación por agroquímicos y de seguridad alimentaria, se requieren estudios adicionales que se centren en reducir el LOD de residuos de agroquímicos. A su vez el estudio indica la necesidad de experimentar con más tipos de agroquímicos y

tratamientos de muestras para mejorar la solidez de los modelos.

Respecto a la dispersión Raman, los estudios más vinculados con agroquímicos utilizan la espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS). Tal es así que, Wang et al., (2021) desarrollaron SERS usando nanopartículas de plata y oro para la detección de pesticidas en frutas y jugos de frutas, los resultados demostraron que la sensibilidad y estabilidad del método fueron similares en comparación con los métodos cromatográficos tradicionales.

Aunque se ha demostrado que SERS permite la cuantificación de pesticidas así hay una serie de métodos sin pasos de preparación de muestras que mostraron valores de R² por debajo de 0.95, lo que indica una precisión muy baja en algunas mediciones. Se necesitan más esfuerzos para desarrollar métodos que minimicen los efectos de las irregularidades en la superficie de la plataforma de nanopartículas y en la cáscara de la fruta.

A diferencia de LC-MS/MS, SERS no permitió la detección simultánea de una gran cantidad de pesticidas, lo cual es uno de los principales desafíos a abordar en los próximos años. La mejora adicional de SERS para la cuantificación de varias estructuras químicas simultáneamente encontrará una aplicación real en este campo y surgirá como una alternativa competitiva a los métodos cromatográficos tradicionales.

Por su parte, Fan et al., (2014) usaron SERS para analizar al agroquímico fosmet (0.5–10 µg/g) en muestras de manzanas contaminadas artificialmente, los modelos PLSR presentaron coeficientes R² entre 0.905 – 0.984 con LOD de 1.44 µg/g para el extracto de manzana.

El estudio concluye que la presencia de compuestos no objetivos en extractos de manzana afectó la sensibilidad para el análisis cualitativo y la precisión para el análisis cuantitativo, lo que obliga a mejorar el tratamiento de muestra previo al análisis.

Nuevas formas de espectroscopia vibracional también se vienen desarrollando como la espectroscopia fotoacústica infrarroja por transformada de Fourier (FTIR-PAS), Lv et al., (2018) han utilizado para detectar triciclazol en las superficies de hojas frescas y cáscaras maduras de arroz.

El análisis de componentes principales (PCA) confirmó la detección de triciclazol sobre la base de su información espectral. FTIR-PAS puede ser un medio eficaz para detectar y monitorear residuos de pesticidas organonitrogenados similares.

CONCLUSIONES

La presente revisión concluye en que el desarrollo de técnicas espectroscópicas, especialmente infrarrojas, presentan la tarea de seguir reduciendo los límites LOQ y LOQ de forma que sean altamente sensibles como los equipos de cromatografía LC y CG acoplados a MS/MS. Por su parte, las técnicas basadas en Raman como SERS requieren una identificación simultánea de muchos tipos de agroquímicos. Sin embargo, hasta donde se presentan los avances científicos en relación con NIR, MIR y Raman, la detección de agroquímicos en los campos de cultivo utilizando equipos portátiles podrían ayudar a los agricultores, industrias, y otros integrantes de la cadena de valor, a descartar lotes de producción con elevados contenidos de agroquímicos, superiores a los límites permisibles en mercados internacionales.

Mientras que aquellos que se encuentren con bajos contenidos de agroquímicos podrían confirmarse con pruebas LC y GC – MS/MS, por el momento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Ali, S.M., Bonnier, F., Lambkin, H., Flynn, K., McDonagh, V., Healy, C., Lee, T.C., Lyng, F.M. y Byrne, H.J. (2013). A comparison of Raman, FTIR and ATR-FTIR micro spectroscopy for imaging human skin tissue sections. *Analytical Methods*, 5(9), 2281-2291. <https://doi.org/10.1039/C3AY40185E>
- [2] Blanco, M. y Villarroya, I. (2002). NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 240-250. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00404-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00404-1)
- [3] David, F., Devos, C., Dumont, E., Yang, Z., Sandra, P. y Huertas-Pérez, J.F. (2017). Determination of pesticides in fatty matrices using gel permeation clean-up followed by GC-MS/MS and LC-MS/MS analysis: A comparison of low- and high-pressure gel permeation columns. *Talanta*, 165, 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.032>
- [4] Davydov, R.; Sokolov, M.; Hogland, W.; Glinushkin, A.; Markaryan, A. 2018. The application of pesticides and mineral fertilizers in agriculture. *MATEC Web of Conferences*, 245: 11003. <https://doi.org/10.1051/MATECCONF/201824511003>
- [5] European Commission [EC]. (2023, 12 de marzo). Agriculture and rural development. Organic production and products. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/organic-farming/organic-production-and-products_en.

- [6] Fan, Y., Lai, K., Rasco, B. A., & Huang, Y. (2014). Analyses of phosmet residues in apples with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Food Control*, 37, 153–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.014>
- [7] González-Martín, M. I., Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M. y Betances-Salcedo, E. V. (2017). Pesticide residues in propolis from Spain and Chile. An approach using near infrared spectroscopy. *Talanta*, 165, 533–539. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.061>
- [8] Rubio-Díaz, D.E. y Rodríguez-Saona, L.E. (2010). Application of Vibrational Spectroscopy for the Study of Heat-induced Changes in Food Components. Wiley, <https://doi.org/10.1002/0470027320.s8942>
- [9] Reichenbacher, M. y Popp, J., 2012. Vibrational spectroscopy. En: Reichenbacher, M. y Popp, J. (Eds.). *Challenges in Molecular Structure Determination* (pp. 63-143). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-24390-5_2
- [10] Rodríguez-Saona, L. E., Giusti, M. M., y Shotts, M. (2016). Advances in Infrared Spectroscopy for Food Authenticity Testing. En: Downey, G (Eds.). *Advances in Food Authenticity Testing* (pp. 71–116). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100220-9.00004-7>
- [11] Romia, M.B., y Bernàrdez, M.A. (2009). Multivariate Calibration for Quantitative Analysis. En: Sun Da-Wen (Eds). *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (pp. 51-82). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374136-3.X0001-6>
- [12] Morgera, E., Caro, C.B. & Durán, G.M. (2012). Organic agriculture and the law. <http://www.fao.org/docrep/016/i2718e/i2718e.pdf>
- [13] Nazarloo, A.S., Sharabiani, V.R., Gilandeh, Y.A., Taghinezhad, E. y Szymanek, M. (2021). Evaluation of Different Models for Non-Destructive Detection of Tomato Pesticide Residues Based on Near-Infrared Spectroscopy. *Sensors*, 21, 3032. <https://doi.org/10.3390/s21093032>
- [14] Lu, Y., Li, X., Li, W., Shen, T., He, Z., Zhang, M., Sun, Y. y Liu, F. (2021). Detection of chlorpyrifos and carbendazim residues in the cabbage using visible/near-infrared spectroscopy combined with chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 257, 119759. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119759>
- [15] Lv, G., Du, C., Ma, F., Shen, Y., y Zhou, J. (2018). Rapid and Nondestructive Detection of Pesticide Residues by Depth-Profiling Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy. *ACS Omega*, 3(3), 3548–3553. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00339>
- [16] Villanueva, E., Glorio-Paulet, P., Giusti, M.M., Sigurdson, G.T., Yao, S. y Rodríguez-Saona L.E. (2023). Screening for pesticide residues in cocoa (*Theobroma cacao* L.) by portable infrared spectroscopy. *Talanta*, 257, 124386. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124386>
- [17] Wang, S.-Y., Shi, X.-C., Zhu, G.-Y., Zhang, Y.-J., Jin, D.-Y., Zhou, Y.-D., Lui, F.-Q. y Laborda, P. (2021). Application of surface-enhanced Raman spectroscopy using silver and gold nanoparticles for the detection of pesticides in fruit and fruit juice. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 583–602. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.006>
- [18] Yang, T., Zhou, R., Jiang, D., Fu, H., Su, R., Liu, Y., y Su, H. (2016). Rapid Detection of Pesticide Residues in Chinese Herbal Medicines by Fourier Transform Infrared Spectroscopy Coupled with Partial Least Squares Regression. *Journal of Spectroscopy*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/9492030>