



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

CONTROL DE PLAGUICIDAS Y DISOLVENTES HALOGENADOS VOLÁTILES EN ACEITE DE OLIVA Y ACEITUNA

Alumno: Alba Guerrero García

Director/a: Adoración Mozas Moral

Tutor/a: Eulogio José Llorent Martínez

Tutor/a: María Luisa Fernández de Córdoba

Dpto.: Química Física y Analítica

En Jaén, a 30 de junio de 2023



Eulogio José Llorent Martínez, Profesor titular del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Jaén y María Luisa Fernández De Córdoba, Catedrática de Universidad del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Jaén.

Como **Directores y/o Tutores** de D^a. Alba Guerrero García, en el Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva, durante el curso 2022-2023.

INFORMA: Que el presente trabajo fin de máster, *“CONTROL DE PLAGUICIDAS Y DISOLVENTES HALOGENADOS VOLÁTILES EN ACEITE DE OLIVA Y ACEITUNA”* ha sido realizado por D./D^a. Alba Guerrero García, para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva por la Universidad de Jaén, bajo la dirección de la **Dra. Dña. Adoración Mozas Moral**.

Jaén, a 30 de Junio de 2023

Fdo.: Alba Guerrero García

Fdo.:

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Origen de compuestos indeseables en aceites de oliva.....	9
1.1.1. Metales.....	9
1.1.2. Dioxinas y bifenilos policlorados (PCBs).....	9
1.1.3. Aceite mineral.....	10
1.1.4. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).....	11
1.1.5. Plaguicidas.....	12
1.1.6. Ésteres de monocloro propanodiol (MCPD) y glicidol.....	13
1.1.7. Ftalatos.....	13
1.2. Plaguicidas.....	14
1.2.1. Generalidades.....	14
1.2.2. Clasificación.....	14
1.2.3. Regulación Europea sobre límites máximos de residuos de plaguicidas (LMRs) en alimentos y piensos de origen vegetal y animal.....	19
1.2.4. Técnicas de tratamiento de muestra en aceite de oliva y aceituna.....	24
1.2.5. Técnicas de análisis en aceite de oliva y aceituna.....	28
1.3. Disolventes halogenados volátiles.....	32
1.3.1. Generalidades.....	32
1.3.2. Límites máximos y método de análisis del Consejo Oleícola Internacional (COI).....	33
1.3.3. Técnicas de tratamiento de muestra y análisis.....	33
2. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA.....	35
3. RESULTADOS.....	35
3.1. Métodos de análisis para la determinación de pesticidas en aceituna y aceite de oliva.....	35

3.2. Métodos de análisis para la determinación de disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva.....	46
3.3. Estudios prospectivos sobre contenido en pesticidas en aceites de oliva virgen.....	47
4. CONCLUSIONES.....	48
5. REFERENCIAS.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de plaguicidas atendiendo a su función.....	14
Tabla 2.	Plaguicidas presentes en el olivar.....	21
Tabla 3.	Técnicas de tratamiento de muestra de plaguicidas en aceite de oliva y aceituna.....	24
Tabla 4.	Técnicas de análisis de plaguicidas en aceite de oliva y aceituna.....	28
Tabla 5.	Ventajas e inconvenientes de espectrómetros de baja resolución.....	30
Tabla 6.	Ventajas e inconvenientes de espectrómetros de alta resolución.....	31
Tabla 7.	Ventajas e inconvenientes de las técnicas de análisis de disolventes halogenados en aceite de oliva	34
Tabla 8.	Métodos de análisis para la determinación de pesticidas en aceituna	35
Tabla 9.	Métodos de análisis para la determinación de pesticidas en aceite de oliva.....	39
Tabla 10.	Métodos de análisis para la determinación de disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva	46
Tabla 11.	Plaguicidas encontrados en muestras de AOVE.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química del acefato.....	16
Figura 2.	Estructura química del DDT.....	17
Figura 3.	Estructura química de los carbamatos	17
Figura 4.	Estructura química del imidacloprid.....	18
Figura 5.	Estructura química de la atrazina	19
Figura 6.	Estructura química de los carbamatos	19

RESUMEN

Este Trabajo Fin de Máster consiste en una búsqueda bibliográfica, la cual se centra en el control de plaguicidas y disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva y aceituna, abordando diferentes aspectos relacionados con estos compuestos no deseados. En primer lugar, se exploran los orígenes de estos compuestos. En este contexto, se analizan las regulaciones europeas y la Norma Comercial del Consejo Oleícola Internacional en las que se establecen los límites máximos de residuos de plaguicidas en aceituna y disolventes halogenados en aceite de oliva, con el objetivo de proteger a los consumidores y garantizar la seguridad alimentaria. Estas regulaciones son fundamentales para asegurar que los aceites de oliva comercializados cumplan con los estándares de calidad y seguridad establecidos.

Finalmente, se examinan y revisan las diversas técnicas de tratamiento de muestra y análisis que se utilizan para controlar la presencia de plaguicidas y disolventes halogenados volátiles en el aceite de oliva y aceituna.

Palabras clave: Plaguicidas, Disolventes halogenados, Cromatografía, Aceite de oliva, Aceituna, Límite máximo de residuos (LMRs), Espectrometría de masas.

ABSTRACT

This Master Thesis consists of a bibliographic search which focuses on the control of pesticides and volatile halogenated solvents in olive oil and olives, addressing different aspects related to these unwanted compounds. First, the origins of these compounds are explored. In this context, European regulations and the International Olive Council Trade Standard establishing maximum residue limits for pesticide residues in olives and halogenated solvents in olive oil are analyzed, with the aim of protecting consumers and ensuring food safety. These regulations are essential to ensure that the olive oils marketed comply with established quality and safety standards.

Finally, the various sample treatment and analytical techniques used to control the presence of pesticides and volatile halogenated solvents in olive oil and olives are examined and reviewed.

Key words: Pesticides, Halogenated solvents, Chromatography, Olive oil, Olive, Maximum residue limits (MRLs), Mass spectrometry.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Origen de compuestos indeseables en aceites de oliva

1.1.1. Metales

Los metales pesados pueden ingresar al aceite de oliva principalmente a través del suelo y del agua utilizados en la producción de las aceitunas. Si el suelo está contaminado con metales pesados, es probable que se acumulen en las raíces de los árboles y se transfieran a las aceitunas. De manera similar, si el agua de riego contiene metales pesados, estos pueden ser absorbidos por las raíces de los árboles y posteriormente transferidos a la aceituna. Además, el uso de herramientas y maquinaria agrícola contaminadas durante su proceso de elaboración también puede ser una fuente de contaminación de metales pesados en el aceite de oliva. El contacto de las partes metálicas de estas herramientas con la pasta de aceituna durante el proceso de extracción puede introducir metales como hierro y cobre en el aceite. Es importante utilizar material fabricado en acero inoxidable en todo el proceso y asegurarse de una adecuada limpieza de las partes para evitar esta contaminación. En pequeñas cantidades, estos metales no se consideran tóxicos para la salud, pero pueden afectar a la calidad del aceite de oliva. Por ejemplo, el hierro puede promover la oxidación de los lípidos, lo que puede afectar el sabor y la textura del aceite. Además, algunos metales pueden actuar como catalizadores en ciertas reacciones químicas del aceite, que pueden afectar su calidad y estabilidad. Su contenido está regulado por el Reglamento (UE) 2023/915 relativo a los límites máximos de determinados contaminantes en los alimentos.

1.1.2. Dioxinas y bifenilos policlorados (PCBs)

Las dioxinas y los PCBs son compuestos químicos persistentes. Las dioxinas se forman como subproductos de ciertos procesos industriales y quema de combustibles fósiles, y también pueden ser liberadas en el medio ambiente a través de actividades como la incineración de residuos. Por otro lado, los PCBs se forman mediante la cloración de diferentes posiciones del bifenilo. Pueden llegar al aceite de oliva de varias maneras, principalmente a través de la contaminación ambiental durante la producción, el procesamiento y el envasado del aceite. La contaminación por éstos en aceites de oliva se produce

principalmente durante el proceso de extracción del aceite. Los PCBs pueden adherirse a la superficie de las aceitunas y, si no se eliminan correctamente durante el proceso de limpieza, pueden transferirse al aceite. Por otro lado, las dioxinas pueden acumularse en el suelo y el agua. Si los olivos se cultivan en áreas contaminadas con estas, pueden ser absorbidas por las raíces de los árboles y transferirlas a los frutos y, posteriormente, al aceite durante el proceso de extracción. Para minimizar la contaminación por dioxinas y PCBs en el aceite de oliva, es importante tomar medidas de control en todas las etapas de producción, el proceso de transporte y el de almacenaje (Merino, D., 2018). Tanto dioxinas como PCBs están regulados por el Reglamento (UE) 2023/915.

1.1.3. Aceite mineral

Existe un tipo de aceite que se conoce como "aceite mineral" que no se produce a partir de una fuente orgánica como las aceitunas, sino que se obtiene a través de la refinación del petróleo. El aceite mineral es considerado el tipo de aceite más primitivo y su costo es menor que el de otros tipos de aceite, tiene una durabilidad más reducida o menor que el aceite sintético y es menos estable ante cambios de temperatura y ambiente. Sin embargo, es posible que se produzcan contaminaciones cruzadas durante el transporte, almacenamiento o procesamiento de los alimentos que contienen aceite de oliva y aceite mineral (Merino, D., 2018). Los MOSH (hidrocarburos saturados de aceites minerales) y MOAH (hidrocarburos aromáticos de aceites minerales) pueden encontrarse en los aceites minerales y su presencia puede ser perjudicial para la salud. En cuanto al aceite de oliva, la presencia de MOSH y MOAH puede ser considerada un contaminante y afectar negativamente a su calidad y pureza. Además, el consumo excesivo de aceites minerales y su contaminación con MOSH y MOAH puede tener efectos negativos para la salud, como la acumulación de estos componentes en los tejidos grasos y el riesgo de cáncer. Además, si se utiliza aceite mineral en equipos de producción o envasado que también se utilizan para el aceite de oliva, podría haber una contaminación cruzada (EFSA, 2012). El aceite mineral se aplica en el cultivo de olivo mediante pulverización en el follaje y la fruta, lo que ayuda a evitar que las plagas y enfermedades se adhieran a la superficie de las hojas y frutas. Además, el aceite mineral puede sofocar las

plagas mediante la obstrucción de los orificios respiratorios de los insectos, lo que puede matarlos.

En la producción de aceite de oliva, es esencial mantener la pureza y la calidad del producto. La presencia de aceites minerales en el proceso de producción de los aceites de oliva puede ocurrir debido a la contaminación cruzada durante el almacenamiento, el transporte o el envasado (Harwood, J. et al., 2018). Por esta razón, es fundamental que los productores y fabricantes de aceite de oliva implementen medidas de control de calidad y buenas prácticas de manufactura para evitar cualquier tipo de contaminación (Boskou, D. et al., 2011). El aceite mineral puede afectar los procesos de transporte y almacenamiento de aceites de oliva contaminación del sabor del aceite, ya que el aceite mineral puede transferir su propio sabor y olor a los aceites de oliva cuando se almacenan o transportan juntos. Esto puede alterar el sabor y la calidad del aceite de oliva, lo que resulta en un producto final menos deseable para los consumidores. También puede interactuar con los componentes del aceite de oliva debido a sus propiedades químicas diferentes. Esto puede provocar reacciones no deseadas, como la oxidación del aceite de oliva, lo que afecta su calidad y estabilidad. Por otro lado, el aceite mineral puede adherirse a los recipientes y equipos utilizados en el transporte y almacenamiento de aceites de oliva. Esto puede dificultar la limpieza y eliminar completamente el residuo de aceite mineral, lo que podría provocar contaminaciones cruzadas en lotes posteriores de aceite de oliva (Harwood, J. et al., 2018)

1.1.4. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)

Los PAHs son un grupo de sustancias químicas tóxicas que se forman cuando se lleva a cabo una combustión incompleta de materia orgánica y pueden afectar negativamente la calidad y la pureza del aceite de oliva. Estos compuestos se encuentran comúnmente en el aire, el agua y el suelo, y pueden ser transportados por largas distancias a través del aire y el agua. La toxicidad de los PAHs depende de diversos factores, como la cantidad y la duración de la exposición a éstos, la naturaleza específica del compuesto y la susceptibilidad individual. La presencia de PAHs en el aceite de oliva puede ser un resultado de la contaminación ambiental o del proceso de producción. Es posible que los PAHs se encuentren en los aceites de oliva debido a la contaminación del suelo

o del agua en la que crecen los olivos, o durante el proceso de producción de aceite de oliva, como cuando se utiliza combustible fósil para calentar el agua en los molinos de aceite (EFSA, 2018). Su contenido se reguló a raíz de la contaminación con benzopirenos de aceites de orujo en el proceso de secado con aire caliente (Reglamento (UE) 2023/915). En el caso de los aceites de oliva, los PAHs pueden afectar el proceso de producción de varias maneras. En algunos casos, las aceitunas se secan antes de ser procesadas para obtener el aceite de oliva, si se utiliza un método de secado que involucra la quema de madera u otros materiales orgánicos, puede haber una mayor probabilidad de formación de PAHs debido a la combustión incompleta. Por otro lado, si las aceitunas se exponen al humo o al calor generado por la combustión de estos materiales, los PAHs pueden adherirse a su superficie y transferirse al aceite durante el procesamiento (Boskou, D., 2006). Además, durante el proceso de extracción y refinamiento del aceite de oliva, se utilizan temperaturas elevadas que pueden favorecer la formación de PAHs. Los compuestos presentes en las aceitunas, como grasas y otros compuestos orgánicos, pueden reaccionar y generar PAHs cuando se someten a altas temperaturas (Rodríguez-Acuña, R. et al., 2008).

1.1.5. Plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para controlar o eliminar plagas y enfermedades en los cultivos, incluyendo el olivar. Sin embargo, su uso excesivo o inadecuado puede provocar la contaminación de la aceituna, y por tanto del aceite de oliva, afectando a su calidad y pureza. La protección de cultivos en aceites de oliva es crucial para garantizar una producción de calidad y reducir las pérdidas económicas. En el caso de los aceites de oliva, los plaguicidas son utilizados para controlar las plagas y enfermedades que afectan a los olivos y sus frutos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso excesivo o inadecuado de plaguicidas puede tener consecuencias negativas en la salud humana y el medio ambiente. La toxicidad de los plaguicidas depende de la naturaleza de los mismos, la cantidad y la frecuencia de exposición. En el cultivo del olivo, se utilizan varios tipos de plaguicidas, entre ellos los insecticidas, fungicidas y herbicidas.

1.1.6. Ésteres de monocloropropanodiol (MCPD) y glicidol

Los ésteres de MCPD son compuestos químicos que pueden estar presentes en los alimentos, incluidos los aceites vegetales, como resultado de ciertos procesos de fabricación y refinamiento. La toxicidad de los ésteres de MCPD depende de varios factores como la cantidad y la frecuencia de exposición, la naturaleza específica del compuesto y la susceptibilidad individual. El 3-MCPD y los ésteres del glicidol están clasificados en el grupo 2A del *International Agency on Research on Cancer (IARC)* (Agents classified by the IARC monographs, 2023). En el caso de los aceites de oliva, los ésteres de MCPD pueden formarse durante el proceso de refinamiento, especialmente cuando se utilizan condiciones de alta temperatura y presencia de cloruros. Estos compuestos se generan a partir de la reacción entre los ácidos grasos libres presentes en el aceite y los glicerolípidos (EFSA, 2016).

El glicidol es una sustancia química contaminante que puede estar presente en algunos alimentos, incluyendo el aceite de oliva, como resultado del procesamiento y refinamiento. La toxicidad del glicidol depende de varios factores como la cantidad y la frecuencia de exposición, la naturaleza específica del compuesto y la susceptibilidad individual. Además, puede afectar el proceso de producción de aceites de oliva si está presente en cantidades significativas. Se forma como subproducto en algunas reacciones químicas que ocurren durante el procesamiento de los aceites vegetales, incluido el aceite de oliva. Estas reacciones pueden ocurrir durante el refinado y el desgomado de los aceites, especialmente cuando se utilizan altas temperaturas (EFSA, 2016). Ambos están regulados por el Reglamento (UE) 2023/915.

1.1.7. Ftalatos

Los ftalatos son compuestos químicos que se utilizan comúnmente como plastificantes en una variedad de productos, incluyendo envases y embalajes. En el caso de los aceites de oliva, los ftalatos pueden afectar tanto los procesos de transporte como los de almacenamiento de diferentes maneras (EFSA, 2022). En primer lugar, durante el transporte, los ftalatos presentes en los materiales de embalaje pueden migrar hacia el aceite de oliva si no se utilizan barreras adecuadas. Esto puede ocurrir especialmente si los envases están expuestos a

altas temperaturas o condiciones adversas durante el transporte. La migración de ftalatos al aceite de oliva puede alterar su composición química y potencialmente afectar a su calidad. En cuanto al almacenamiento, si los aceites de oliva se almacenan en envases que contienen ftalatos, existe la posibilidad de migración continua de estos compuestos hacia el aceite a lo largo del tiempo. Esto es especialmente relevante si los envases no son adecuados para el almacenamiento de alimentos o si se exponen a condiciones ambientales adversas, como la luz solar directa o temperaturas extremas. La presencia de ftalatos en el aceite de oliva puede afectar su sabor, aroma y calidad en general (EFSA, 2005).

1.2. Plaguicidas

1.2.1. Generalidades

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el término “plaguicida” como: “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, (FAO/OMS, 1999)”. Existen diferentes tipos de plaguicidas, que se clasifican según su objetivo y su composición química.

1.2.2. Clasificación

La clasificación de plaguicidas se puede llevar a cabo dependiendo de su función o de su naturaleza química. A continuación, se muestra su clasificación atendiendo a su función en la tabla 1:

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS ATENDIENDO A SU FUNCIÓN

PLAGUICIDA	ACCIÓN
Acaricidas	Control de ácaros
Alguicidas	Matan o ralentizan el crecimiento de algas
Atrayentes	Atracción de determinadas plagas
Avicidas	Combaten contra las aves

Bactericidas	Contra bacterias
Defoliantes	Provocan la caída de la hoja
Desecantes	Secado de tejidos vivos de plantas
Fungicidas	Combaten hongos
Herbicidas	Contra malas hierbas o adventicias
Insecticidas	Contra insectos
Molusquicidas	Combaten moluscos
Nematicidas	Control de nematodos
Piscicidas	Sobre peces
Reguladores	Aceleran o retardan el crecimiento de la planta
Repelentes	Ahuyentar plagas no deseadas
Rodenticidas	Contra roedores

Fuente: Elaboración propia

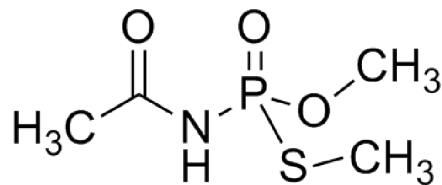
Como se ha comentado anteriormente, los plaguicidas también se pueden clasificar en función de su naturaleza química. Se dividen en dos grupos:

- **Compuestos inorgánicos:** son sustancias activas sin carbono en su composición. Han sido utilizados en la agricultura desde tiempos remotos. Estos compuestos tienden a formar cristales en su forma natural y, por lo general, se disuelven en agua. Son conocidos por su amplio espectro de acción y su baja toxicidad para los insectos, lo que implica que se requieren grandes cantidades de estos compuestos. Están conformados por variantes de elementos fundamentales como azufre, boro, zinc, aluminio y cobre.
- **Compuestos orgánicos:** contienen átomos de carbono en su estructura. La mayoría de ellos son creados de forma sintética a partir de compuestos químicos básicos. Estos compuestos suelen ser poco solubles en agua y tienen una degradación lenta, lo que los hace propensos a acumularse en los organismos vivos y, por lo tanto, más peligrosos. Los compuestos orgánicos pueden agruparse en diferentes familias químicas según sus grupos funcionales, que determinan sus propiedades características. A

continuación, se describen algunas de las familias más importantes (Krieger, R. I. & Kireger, W. C., 2001):

- Organofosforados: Dentro de esta categoría, se encuentran más de 200 compuestos ampliamente utilizados como insecticidas y nematicidas. Estos compuestos son estructuras químicas derivadas principalmente del ácido fosfórico, como ésteres, amidas o tioles. Son conocidos por su alta toxicidad y su escasa estabilidad química. Además, presentan una alta capacidad de disolverse en lípidos y son fácilmente hidrolizables. Entre los compuestos más destacados de esta familia se incluyen acefato, clopirifos, diazinón, etión, malatión, paratión y triclorfón.

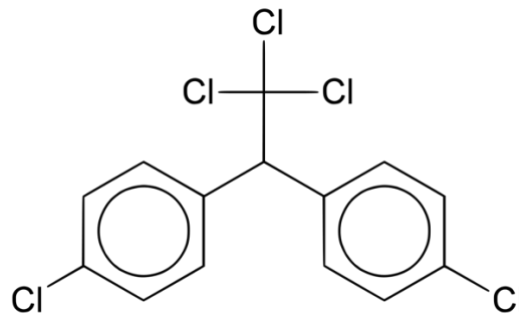
FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL ACEFATO



Fuente: Elaboración propia

- Organoclorados: Estos compuestos se caracterizan por ser hidrocarburos que contienen una alta proporción de átomos de cloro en su estructura. Tienen su origen en la síntesis del DDT (diclorodifeniltricloroetano), un insecticida ampliamente utilizado en el pasado que actuaba sobre el sistema nervioso de los insectos. Estos compuestos son conocidos por su gran estabilidad química y su dificultad para degradarse biológicamente, lo que los hace propensos a acumularse en los tejidos animales (Krieger, R. I. & Kireger, W. C., 2001). Sin embargo, su uso ha sido prohibido a nivel mundial debido a su clasificación como carcinogénicos y mutagénicos. En el cultivo del olivar, un grupo de compuestos de gran importancia son los endosulfanes.

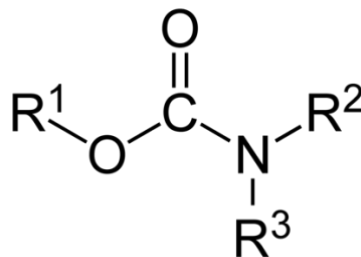
FIGURA 2. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL DDT



Fuente: Elaboración propia

- Carbamatos: Estos compuestos son sustancias orgánicas sintetizadas a partir del ácido carbámico. Por lo general, se presentan como ésteres y sales derivadas de dicho ácido, y se utilizan como insecticidas debido a su efecto neurotóxico como inhibidores reversibles de la enzima colinesterasa. Estos compuestos tienen una baja solubilidad en agua, lo que hace que se queden atrapados en las capas superficiales del suelo. Además, se degradan con relativa rapidez (Krieger, R. I. & Kireger, W. C., 2001). Algunos de los plaguicidas que pertenecen a esta familia incluyen carbaryl, carbendazim, carbofuran y carbosulfan.

FIGURA 3. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS CARBAMATOS

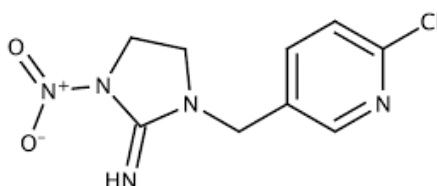


Fuente: Elaboración propia

- Neonicotinoides: Estos compuestos también son utilizados por su capacidad para combatir insectos, paralizándolos y provocando su muerte, al igual que los compuestos mencionados anteriormente. Su estructura está basada en la nicotina y consiste en heterociclos, principalmente con átomos de nitrógeno, aunque también pueden contener otros heteroátomos como azufre u oxígeno. Sin embargo, en los

últimos tiempos se han implementado restricciones en su uso debido al impacto que tienen sobre las abejas, causando el colapso de las colonias apícolas. Algunos de los compuestos más comunes de esta familia incluyen acetamiprid, thiacloprid, imidacloprid, clotianidina y thiametoxam. Estos tres últimos fueron prohibidos por la unión europea.

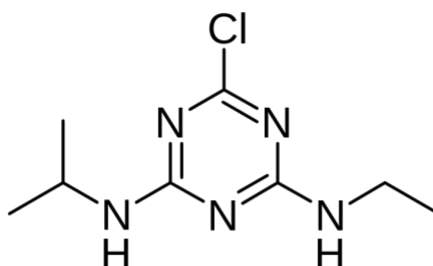
FIGURA 4. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL IMIDACLOPRID



Fuente: Elaboración propia

- Triazinas: Esta categoría está compuesta por derivados de la 1,3,5-triazina, que es un anillo de seis miembros con tres heteroátomos de nitrógeno alternados en su estructura. Estos compuestos se utilizan en la agricultura como herbicidas, ya que actúan como inhibidores de la fotosíntesis al bloquear el acceso al dióxido de carbono (CO₂) y detener el funcionamiento del mecanismo fotosintético. Aunque existen alrededor de 14 especies conocidas de derivados de la triazina, son sustancias peligrosas que se absorben fácilmente a través de la piel y tienen una alta capacidad de acumulación (Krieger, R. I. & Kireger, W. C., 2001). Es particularmente preocupante su capacidad de lixiviar, lo que permite que se filtren hasta las aguas subterráneas, lo que provoca una contaminación frecuente. Algunos de los compuestos estudiados en esta categoría incluyen atrazina, simazina y terbutilazina.

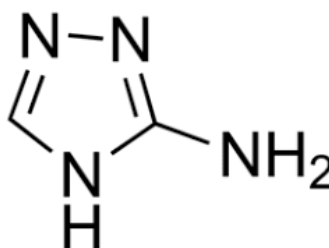
FIGURA 5. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA ATRAZINA



Fuente: Elaboración propia

- Triazoles: Estos plaguicidas pertenecen a un grupo similar a las triazinas y se utilizan para controlar las malas hierbas de forma similar a los compuestos mencionados anteriormente. Su estructura se deriva del triazol, que es un heterociclo de cinco miembros que contiene tres átomos de nitrógeno en su composición.

FIGURA 6. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL TRIAZOL



Fuente: Elaboración propia

1.2.3. Regulación Europea sobre límites máximos de residuos de plaguicidas (LMRs) en alimentos y piensos de origen vegetal y animal

Los MRLs fueron establecidos mediante el Reglamento (CE) 396/2005, el cual es de obligatorio cumplimiento en todos los estados miembros de la Unión Europea, incluyendo España. Este reglamento es relativo a los límites máximos de residuos plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. Esta normativa, actualmente en vigor, modifica la Directiva 91/414/CEE sobre la comercialización de productos fitosanitarios. El reglamento (CE) 396/2005 establece, de conformidad con los principios generales expuestos en el Reglamento (CE) 178/2002, en particular, la necesidad de garantizar un nivel

elevado de protección de los consumidores, disposiciones comunitarias armonizadas relativas a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. Cada año se lleva a cabo una revisión de los MRLs establecidos para cada tipo de alimento, con el fin de realizar modificaciones, supresiones o ampliaciones en función de los avances y conocimientos adquiridos hasta la fecha. Estos límites se clasifican en diferentes anexos (I-VII) que son publicados en la normativa correspondiente, con el objetivo constante de garantizar un alto nivel de protección para los consumidores y el medio ambiente. Es importante resaltar que cuando el uso autorizado de productos fitosanitarios no genera niveles detectables de residuos de plaguicidas, los MRLs deben establecerse en el nivel más bajo que pueda ser determinado analíticamente (límite de determinación). En aquellos casos en los que no se hayan establecido MRLs, se establece un valor predeterminado de 0.01 mg/kg (Reglamento (CE) 149/2008). Los MRLs de plaguicidas en la aceituna se encuentran establecidos en los anexos actualizados regularmente del Reglamento (CE) 396/2005. Sin embargo, en el caso de productos derivados como el aceite de oliva virgen, no existe un límite específico establecido. Aunque se espera que el anexo VI recoja factores de transformación o procesamiento aplicables a los MRLs de la materia prima para obtener los MRLs del producto procesado, dicho anexo aún está pendiente de publicación. No obstante, se ha realizado una primera aproximación al uso de factores de procesamiento en el reglamento que regula el control oficial de alimentos en la Unión Europea para verificar el cumplimiento de los MRLs.

En la tabla 2 se recogen las sustancias activas autorizadas para uso fitosanitario en Producción Integrada de Andalucía en el olivar, según la Orden del 4 de abril de 2023 de la Consejería de Agricultura, Pesca, Agua y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, y los correspondientes LMRs (Reglamento Europeo 396/2005):

TABLA 2. PLAGUICIDAS PRESENTES EN EL OLIVAR

PLAGUICIDA	TIPO	NATURALEZA QUÍMICA	LMR
Acetamiprid	Insecticida	Neonicotinoide	0,01
Clortoluron + Diflufenican	Herbicidas	Fenilurea + Difenil éter	0,05 y 0,02
Defenoconazol	Fungicida	Triazol	
Diflufenican + Metribuzin	Herbicidas	Difenil éter + Triazina	0,02
Flazasulfuron	Herbicida	Sulfonilurea	0,01-0,02
MCPA	Herbicida	Ácido fenoxiacético	
Tribenuron metil	Herbicida	Sulfonilurea	0,01

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar en dicha tabla que la mayoría de los plaguicidas utilizados en el olivar son herbicidas y que sus LMRs están en un intervalo de concentración entre 0,01 – 0,05 mg/Kg.

Dado el riesgo que representan todos estos agentes tóxicos para la salud de los consumidores, es crucial supervisar su uso y la presencia de residuos en los alimentos. Estos contaminantes químicos pueden ingresar al organismo de diversas formas, como una exposición directa a concentraciones elevadas. Incluso a concentraciones bajas, pueden acumularse en el cuerpo a través del proceso de bioacumulación, lo que puede ocasionar problemas de salud a largo plazo. Es fundamental tomar medidas para controlar y minimizar la presencia de estos contaminantes en nuestra alimentación. La presencia de residuos de plaguicidas y otros contaminantes en los alimentos es el resultado del uso legal de preparados fitosanitarios durante el cultivo. Sin embargo, es crucial seguir cuidadosamente las instrucciones del fabricante, como la dosis utilizada, la

frecuencia de uso y los períodos de espera antes de la cosecha y el consumo, con el fin de evitar concentraciones peligrosas para la salud. Es importante hacer un uso responsable de estos productos. Diversas instituciones en todo el mundo establecen criterios para regular no solo los contaminantes y plaguicidas, sino también los posibles aditivos, como edulcorantes y colorantes, durante la producción de alimentos (Directiva 89/107/CEE). Por ejemplo, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ha desarrollado el Manual de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) (FAO, COAG/2003/6), que promueve el uso responsable de productos fitosanitarios para garantizar la seguridad alimentaria, preservar la biodiversidad y cuidar del medio ambiente en un enfoque de desarrollo sostenible o el COI, que está dedicado especialmente al aceite de oliva y las aceitunas de mesa. De manera similar, la Unión Europea (UE) establece regulaciones cada vez más rigurosas tanto en términos de concentración como en el uso de productos fitosanitarios en áreas específicas, como cerca de ríos, jardines y otros lugares públicos.

Considerando los valores de toxicidad de cada sustancia activa que pueda representar un riesgo, así como los resultados de estudios experimentales sobre los residuos presentes después de aplicar los productos fitosanitarios siguiendo las BPA, se establecen los MRLs, comentados anteriormente. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la presencia simultánea de varias sustancias peligrosas puede generar efectos acumulativos y sinérgicos, por lo que no solo se deben considerar los límites establecidos, sino que se recomienda observar y extremar las precauciones en estos casos. Para los aceites de oliva vírgenes, se propuso la utilización de un factor de transformación específico de 5 durante el período de control de tres años (2015-2017) en el Reglamento (UE) 400/2014. Este factor corresponde a un rendimiento graso estándar del aceite de oliva del 20%. De esta manera, se aplicó un límite cinco veces más alto al MRL correspondiente de cada plaguicida en la aceituna para el aceite de oliva, teniendo en cuenta este factor de preconcentración. Esta aproximación consideraba un rendimiento teórico y asumía una transferencia completa (100%) del analito desde la aceituna hasta el aceite de oliva, lo cual no es necesariamente cierto para todos los casos debido a las diferentes propiedades químicas de las sustancias activas utilizadas. En las actualizaciones posteriores

de la norma (Reglamento (UE) 2015/595) y el actual Reglamento (UE) 2016/662 para el control oficial de los MRLs en alimentos, se ha introducido una modificación que distingue el uso de un factor de 5 para las sustancias liposolubles y un factor de 1 para las que no lo son. Sin embargo, no se especifica un procedimiento estándar para asignar un plaguicida a uno de los dos grupos.

1.2.4. Técnicas de tratamiento de muestra de aceite de oliva y aceituna

En la tabla 3 se recogen algunas de las técnicas más usadas en el tratamiento de muestra para la determinación de plaguicidas en aceite de oliva y aceituna, las cuales se explicarán brevemente a continuación.

TABLA 3. TÉCNICAS DE TRATAMIENTO DE MUESTRA DE PLAGUICIDAS EN ACEITE DE OLIVA Y ACEITUNA

		Aceite de oliva	Aceituna
Técnicas de tratamiento	Extracción líquido-líquido (LLE)	✓	✓
	Extracción en fase sólida (SPE)	✓	✓
	Extracción asistida por ultrasonidos (USE)	✓	✓
	Extracción con fluidos supercríticos (SFE)	✓	✓
	Extracción en fase sólida dispersiva (dSPE)	✓	✓
	Extracción en matriz sólida	✓	✓
	Microextracción en fase sólida (SPME)	✓	✓
	Extracción por dispersión de matriz		✓
	Extracción en fase sólida con disolvente presurizado (PSE)		✓
	QuERChER	✓	✓
	Extracción asistida por microondas (MAE)		✓

Fuente: Elaboración Propia

- *Extracción líquido-líquido (LLE)*

Proceso en el que se transfieren selectivamente componentes de una fase líquida inicial a otra fase líquida inmiscible. Se utiliza un disolvente que tiene afinidad por el componente deseado. Al mezclar ambas fases, el componente deseado se distribuye preferentemente en la fase extractora debido a las diferencias en afinidades químicas o físicas. Esto permite separar y purificar los componentes deseados de la mezcla original (Skoog, D. A., et al. 2013).

- Ventajas: Técnica muy sencilla y eficaz.

- Inconvenientes: Altos tiempos y consumo de disolventes. Poca selectividad.

- *Extracción en fase sólida (SPE)*

Técnica de purificación y concentración de muestras líquidas complejas antes de su análisis. Se basa en la interacción selectiva entre los componentes de la muestra y una fase sólida estacionaria. La muestra se pasa a través de una columna con un material sólido que retiene selectivamente los analitos de interés, mientras que los interferentes se eliminan. Después, los interferentes se lavan y los analitos se recuperan con un solvente adecuado. Esto permite obtener una muestra más pura y concentrada para el análisis (Pawlizyn, J., 2012).

- Ventajas: Mayor selectividad, menor consumo de disolventes, alta eficacia de recuperación y automatizable.

- Inconvenientes: Proceso complejo y con altos tiempos

- *Extracción asistida por ultrasonidos (USE)*

Técnica en la cual se utilizan ultrasonidos de alta frecuencia para extraer compuestos de muestras sólidas o líquidas. Se emplea un equipo llamado baño de ultrasonidos que genera ondas sonoras de alta frecuencia. Estas ondas crean burbujas en la muestra, generando cavitación acústica, que implica la formación, crecimiento y colapso violento de las burbujas. Esto crea microturbulencias y fuerzas de corte en el medio líquido, facilitando la extracción de los compuestos deseados (Chen, Y. et al. 2011).

- Ventajas: Alta eficiencia en extracción, menor consumo de disolventes, rápida y reproducible.

- Inconvenientes: Necesidad de equipo especializado y posible formación de emulsiones.

- *Extracción con fluidos supercríticos (SFE)*

Proceso utilizado para obtener compuestos de interés de diversas sustancias. Utiliza un fluido supercrítico, que se encuentra entre los estados líquido y gaseoso bajo condiciones específicas de temperatura y presión. El dióxido de carbono (CO₂) supercrítico es el más comúnmente utilizado. El CO₂ penetra en la muestra y extrae los componentes deseados, disolviéndolos en el fluido. Luego, en una etapa de separación, se reduce la presión y se recupera el compuesto deseado, dejando el CO₂ en forma gaseosa para su recirculación o eliminación (McHugh, M. et al. 1994).

- Ventajas: Selectividad, eficiencia en la extracción y capacidad de eliminar disolventes.

- Inconvenientes: Alto coste y equipo especializado.

- *Extracción en fase sólida dispersiva (dSPE)*

Técnica de extracción que separa y concentra compuestos específicos de una muestra compleja antes de su análisis. Se agrega una fase sólida dispersiva a la muestra líquida para extraer los analitos de interés. Esta fase sólida consiste en partículas sólidas como sílica, polímeros o carbón activado, que tienen propiedades de adsorción selectiva. Las partículas se dispersan en la muestra y se agitan para aumentar la interacción con los analitos. De esta manera, se logra extraer y concentrar los compuestos deseados para su análisis posterior (Socas-Rodríguez, B. et al. 2015).

- Ventajas: Alta selectividad, eficiencia en la extracción, tiempo reducido y mejora de sensibilidad.

- Inconvenientes: Equipos especializados y alto coste.

- *Extracción en matriz sólida*

La extracción de la muestra sólida se realiza mezclándola con un disolvente adecuado, como una mezcla de agua y acetonitrilo, seguido de una agitación vigorosa. Después de la extracción, se lleva a cabo una etapa de limpieza utilizando materiales de extracción en matriz sólida, como sales de magnesio y

mezclas de disolventes. Estos materiales ayudan a eliminar interferencias y componentes no deseados, como lípidos e impurezas, de la muestra. Esto mejora la selectividad y la sensibilidad del análisis posterior (Wilkowska, A. et al. 2011).

- Ventajas: Alta eficiencia, selectividad en la extracción, fácil automatización y bajo consumo de disolventes.

- Inconvenientes: Limitación de la cantidad de muestra y contaminación cruzada.

- o *Microextracción en fase sólida (SPME)*

Técnica analítica para la extracción y concentración de compuestos volátiles y semivolátiles en muestras líquidas, gaseosas y sólidas. Utiliza una fibra recubierta con un material de extracción selectivo, como una fase estacionaria. La fibra recubierta, compuesta por un núcleo de metal o vidrio con una capa delgada de polímero o fase estacionaria, se introduce en la muestra para adsorber los analitos de interés. Este principio permite una extracción selectiva y eficiente de los compuestos deseados para su posterior análisis (Scheppers, S., et al. 1999).

- Ventajas: Alta eficiencia, selectividad en la extracción, fácil automatización y bajo consumo de disolventes.

- Inconvenientes: Limitación de la cantidad de muestra y contaminación cruzada.

- o *Extracción por dispersión de matriz*

Se basa en la capacidad de ciertos materiales, llamados extractantes o absorbentes, para adsorber selectivamente el analito de la matriz. Estos extractantes tienen una afinidad química por el analito y pueden estar en forma de partículas sólidas o líquidos inmiscibles. Al agregar el extractante a la muestra y agitarla, se produce la dispersión de la matriz, lo que resulta en una separación física del analito de los demás componentes de la muestra (Xu, S. et al., 2022).

- Ventajas: Alta eficiencia, selectividad en la extracción, elevada compatibilidad con muestras complejas y no requiere equipos costosos.

- Inconvenientes: - Grandes cantidades de matriz sólida.

- *Extracción en fase sólida con disolvente presurizado (PSE)*

Técnica utilizada para extraer compuestos químicos de muestras sólidas utilizando disolventes presurizados. La extracción en fase sólida con disolvente presurizado ofrece varias ventajas en comparación con las técnicas de extracción tradicionales, como una mayor eficiencia de extracción, tiempos de extracción más cortos, menor consumo de disolvente y la capacidad de realizar extracciones automatizadas (Lu, D. 2014).

- Ventajas: Alta eficacia y selectividad, tiempo reducido y extracción en condiciones controladas.

- Inconvenientes: Equipos especializados.

- *QuEChERS*

Método de extracción y limpieza de muestras utilizado en análisis químicos. combina la extracción líquido-líquido con la limpieza en fase sólida para eliminar interferencias y concentrar los analitos de interés en la muestra (Anastassiades, M. et al. 2003).

- Ventajas: Rápido y versátil.

- Inconvenientes: Límites de extracción, interferencias y variabilidad de matriz.

- *Extracción asistida por microondas (MAE)*

Técnica que utiliza la energía de las microondas para calentar el solvente y acelerar la extracción de muestras. Es una alternativa rápida y eficiente a los métodos tradicionales de extracción. En la MAE, la muestra se coloca junto con el solvente en un recipiente adecuado, como un tubo de extracción. Este recipiente se coloca en un horno de microondas que emite ondas electromagnéticas de alta frecuencia. Estas ondas generan calor rápidamente dentro del solvente, aumentando la temperatura y la presión en el sistema de extracción. Esto acelera el proceso de extracción y permite obtener los componentes deseados de la muestra de manera más eficiente (Delazar, A. et al., 2012).

- Ventajas: Alta eficiencia y rapidez en la extracción, tiempos reducidos y extracción en condiciones controladas.

- Inconvenientes: Equipos especializados y optimización de parámetros de extracción.

1.2.5. Técnicas de análisis en aceite de oliva y aceituna

Las técnicas más comúnmente empleadas para el análisis de plaguicidas en aceite de oliva y aceituna son la cromatografía de gases (CG) o cromatografía de líquidos (HPLC) acopladas a espectrometría de masas. También en algunos casos se ha utilizado cromatografía de líquidos UHPLC, que permite conseguir que las separaciones sean más rápidas. Se seleccionará HPLC o GC en función de la naturaleza química de los plaguicidas que se van a analizar, es decir, se analizarán mediante CG aquellos compuestos que sean volátiles y térmicamente estables y mediante HPLC compues polares. Como técnica de detección se emplea la espectrometría de masas en ambos casos, pudiéndose dividir los espectrómetros de masas en dos grupos, de alta (se puede medir de forma exacta el peso molecular) o baja resolución (no pueden distinguir los decimales en el peso de los compuestos).

TABLA 4. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS EN ACEITE DE OLIVA Y ACEITUNA

		Aceite de oliva	Aceituna
Técnicas de análisis	Cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS)	✓	✓
	Espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (HPLC-MS)	✓	✓

Fuente: Elaboración propia

○ Cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS)

La espectrometría de masas es una técnica para determinar la composición y estructura de las moléculas. Se separan y detectan iones generados a partir de la muestra según su relación carga-masa. Los espectros de masas resultantes brindan información sobre la composición y permiten identificar compuestos. En GC-MS, la cromatografía de gases separa los componentes de la muestra, que luego se analizan en el espectrómetro de masas. Los compuestos eluidos se

ionizan en la fuente de ionización y los iones resultantes se separan y detectan en función de su relación carga-masa. Se registra un espectro de masas para identificar los compuestos presentes (Skoog, D. A., et al. 2013).

- Ventajas: Alta capacidad de separación y sensibilidad, rapidez, y proporciona información tanto cualitativa como cuantitativa.

- Inconvenientes: Equipos especializados, depende de la calidad y pureza de la muestra y no es efectiva para el análisis de compuestos de alta masa molecular.

○ Espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida (HPLC-MS)

La HPLC se utiliza para separar los componentes de una muestra en una fase líquida estacionaria mediante una fase móvil líquida. Se basa en las propiedades químicas y físicas de los componentes. Es ampliamente utilizada para separar mezclas complejas y purificar compuestos. Al combinar HPLC y MS (espectrometría de masas), se obtienen beneficios significativos. La HPLC separa los componentes para facilitar el análisis e identificación de compuestos. Luego, los componentes se introducen en la fuente de ionización de un espectrómetro de masas, donde se ionizan y se analiza su masa. La MS proporciona información adicional sobre la identidad y estructura de los compuestos, ya que cada uno tiene una firma de masa única (Hartman, T.G. et al. 1991).

- Ventajas: Alta sensibilidad, amplia capacidad de detección, especificidad y capacidad de identificación y cuantificación simultánea.

- Inconvenientes: Alto coste y efecto matriz.

Centrándonos en los espectrómetros de masas, se pueden encontrar diferentes tipos, clasificándose, como se ha comentado anteriormente, en función de que posean alta o baja resolución:

○ Espectrómetros de masas de baja resolución:

- Espectrometría de masas de trampa iónica (IT-MS): La trampa iónica es un dispositivo que utiliza campos eléctricos y magnéticos para atrapar y manipular iones. Puede generar iones a partir de una muestra mediante técnicas como ESI o MALDI. Los iones atrapados en la trampa iónica pueden someterse a diferentes

operaciones para su análisis. En la espectrometría de masas de trampa iónica, se pueden realizar experimentos de fragmentación controlada de los iones seleccionados, lo que proporciona información estructural de las moléculas en la muestra. La trampa iónica ofrece ventajas como alta sensibilidad, capacidad de análisis secuencial y la posibilidad de realizar espectrometría de masas en modo de ionización múltiple (March, R. et al. 2005).

- Cuadrupolo o triple cuadrupolo: Ambas técnicas se basan en el uso de un cuadrupolo, un dispositivo compuesto por cuatro electrodos en forma de varilla. La espectrometría de masas de cuadrupolo utiliza un cuadrupolo como analizador de masas, mientras que la espectrometría de masas de triple cuadrupolo emplea tres cuadrupolos en serie para selección, fragmentación y detección de iones (Skoog, D. A., et al. 2013).

TABLA 5. VENTAJAS E INCOVENIENTES DE ESPECTRÓMETROS DE BAJA RESOLUCIÓN

	Ventajas	Desventajas
Espectrometría de masas de trampa iónica (IT-MS)	<ul style="list-style-type: none"> · Técnica precisa · Alta sensibilidad y resolución 	<ul style="list-style-type: none"> · Resolución limitada · Rango dinámico limitado · Interferencias de ionización
Cuadrupolo	<ul style="list-style-type: none"> · Rapidez · Alta sensibilidad y velocidad de análisis 	<ul style="list-style-type: none"> · Selectividad y fragmentación limitadas
Triple cuadrupolo	<ul style="list-style-type: none"> · Alta selectividad y sensibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> · Alto coste y complejidad

- Espectrómetros de masas de alta resolución:
 - Espectrometría de masas de tiempo de vuelo (TOF-MS): La espectrometría de masas es una técnica analítica que determina las masas y concentraciones de

iones en una muestra. Los analitos se ionizan y los iones aceleran hacia un detector de masas mediante un campo eléctrico. La velocidad de los iones depende de su relación masa/carga (m/z). Los iones más livianos llegan al detector antes que los más pesados debido a que se aceleran más rápidamente. El tiempo de vuelo (TOF) que tardan los iones en recorrer la distancia entre la fuente y el detector se registra. La espectrometría de masas de tiempo de vuelo ofrece alta resolución de masa y puede analizar una amplia gama de masas en un solo barrido. Es muy sensible y puede detectar y cuantificar compuestos en concentraciones extremadamente bajas (Watson, J.T. et al. 2007).

- Q-TOF: Combina un cuadrupolo y un analizador de tiempo de vuelo para lograr altas resoluciones y precisiones en la determinación de la relación masa/carga (m/z) de los iones. Los iones generados en la fuente de ionización se enfocan y seleccionan mediante el cuadrupolo, y luego se aceleran hacia el analizador de tiempo de vuelo donde se separan según su m/z y se detectan (Watson, J.T. et al. 2007)

- Orbitrap: Los iones generados a partir de la muestra se mueven en órbitas en un campo eléctrico creado por electrodos en forma de cilindro y anillo. Las corrientes eléctricas generadas por los iones se convierten en señales que se analizan para determinar sus masas y abundancias relativas (Watson, J.T. et al. 2007).

TABLA 6. VENTAJAS E INCOVENIENTES DE DE ESPECTRÓMETROS DE ALTA RESOLUCIÓN

	Ventajas	Desventajas
Espectrometría de masas de tiempo de vuelo (TOF-MS)	<ul style="list-style-type: none"> · Rango de masas alto · Análisis rápido · Alta sensibilidad 	<ul style="list-style-type: none"> · Resolución limitada · Rango dinámico limitado · Interferencias de ionización
Q-TOF	<ul style="list-style-type: none"> · Alta resolución y precisión · Amplio rango dinámico 	<ul style="list-style-type: none"> · Alto coste

		<ul style="list-style-type: none"> · Sensibilidad a las condiciones experimentales
Orbitrap	<ul style="list-style-type: none"> · Análisis de muestras complejas · Alta resolución, sensibilidad y velocidad 	<ul style="list-style-type: none"> · Alto coste · Interferencias y ruido · Necesidad de preparación de muestras

1.3. Disolventes halogenados volátiles

1.3.1. Generalidades

Los disolventes halogenados volátiles, también conocidos como halocarbonos volátiles, son compuestos químicos orgánicos que contienen halógenos (cloro, flúor, bromo o yodo) y son altamente volátiles, lo que significa que se evaporan fácilmente a temperatura ambiente. Estos compuestos se utilizan principalmente como disolventes en diversas aplicaciones industriales y comerciales. Algunos ejemplos comunes de disolventes halogenados volátiles son el tricloroetileno (TCE), el tetracloroetileno (PCE), el diclorometano (también conocido como cloruro de metileno), el clorofluorocarbono (CFC-113) y el bromuro de metilo. Estos disolventes se han utilizado ampliamente en la industria de la limpieza en seco, la fabricación de productos químicos, la extracción de aceite y grasa, y en procesos de limpieza y desengrase (EPA). Aunque los disolventes halogenados volátiles tienen propiedades disolventes eficaces, su uso ha disminuido en las últimas décadas debido a preocupaciones sobre su impacto ambiental y para la salud humana. Estos compuestos son considerados contaminantes orgánicos persistentes (COPs) debido a su resistencia a la degradación en el medio ambiente y su capacidad para acumularse en los organismos vivos. La evaporación de los disolventes halogenados volátiles puede liberar compuestos químicos al aire, lo que contribuye a la contaminación atmosférica. Algunos de estos compuestos, como los clorofluorocarbonos (CFCs), han sido identificados como destructores de la capa de ozono. Además, varios disolventes halogenados volátiles se consideran sustancias tóxicas y pueden tener efectos

adversos para la salud humana (Agency for Toxic Substances and Disease Registry ((ATSDR), 2019).

1.3.2. Límites máximos y método de análisis del Consejo Oleícola Internacional (COI)

Los límites máximos y mínimos de análisis establecidos por el COI para el tetracloroetileno en los aceites de oliva se determinan mediante el uso de la técnica de cromatografía gas-líquido. El límite establecido para este compuesto es de 0,02 mg/Kg COI, 1990).

El ámbito y el campo de aplicación de esta norma se refieren a un método específico para la determinación del contenido de tetracloroetileno en los aceites de oliva. Este método es aplicable a concentraciones que van desde 0,02 mg/Kg hasta 0,3 mg/Kg.

El principio en el que se basa este método consiste en incubar la muestra en un vial cerrado y analizar el espacio de cabeza mediante cromatografía de gases-líquidos utilizando un detector de captura de electrones. A través de la calibración con un patrón externo, se realiza una estimación cuantitativa del contenido de tetracloroetileno presente en la muestra. Como alternativa, también es posible realizar el análisis del aceite mediante la inyección directa en la columna cromatográfica.

1.3.3. Técnicas de tratamiento de muestra y análisis

Para el análisis de disolventes halogenados en aceite de oliva y aceitunas, se utilizan técnicas que se detallan a continuación, haciendo hincapié en sus respectivas ventajas y desventajas.

- Espacio de cabeza estático (HS)-GC

Técnica para analizar compuestos volátiles en una muestra sin el uso de un flujo de gas continuo. Los compuestos volátiles se equilibran entre la fase líquida o sólida y la fase gaseosa en el espacio de cabeza. Luego, se extrae una porción de la fase de cabeza y se analiza mediante cromatografía de gases o espectrometría de masas (Skoog, D. A., et al. 2013).

- Espacio de cabeza dinámico (DHS)-GC

Consiste en el flujo continuo de gas a través del espacio de cabeza de una muestra para analizar compuestos volátiles. Se introduce una corriente de gas inerte a través de la muestra, llevando los compuestos volátiles hacia la fase de cabeza. Luego, se extrae la fase de cabeza y se analiza mediante técnicas cromatográficas de gases o espectrométricas. Esta técnica permite una mayor eficiencia en la extracción y análisis de compuestos volátiles en comparación con la técnica estática, mejorando la sensibilidad y detección de los compuestos (Skoog, D. A., et al. 2013).

TABLA 7. VENTAJAS E INCOVENIENTES DE LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE DISOLVENTES HALOGENADOS EN ACEITE DE OLIVA

Técnicas de análisis	Ventajas	Desventajas
<p>Espacio de cabeza estático (HS)-GC</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Alta sensibilidad y selectividad · Alta rapidez 	<ul style="list-style-type: none"> · Limitada a compuestos volátiles · Alteraciones en la reproducibilidad
<p>Espacio de cabeza dinámico (DHS)-GC</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Alta sensibilidad, eficiencia de extracción y aplicabilidad. · Menor tiempo de equilibrio entre la velocidad de flujo y la temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> · Complejidad instrumental · Mayor riesgo de contaminación · Interferencias de matriz · Alto coste

Fuente: Elaboración Propia

2. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

Los principales objetivos de este estudio son el control y monitoreo de la presencia de plaguicidas y disolventes halogenados volátiles en el aceite de oliva y las aceitunas. Estos objetivos aportan una importancia crucial a la hora de garantizar la seguridad alimentaria y proteger a los consumidores de posibles riesgos para la salud.

Además del control exhaustivo de la presencia de dichos compuestos, también es un objetivo el estudio sobre métodos de detección altamente eficientes para identificar tanto los plaguicidas como los disolventes halogenados en las muestras mencionadas, incluyendo la comparativa con los límites máximos permitidos de éstos.

Al ser un trabajo bibliográfico se han usado bases de datos como Scopus, Elsevier, ScienceDirect, SciELO..., realizando una búsqueda entre los años 1900 hasta la actualidad.

3. RESULTADOS

3.1. Métodos de análisis para la determinación de pesticidas en aceituna y aceite de oliva

En la tabla 8 se muestran resumidamente los métodos que se llevaron a cabo para la determinación de pesticidas en aceituna, siendo estos desarrollados tras dicha tabla.

TABLA 8. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS EN ACEITUNA

Plaguicida	Extracción	Método de análisis	LD (µg/kg)	LQ (µg/kg)	RSD %	Concentraciones encontradas (µg/kg)	Referencia
Acefato	Extracción con acetonitrilo + sulfato de magnesio anhidro y cloruro de sodio (QuEChERS)	GC-MS/MS	---	---	---	0,01	López-Blanco, R. et al. 2018

Buprofezina	Microextracción sólido-líquido	GC-MS	---	---	99	10	Socas-Rodríguez, B. et al. 2022
Fentión	QuEChERS	LC-MS/MS	12	39	4,9	10	García-Vara, M. et al. 2023
Oxyfluorfen	QuEChERS	UPLC-MS/MS	100	200	---	1	Gómez-Almenar, M.C., et al. 2015
Propazina	SPE/QuEChERS	HPLC-DAD	20	50	71	---	Tuzimski, T. et al. 2016
Fluometuron	QuEChERS	LC-MS/MS	1,0	3,3	---	---	Gilbert-López, B. et al. 2010 b
Metomilo	QuEChERS	LC-MS/MS	10,0	33,0	---	---	
Paraquat	Agua + metanol con 1 % de HCOOH	UHPLC(HILIC)-TOFMS	---	45	5,8	20	Nortes-Méndez, R. et al. 2016

Fuente: Elaboración Propia

○ Acefato

Este estudio evaluó experimentalmente la transferencia de plaguicidas al aceite de oliva durante su producción y predijo los factores de procesado asociados. Se utilizó un sistema de laboratorio para producir aceite de oliva a partir de aceitunas enriquecidas con 104 plaguicidas, utilizando la técnica GC-MS/MS. Los factores de procesado obtenidos experimentalmente se correlacionaron con el coeficiente de reparto octanol-agua (log Kow) de cada plaguicida. Esto permitió calcular los límites máximos de residuos (LMR) equivalentes en aceite de oliva a partir de los LMR establecidos para las aceitunas, considerando el rendimiento en aceite y el log Kow de cada plaguicida. Los plaguicidas lipofílicos se transfirieron a la fase oleosa. Se ha establecido una dependencia lineal entre el log Kow y el FP (%). El modelo propuesto basado en log Kow mostró diferencias en el comportamiento de los plaguicidas que pueden ser consideradas en el cálculo de los LMR.

○ Buprofezina

En este estudio, se propuso el uso de disolventes ecológicos (NADES) a base de betaína para extraer y analizar plaguicidas en subproductos de cítricos y aceitunas. Se utilizó la GC-MS para el análisis de los plaguicidas, empleando

ocho tipos diferentes de NADES. Se establecieron condiciones óptimas de extracción y el método fue validado, obteniendo niveles adecuados de recuperación y límites de cuantificación para los plaguicidas evaluados. Se evaluó la ecología del procedimiento, demostrando su sostenibilidad. Al analizar muestras reales, se encontraron concentraciones superiores a los límites establecidos para algunos de los compuestos evaluados, excepto para el piriproxifeno.

- Propazina

En este estudio, se desarrolló un método sencillo de tratamiento de muestras utilizando la técnica de extracción en fase sólida/rápida (SPE/QuEChERS) para el análisis de plaguicidas multiresiduos en aceites comestibles. El método incluyó una partición líquido-líquido con acetonitrilo y una extracción en fase sólida dispersiva utilizando partículas de sílice recubiertas de zirconia para purificar el extracto. Se analizaron 21 plaguicidas utilizando cromatografía líquida de alta resolución con detección por red de diodos (HPLC-DAD). Se realizaron estudios de recuperación y se obtuvieron resultados satisfactorios, con recuperaciones entre el 50% y el 130% y desviaciones estándar relativas inferiores al 15%. El método validado se aplicó con éxito al análisis de muestras de aceite comestible del mercado. El método desarrollado demostró ser efectivo para identificar y cuantificar residuos de plaguicidas en muestras de alimentos. El uso de la técnica de extracción en fase sólida/rápida (SPE/QuEChERS) con el sorbente Z-Sep permitió obtener altos valores de recuperación para la mayoría de los plaguicidas, con valores que oscilan entre el 50% y el 130%. La cromatografía líquida de alta resolución con detección por red de diodos (HPLC-DAD) resultó ser una alternativa más económica en comparación con la LC-MS o la LC-MS/MS. Se demostró que el método HPLC-DAD después del tratamiento SPE/QuEChERS puede aplicarse con éxito para analizar residuos de plaguicidas en muestras de aceite comestible a niveles de ng/g.

- Fluometuron y Metomilo

Se evaluaron dos métodos de preparación de muestras para el análisis de pesticidas en aceitunas utilizando LC-MS/MS. Los métodos probados fueron el QuEChERS modificado y el MSPD. Se desarrolló un método LC-MS/MS que cubría 104 pesticidas. Se logró la separación de los compuestos utilizando una

columna C18 corta. Los límites de detección fueron inferiores a 10 µg/kg para el 89% de los analitos en ambos métodos de preparación de muestras. Se obtuvieron recuperaciones promedio del 70-120% con el método QuEChERS y del 50-70% con MSPD. Se aplicaron con éxito a muestras reales de aceitunas, encontrando niveles de pesticidas en el rango de µg/kg. También se discute el uso de funciones avanzadas de software para el desarrollo de métodos MRM que superan limitaciones asociadas a los métodos MS/MS. Se compararon dos métodos de extracción, QuEChERS y MSPD, para el análisis de pesticidas en aceitunas. Se encontró que el método QuEChERS era más apropiado para el análisis multiresiduo a gran escala en aceitunas. Los métodos se aplicaron con éxito a muestras reales de aceitunas, revelando la presencia de pesticidas en el rango de µg/kg. También se evaluó un nuevo software de desarrollo de métodos MRM que simplifica y acelera el proceso de creación y optimización de métodos LC-MS/MS.

- Fentión

Se desarrollaron y validaron dos métodos basados en QuEChERS para el análisis de pesticidas en aceitunas y semillas de girasol. Estos métodos mejoraron los límites de detección y cumplieron con las directrices de precisión y veracidad. Al aplicar estos métodos a muestras reales, se encontraron varios plaguicidas de interés medioambiental en niveles detectables. Los extractos finales de aceitunas, se acidificaron y se analizaron mediante LC-MS/MS. Los métodos optimizados fueron exitosos en términos de sensibilidad, precisión y veracidad. Se aplicaron a muestras reales, revelando la presencia de pesticidas relevantes, incluyendo algunos considerados peligrosos para el medio ambiente.

- Oxyfluorfen

El trabajo se base sobre el desarrollo de un nuevo método rápido y selectivo para la extracción y cuantificación de pesticidas en aceitunas utilizando UPLC-MS/MS. El método demostró buenas recuperaciones y límites de detección bajos. Se aplicó a muestras de aceitunas, encontrando la presencia de algunos pesticidas en niveles inferiores a 15 µg/k. El método fue optimizado y validado, obteniendo buenas recuperaciones y límites de detección. Es más rápido y sencillo que otros métodos y permite una mayor cantidad de muestra. Sin

embargo, no pudo detectar con precisión varios compuestos debido a sus niveles de detección más altos.

- Paraquat

Se desarrollaron dos métodos de HPLC-MS para detectar plaguicidas polares en aceite de oliva y aceitunas. Se utilizó cromatografía líquida de interacción hidrofílica (HILIC) con detección por espectrometría de masas. El proceso de extracción de muestras fue simple y se basó en la partición de líquidos con metanol. Los resultados fueron satisfactorios para el aceite de oliva, pero se obtuvieron tasas de recuperación pobres en aceitunas debido a su complejidad. Los métodos fueron útiles para detectar los plaguicidas en aceite de oliva y aceitunas, cumpliendo con los límites establecidos por la normativa de la UE. El método funcionó bien para el aceite de oliva, pero tuvo dificultades en la matriz de aceituna debido a su complejidad. Se lograron valores de recuperación y LOQ más bajos en comparación con el aceite de oliva, pero el uso de UHPLC(HILIC)-MS/MS permitió cumplir con los límites establecidos. Se requiere más investigación para minimizar los efectos de la matriz y las pérdidas de analitos problemáticos mediante pasos de limpieza adicionales.

Nos centramos ahora en el aceite de oliva. En la tabla 9 se muestran resumidamente los métodos que se llevaron a cabo para la determinación de pesticidas en aceituna, siendo estos comentados tras dicha tabla.

TABLA 9. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS EN ACEITE DE OLIVA

Plaguicida	Extracción	Técnica de análisis	LD (µg/kg)	LQ (µg/kg)	RSD %	Concentraciones encontradas ((µg/kg)	Referencia
Abamectina	QuEChERS	LC-MS/MS	0,3	0,9	7,1	10	Huang, J.X. et al. 2014

Acefato	QuEChERS	GC-MS/MS	1,3	1,9	10	---	Frenich, A.G. et al. 2007
Buprofezin	QuEChERS	GC-MS/MS	0,9	1,2	9	---	
Cipermetrina	QuEChERS	GC-MS/MS	0,9	1,6	7	---	
Dimetoato	SPE de doble capa de MIPs (DL-MISPE)	HPLC-MS	1,6	5,2	1,58	2	García, R. et al. 2016
Fentión	QuEChERS	GC-MS	0,11	0,45	2,7	---	Zahiri, E. et al. 2020
Malatión	QuEChERS	GC-MS/MS	---	7	4	---	Fuentes, E. et al. 2010
Metoxicloro	QuEChERS	Cromatografía de gases a baja presión con espectrometría de masas en tándem (LPGC-MS/MS)	---	---	---	101	J. Lehotay, S. et al. 2016
Oxyfluorfen	QuEChERS	GC-MS/MS	---	2	5	---	Aramendía, A.M. et al 2007
Pendimetalina	QuEChERS	Cromatografía de gases-ionización química negativa acoplada a espectrometría de masas (GC-NCI/MS)	0,05	13,3	75	20	Xia, G. et al. 2014

Diurón	QuEChERS	GC-MS/MS	0,2	0,6	6,14	---	Sánchez, A.G. et al. 2006
Acetamiprid	QuEChERS	LC-MS-Qtrap	0,1	0,3	---	---	Hernando, M.D. et al. 2007
Isoproturon	QuEChERS	LC-MS-Qtrap	0,3	1	---	---	
Propazina	QuEChERS	LC-MS-Qtrap	0,04	0,15	---	---	
Fluometuron	QuEChERS	LC-TOFMS	0,8	2,64	114, 25	---	Gilbert- López, B. et al. 2010 a
Aclonifen	QuEChERS	LC-TOFMS	5,20	17,16	44,5 2	---	

Fuente: Elaboración propia

○ Abamectina

Se desarrolló un método utilizando purificación a baja temperatura (LTP) y cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para detectar abamectina (ABA) e ivermectina (IVR) en aceites comestibles. La extracción líquido-líquido seguida de purificación a baja temperatura eliminó los componentes grasos no deseados sin necesidad de pasos de limpieza adicionales. El método fue eficiente, rentable y requirió cantidades reducidas de disolvente. Los límites de detección y cuantificación estuvieron por debajo de los límites establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius. Las recuperaciones del análisis en diferentes aceites oscilaron entre el 71,1% y el 119,3%, y el método se aplicó con éxito en muestras comerciales sin detectar ABA ni IVR. Este estudio marca la primera vez que se utiliza el LTP para determinar avermectinas en aceites comestibles. Se realizó una extracción líquido-líquido. Posteriormente, el residuo se reconstituyó en acetonitrilo y se filtró a través de un filtro antes del análisis LC-MS/MS. El método propuesto demostró ser selectivo, fácil de usar, con pocos pasos de manipulación y eficaz para reducir la

interferencia de sustancias grasas con bajo consumo de disolventes orgánicos y bajo coste de materiales. Por lo tanto, demostró ser apropiado para el análisis multiclase de muestras de aceite y una alternativa prometedora a aquellos protocolos de preparación de muestras que requieren gran cantidad de disolvente orgánico, como el SPE.

- Acefato, Buprofezina y Cypermetrina

Se desarrolló un nuevo método para detectar 100 residuos de plaguicidas en aceite de oliva. El análisis se realizó en 19 minutos utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem. Se evaluaron diferentes métodos de extracción y se determinó la estabilidad y sensibilidad del sistema cromatográfico. El método propuesto incluyó una extracción líquido-líquido seguida de una limpieza mediante cromatografía de permeación en gel. Se obtuvieron resultados lineales en el rango de concentración estudiado, con valores de recuperación entre el 70% y el 110% en dos niveles de concentración. La precisión del método fue menor al 18%, y los límites de detección, confirmación y cuantificación fueron bajos. Se aplicó el método a muestras reales de aceite de oliva del sur de España.

- Dimetoato

Se desarrolló un método de análisis multiresiduo para detectar trazas de residuos de plaguicidas en muestras de aceite de oliva, utilizando una técnica llamada SPE de doble capa de MIPs (DL-MISPE) que emplea capas de polímeros molecularmente impresos específicos. Se optimizó el procedimiento para obtener altas tasas de recuperación de los plaguicidas objetivo. El método DL-MISPE se aplicó con éxito en muestras de aceite de oliva orgánico, logrando una buena exactitud y precisión en la cuantificación de dimetoato y terbutilazina. Este estudio es el primer intento de utilizar la tecnología de impresión molecular en una metodología dual para el análisis de trazas de residuos de plaguicidas en aceite de oliva. El DL-MISPE es un método fiable, robusto y sensible que permite la concentración de los plaguicidas objetivo incluso a niveles cercanos a los límites máximos de residuos establecidos por la legislación. El método es simple y permite la extracción eficiente de los residuos con un consumo reducido de disolventes orgánicos.

- *Fenti3n*

Se utiliz3 un m3todo combinado de extracci3n en fase s3lida dispersiva y microextracci3n l3quida-l3quida dispersiva para extraer y concentrar residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de aceite comestible. Los residuos se cuantificaron mediante cromatograf3a de gases y nitr3geno fosforado. El m3todo implic3 la saponificaci3n de los l3pidos en la muestra, seguida de la adsorci3n de los analitos en un sorbente y su posterior desorci3n con acetona. Luego, se utiliz3 una mezcla de cloruro de colina y 3cido 3,3-dimetilbut3rico como disolvente eut3ctico profundo, y la soluci3n se dispers3 r3pidamente en agua desionizada. Despu3s de centrifugar y enfriar, se recogi3 el disolvente de extracci3n, se disolvi3 en acetonitrilo y se inyect3 en el sistema de separaci3n. El m3todo demostr3 l3mites de detecci3n y cuantificaci3n bajos, as3 como factores de enriquecimiento y recuperaciones aceptables. Se utiliz3 exitosamente en la determinaci3n de residuos en muestras de aceite comestible.

- *Malati3n*

Se analizaron 71 muestras de aceite de oliva producido en Chile, obtenidas de distintas variedades de aceitunas y cosechadas en diferentes periodos. Se detectaron y cuantificaron nueve plaguicidas utilizando m3todos de extracci3n l3quido-l3quido y en fase s3lida asistida por microondas, con detecci3n mediante GC-FPD y confirmaci3n mediante GC-MS/MS. Se encontraron cinco de los nueve plaguicidas en el 79% de las muestras, con una frecuencia de un plaguicida por muestra. Los residuos de clorpirif3s y diazin3n fueron los m3s frecuentes. Las concentraciones medias de los plaguicidas detectados fueron relativamente bajas y no representan un riesgo para los consumidores. Los niveles m3s altos de plaguicidas se encontraron en regiones con agricultura intensiva. En general, el aceite de oliva producido y exportado desde Chile no presenta actualmente riesgos para los consumidores en t3rminos de residuos de plaguicidas. El clorpirif3s es, con diferencia, el plaguicida m3s frecuentemente encontrado, seguido del diazin3n. Sin embargo, aproximadamente el 50% de las muestras analizadas con residuos de clorpirif3s o diazin3n superaron el LMR dado por la CE para las aceitunas de mesa.

- Metoxicloro

Este estudio aplicó una limpieza automatizada de alto rendimiento utilizando minicartuchos de extracción en fase sólida (mini-SPE) para el análisis rápido de pesticidas y contaminantes ambientales en extractos QuEChERS de alimentos. Se evaluaron diferentes sorbentes mini-SPE en matrices como aguacate, salmón, lomo de cerdo y col rizada. El método validado se utilizó para analizar 230 extractos enriquecidos de 10 alimentos diferentes. Se realizaron 325 análisis de plaguicidas y contaminantes ambientales utilizando LPGC-MS/MS en un tiempo de 10 minutos. Los límites de cuantificación fueron inferiores a 5 ng/g. Los resultados de validación mostraron un alto rendimiento y precisión en las matrices alimentarias analizadas. El método automatizado mini-SPE + LPGC-MS/MS demostró ser robusto y eficiente, con una mínima intervención humana en el procesamiento de datos.

- Oxyfluorfen

Se desarrolló un método utilizando GC-MS/MS para analizar los residuos de herbicidas en aceite de oliva. Se analizaron más de 3000 muestras de aceite de oliva virgen y ecológico utilizando este método. Las muestras se extrajeron con una mezcla de acetona y hexano y se limpiaron antes del análisis. El método mostró un rango de determinación lineal de 1 a 500 µg/kg, con buena reproducibilidad y recuperaciones aceptables. El método proporcionó recuperaciones aceptables para los herbicidas. La técnica GC-MS/MS ofreció una identificación y cuantificación fiables, con bajos límites de cuantificación (LOQ). Se encontró que las malas prácticas agrícolas eran la causa de la contaminación por herbicidas en los aceites de oliva.

- Pendimetalina

Se ha desarrollado un método modificado de preparación de muestras combinado con cromatografía de gases-ionización química negativa-espectrometría de masas (GC-NCI/MS) para la determinación de residuos de herbicidas dinitroanilina en varias matrices complejas. El método utiliza extracción con acetonitrilo saturado de hexano y limpieza con extracción en fase sólida dispersiva. Se emplearon estándares internos isotópicos para la cuantificación y se demostraron las ventajas de la ionización química negativa

en términos de sensibilidad y selectividad. Los límites de detección se encontraron en un rango bajo y las recuperaciones en las matrices fueron satisfactorias.

- Diurón

Se propuso un método para el análisis de múltiples residuos de plaguicidas en muestras de aceite de oliva. El método incluía extracción y limpieza de los plaguicidas, seguidos de análisis mediante GC-MS/MS. Se utilizaron dos métodos de ionización para mejorar la detección de los plaguicidas. El método demostró buenas recuperaciones y sensibilidad, con límites de cuantificación suficientemente bajos. Se aplicó el método a muestras reales de aceite de oliva, encontrando la presencia de varios plaguicidas en muestras de aceite de oliva virgen y solo sulfato de endosulfán en muestras de aceite de oliva refinado.

- Acetamiprid, isoproturon y propazina

Se desarrolló un método mejorado de LC-MS para el análisis de plaguicidas en aceite de oliva. El método incluyó la utilización de un analizador híbrido de iones y la aplicación de tiempos de adquisición rápidos, lo que permite una alta sensibilidad y especificidad. Se estableció un rango lineal de cuantificación y se evaluaron los efectos de la matriz. Se utilizaron criterios de identificación basados en la relación MRM y se desarrollaron técnicas adicionales para la confirmación de plaguicidas. El método demostró límites de detección bajos para la mayoría de los plaguicidas analizados.

- Fluometurón y Aclonifen

En este estudio, se evaluaron dos métodos sencillos de tratamiento de muestras para el análisis multirresiduo de plaguicidas en aceite de oliva. Ambas metodologías mostraron resultados prometedores en términos de recuperación, linealidad, precisión y exactitud. Los límites de detección obtenidos fueron bajos para la mayoría de los plaguicidas analizados. Además, se observaron efectos menores de la matriz en una parte significativa de los compuestos estudiados. Estos métodos son eficientes, económicos y generan menos residuos, lo que los hace adecuados para el análisis a gran escala de plaguicidas en muestras de aceite de oliva. El LC-TOFMS ha demostrado ser una herramienta prometedora para el análisis rápido de agroquímicos en muestras de vegetales grasos. Los

límites de detección alcanzados son adecuados para el análisis de residuos de plaguicidas en aceitunas y aceite de oliva virgen, cumpliendo con los límites establecidos por regulaciones internacionales. En cuanto al tratamiento de muestras, la metodología MSPD combinada con LC-TOFMS mostró efectos de matriz menores, pero el método QuEChERS proporcionó mejores recuperaciones. Aunque el rendimiento global favoreció ligeramente al método QuEChERS debido a su mayor eficiencia y menor impacto de la matriz, ambos métodos tienen potencial para explorarse en otras matrices de vegetales grasos.

3.2. Métodos de análisis para la determinación de disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva.

En la tabla 10 se muestran resumidamente los métodos que se llevaron a cabo para la determinación de pesticidas en aceituna, siendo estos desarrollados tras dicha tabla.

TABLA 10. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE DISOLVENTES HALOGENADOS VOLÁTILES EN ACEITE DE OLIVA

Disolvente Halogenado	Extracción	Método de análisis	LD (µg/kg)	LQ (µg/kg)	Referencia
Tetracloroetileno (PCE)	HS HS-SPME	GC-MS	5	18	Arrebola, F.J. et al. 2005
Tricloroetileno (TCE)	HS HS-SPME	GC-MS	5	17	
Dibromoclorometano	HS HS-SPME	GC-MS	7	25	
Cloruro de vinilo	HS HS-SPME	GC-MS	1	5	
Cloroformo	HS HS-SPME	GC-MS	2	6	
Etilendicloruro	HS HS-SPME	GC-MS	1	5	
Bromodiclorometano	HS HS-SPME	GC-MS	4	12	

Bromoformo	HS HS-SPME	GC-MS	6	20	
------------	---------------	-------	---	----	--

Fuente: Elaboración propia

Se desarrollaron y validaron dos métodos automatizados y simples para la detección de compuestos halogenados en aceites de oliva. Estos métodos utilizan dispositivos de HS y microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME) conectados en línea con un GC-MS. Los métodos demostraron ser rápidos, requiriendo un tiempo de incubación o extracción de la muestra de 20 minutos y menos de 7 minutos para la determinación cromatográfica. Esto es significativamente más rápido que los métodos oficiales de la Unión Europea. Se lograron precisiones y exactitudes adecuadas para las concentraciones objetivo de los compuestos en las muestras de aceite enriquecido. El método HS-GC-MS mostró límites de detección y cuantificación ligeramente mejores que el método HS-SPME-GC-MS, lo que resultó en una mejor capacidad de detección de concentraciones bajas. Los límites de detección obtenidos fueron inferiores a los obtenidos con los métodos oficiales y el método HS-GC-MS fue considerado como la mejor opción de extracción debido a su no necesidad de consumibles o reactivos. El método propuesto se aplicó con éxito a muestras reales de aceite de oliva y aceite de orujo de oliva, sin detectar compuestos halogenados por encima de los límites de detección del método, que están por debajo de los límites permitidos por la legislación europea.

3.3. Estudios prospectivos sobre contenido en pesticidas en aceites de oliva virgen.

El ejercicio de prospección que ha organizado EFSA en 2023 tiene como objetivo analizar muestras de aceite de oliva virgen extra (AOVE) procedentes de 10 países distintos de la Unión Europea y evaluar la exposición de los consumidores a los residuos de plaguicidas contenidos en estos AOVES. En total, se analizaron 934 muestras y se encontraron residuos de un total de 232 plaguicidas diferentes. Entre los plaguicidas encontrados, se puede destacar el clorpirifos, el dicofol, el endosulfan, el fenazaquín y el tebucanazol, entre otros. La concentración de los residuos encontrados en estos plaguicidas varió entre 0,0013 – 0,615 mg/Kg.

A continuación, se presenta la tabla 11, la cual resume algunos plaguicidas encontrados en las muestras de AOVE, junto con sus niveles de concentración (expresados en mg/Kg):

TABLA 11. PLAGUICIDAS ENCONTRADOS EN MUESTRAS DE AOVE

PLAGUICIDA	CONCENTRACIÓN (mg/Kg)
Clothianidin	0,00291
Difenoconazol	0,00885
Dimethoate	0,00042
Imazalil	0,0152
Omethoate	0,001
Propargite	0,0387
Triademenol	0,131

Fuente: Elaboración propia

En cuanto a los LMR establecidos, las concentraciones encontradas de difenoconazol, imazalil y propargite estuvieron por encima de los LMR en una o dos muestras. Además, se encontraron concentraciones de tridimenol que estuvieron cerca del LMR establecido, mientras que las concentraciones de clothianidin, dimethoate y omethoate estuvieron por debajo de los LMR.

Es importante destacar que los LMR para cada plaguicida en particular se establecen en función de su toxicidad y de otros factores, y que, según EFSA, la gran mayoría de las muestras de AOVE analizadas estaban por debajo de los LMR establecidos. Esto indica que, en general, estos AOVEs eran seguros para el consumo humano (EFSA, 2023).

4. CONCLUSIONES

- La mayoría de plaguicidas empleados en el olivar pertenecen al grupo de pesticidas y herbicidas.

El tratamiento de muestra más empleado como se puede observar es el método QuEChERS.

- Los métodos de análisis empleados para la determinación de plaguicidas y disolventes halogenados en aceituna y aceite de oliva son la cromatografía de gases y líquidos acopladas a masas, principalmente gases.
- La extracción de disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva se realiza mediante HS o HS-SPME.
- El método de análisis más empleado para la determinación de disolventes halogenados volátiles en aceite de oliva es la CG-MS.
- Tras haber realizado un estudio bibliográfico sobre los artículos presentes en el punto 3, se puede concluir con que la mayoría de plaguicidas y disolventes halogenados volátiles analizados, se encontraron en unos límites inferiores a los establecidos.

5. REFERENCIAS

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2019). Toxicological Profile for Trichloroethylene.

Anastassiades, M., Lehotay, S.J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Residues and Trace Elements*, Vol. 86.

Aparicio, R., Harwood, J. (eds.) (2017). *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. Springer.

Aramendía, M.A., Borau, V., Lafont, F., Marinas, A., Marinas, Moreno, J.M., Urbano, F.J. (2007). Determination of herbicide residues in olive oil by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, Vol. 105, 855–861.

Ardrey, R. (2003). *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction*.

Arrebola, F.J., González-Rodríguez, M.J., Garrido Frenich, A., Marín-Juan, A., Martínez Vidal, J.L. (2005). Determination of halogenated solvents content in olive oil by two completely automated headspace techniques coupled to gas

chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 552(1-2), pp. 60–66.

Boskou, D. (Ed.). (2006). *Olive oil: Chemistry and technology*. AOCS Press.

Boskou, D. (2011). *Olive Oil: Chemistry and Technology*. AOCS Press.

Chen, Y., Luo, H., Gao, A., Zhu, M. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seed by response surface methodology and their structural characteristics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Vol. 12, 305-309.

Comisión Europea. Reglamento (CE) 149/2008. (2008). Por el que se modifica el Reglamento (CE) 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo mediante el establecimiento de los anexos II, III y IV que estipulan límites máximos de residuos para los productos que figuran en el anexo I de dicho Reglamento. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L58, 1-398.

Comisión Europea. Reglamento (CE) 178/2002. (2022). Por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.

Comisión Europea. Reglamento (UE) 2015/595. (2015). Relativo a un programa plurianual coordinado de control de la Unión para 2016, 2017 y 2018 destinado a garantizar el respeto de los límites máximos de residuos de plaguicidas en y sobre los alimentos de origen vegetal y animal y a evaluar el grado de expo. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L99/7.

Comisión Europea. Reglamento (UE) 2016/662. (2016). Relativo a un programa plurianual coordinado de control de la Unión para 2017, 2018 y 2019 destinado a garantizar el respeto de los límites máximos de residuos de plaguicidas en y sobre los alimentos de origen vegetal y animal y a evaluar el grado de expo. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L115/2.

Comisión Europea. Reglamento (CE) 2023/915. (2023). Relativo a los límites máximos de determinados contaminantes en alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L119/104.

Comisión Europea. Reglamento (CE) 396/2005. (2005). Relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. Diario Oficial de la Unión Europea, L70, 1- 49.

Comisión Europea. Reglamento (UE) 400/2014. (2014). Relativo a un programa plurianual coordinado de control de la Unión para 2015, 2016 y 2017 destinado a garantizar el respeto de los límites máximos de residuos de plaguicidas en los alimentos de origen vegetal y animal y a evaluar el grado de exposición d. Diario Oficial de la Unión Europea, L119, 44-56.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 76/895/CEE. (1976). Relativa a la fijación de los contenidos máximos de residuos de plaguicidas en las frutas y hortalizas. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 11, 84-89.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 86/362/CEE. (1986). Relativa a la fijación de contenidos máximos para los residuos de plaguicidas sobre y en los cereales. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L221, 37- 42.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 86/363/CEE. (1986). Relativa a la fijación de contenidos máximos para los residuos de plaguicidas sobre y en productos alimenticios de origen animal. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L221, 43-47.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 89/107/CEE. (1989). Aproximación de las legislaciones de los estados miembros sobre aditivos alimentarios autorizados en los productos alimenticios destinados al consumo humano. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L40, 27-33.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 90/642/CEE. (1990). Relativa a la fijación de los contenidos máximos de residuos de plaguicidas en determinados productos de origen vegetal, incluidas las frutas y hortalizas. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L350, 71-79.

Consejo de las comunidades europeas. Directiva 91/414/CEE. (1991). Relativa a la comercialización de los productos fitosanitarios. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L230, 1-32.

Consejo Oleícola Internacional (COI). (1990). Determination of Tetrachloroethylene in Olive Oils by Gas- Liquid Chromatography.

Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., Sarker, S. (2012). Microwave-Assited Extraction in Natural Products Isolation. *Methods in Molecular Biology*, vol. 864.

European Food Safety Authority (EFSA). (2005). Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to Bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) for use in food contact materials. *EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA). (2012). Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food. *EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA). (2016). Risk for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. *EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA). (2018). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA). (2022). Presence of phthalates in food and assessment of dietary exposure. *EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA). (2023). Estudios prospectivos sobre contenido en pesticidas en aceites de oliva virgen. *EFSA Journal*.

Fenn, J.B, Mann, M., Meng, C., Wong, S., Whitehouse, C. (2012). Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules.

Frenich, A.G., Moreno, J.L.F., Vidal, J.L.M., Liebanas, F.J.A. (2007). Application of gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry for the multiresidue analysis of pesticides in olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, 8346-8352.

Fuentes, E., Báez, M.E., Díaz, J. (2010). Survey of organophosphorus pesticide residues in virgin olive oils produced in Chile. *Food Additives, Contaminants: Part B: Surveillance*, 101-107.

García-Vara, M., Postigo, C., Palma, P., López de Alda, M. (2023). Development of QuEChERS-based multiresidue analytical methods to determine pesticides in corn, grapes and alfalfa. *Food Chemistry*, Vol. 405.

Gilbert-López, B., García-Reyes, J.F., Fernández-Alba, A.R., Molina-Díaz, A. (2010) a. Evaluation of two sample treatment methodologies for large-scale pesticide residue analysis in olive oil by fast liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 3736–3747.

Gilbert-López, B., García-Reyes, J.F., Lozano, A., Fernández-Alba, A.R., Molina-Díaz, A. (2010) b. Large-scale pesticide testing in olives by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry using two sample preparation methods based on matrix solid-phase dispersion and QuEChERS. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1217, 6022–6035.

Gómez-Almenar, M.C., García-Mesa, J.A. (2015). Determination of pesticide residues in olives by liquid extraction surface analysis followed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Grasas y Aceites*, Vol. 66.

Hartman, T.G., Rosen, R.T. (1991). *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry: Techniques and Applications*. Trends in Food Science & Technology.

Harwood, J., & Aparicio, R. (Eds.). (2018). *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. Springer.

Heide, P. (2014). *Secondary Ion Mass Spectrometry. An Introduction to Principles and Practices*. Wiley.

Hernando, M.D., Ferrer, C., Ulaszewska, M., García-Reyes, J.F., Molina-Díaz, A., Fernández-Alba, A.R. (2007). Application of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a quadrupole/linear ion trap instrument for the analysis of pesticide residues in olive oil. *Anal. Bioanal.*, 1815-1831.

Huang, J.X., Lu, D.H., Wan, K., Wang, F.H. (2014). Low temperature purification method for the determination of abamectin and ivermectin in edible oils by liquid chromatography– tandem mass spectrometry. *Chinese Chemical Letters*, Vol. 25, 635-639.

Krieger, R. I., & Kireger, W. C. (2001). Handbook of pesticide toxicology (2nd Ed.). Cambridge (United States): American Press.

Lehotay, S.J., Han, L., Sapozhnikova, Y. (2016). Automated Mini-Column Solid-Phase Extraction Cleanup for High-Throughput Analysis of Chemical Contaminants in Foods by Low-Pressure Gas Chromatography—Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 1113–1130.

López-Blanco R., Moreno-González D, Nortes-Méndez R., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A., Gilbert-López, B. (2018). Experimental and theoretical determination of pesticide processing factors to model their behavior during virgin olive oil production. *Food Chemistry*, Vol. 239, 9-16.

Lough, W.J., Wainer, I.W. (1995). High Performance Liquid Chromatography. Fundamental principles and practice.

Lu, D., Lin, Y., Feng, C., Wang, D., Qiu, X., Jin, Y., Xiong, L., Jin, Y., Wang, G. (2014). Determination of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in fishery and aquaculture products using sequential solid phase extraction and large volume injection gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 945-946, 75-83.

March, R., Todd, J. (2005). Cuadrupole ion trap mass spectrometry. A series of monographs on analytical chemistry and its applications, Vol. 165.

McHugh, M., Krukoniš, V. (1994). Supercritical Fluid Extraction.

Merino, D. (2018). Contaminantes. Impacto en la comercialización del aceite de oliva. *Jornadas Aceite de Oliva*.

Nortes-Méndez, R., Robles-Molina, J., López-Blanco, R., Vass, A., Molina-Díaz, A., Garcia-Reyes, J.F. (2016). Determination of polar pesticides in olive oil and olives by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and high-resolution mass spectrometry. *Talanta*, Vol. 158, 222-228.

Nováková, L., Svoboda, P., Pavlík, J. (2017). Ultra-high performance liquid.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), (2017). Manual de la FAO sobre la presentación y evaluación de los datos sobre

residuos de plaguicidas para la estimación de los límites máximos de residuos en alimentos y piensos (3a Ed.). Roma (Italia).

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Comité de Agricultura (COAG). (2003). Elaboración de un marco para las buenas prácticas agrícolas. Roma (Italia).

Pawliszyn, J. (2012). Theory of Solid-Phase Microextraction. Handbook of Solid Phase Microextraction, Elsevier, 1^o ED, 13-59.

Raquel Garcia, R., Carreiro, E.P., Nunes, J., Gomes da Silva, M., Costa Freitas, A.M., Burke, A.J., Cabrita, M.J. (2016). Dual-layer solid-phase extraction based on molecular imprinting technology: Seeking a route to enhance selectivity for trace analysis of pesticide residues in olive oil. Electrophoresis, Vol. 00, 1–7.

Rodríguez-Acuña, R., Pérez-Camino, M.C., Cert, A., Moreda, W. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Spanish olive oils: Relationship between Benzo(a)pyrene and Total Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Content. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 56, 10428-10432.

Sánchez, A.G., Martos, N.R., Ballesteros, E. (2006). Multiresidue analysis of pesticides in olive oil by gel permeation chromatography followed by gas chromatography- tandem mass-spectrometric determination, Analytica Chimica, Vol. 558, 53-61.

Scheppers, S., Pawliszyn, J. (1999). Solid Phase Microextraction Theory, 1-26.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2009). Principles of Instrumental Analysis. Cengage Learning, 6^o ED.

Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A., Asension-Ramos, M., Hernández-Borges, J. (2015). Dispersive Solid-Phase Extraction. Analytical Separation Science, Vol. 5, 1525-1551.

Socas-Rodríguez, B., Mendiola, J.A., Rodríguez-Delgado, M.A., Ibáñez, E., Cifuentes, A. (2022). Safety assessment of citrus and olive by-products using a sustainable methodology based on natural deep eutectic solvents. Journal of Chromatography A, Vol. 1669.

Tuzimski, T., Rejczak, T. (2016). Application of HPLC–DAD after SPE/QuEChERS with ZrO₂-based sorbent in d-SPE clean-up step for pesticide analysis in edible oils. *Food Chemistry*, Vol. 190, 71–79.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Volatile Organic Compounds (VOCs) in Your Home.

Watson, J.T., Sparkman, O.D. (2007). *Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation*. Wiley, 4^o ED.

Wilkowska, A., Biziuk, M. (2011). Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, Vol. 125, 803-812.

Xia, G., Shen, W., Wu, B., Lu, H., Zhang, R., Shen, C., Yu, K., Zhao, Z., Liu, H., Liu, S., Bian, X., Xu, J. (2014). Analysis of 7 Dinitroaniline Residues in Complex Food Matrices by GC–NCI/MS. *Chromatographia*, 493–499.

Xu, S., Wang, J., Deng, D., Wang, X., Zhang, Z. (2022). An efficient, eco-friendly combined technique of matrix solid-phase dispersion (MSPD)-dispersive liquid–liquid micro-extraction (DLLME) coupled with gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) for determining polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in vegetables. *Research Square*.

Zahiria, E., Khandaghia, J., Farajzadeh, M.A., Mogaddam, M.R.A. (2020). Combination of dispersive solid phase extraction with solidification organic drop–dispersive liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent for extraction of organophosphorous pesticides from edible oil samples. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1627.