



FACULTAD DE CIENCIAS EN LA SALUD
Carrera profesional de Farmacia y Bioquímica

**“DETERMINACIÓN DE ABAMECTINA Y EMAMECTINA (PLAGUICIDA) POR
HPLC MS-MS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE UVA ORGÁNICA
IQUENA PERÚ 2021”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

Moreno Muñoz, Gaby Yuliana

Pérez Montañez, Jaime Espíritu

ASESOR:

Mg. Q.F Pineda Pérez, Neuman Mario

Lima – Perú

2021

**“DETERMINACIÓN DE ABAMECTINA Y EMAMECTINA (PLAGUICIDA) POR
HPLC MS-MS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE UVA ORGÁNICA
IQUENA PERÚ 2021”**

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestra familia, por estar presente en los buenos y malos momentos y darnos sus apoyos incondicionales.

De misma forma a nuestro Dios por darnos salud y fortaleza en medio de toda esta pandemia para lograr nuestro objetivo.

Moreno Muñoz, Gaby Yuliana

Pérez Montañez, Jaime Espíritu

AGRADECIMIENTO

A nuestros docentes de todos los cursos, a la Universidad Interamericana para el Desarrollo nuestra alma mater por brindarnos todo el apoyo para poder lograr nuestro objetivo darnos la oportunidad de formarnos como profesional Químico Farmacéutico en sus instalaciones y con los docentes altamente calificados.

De misma forma a nuestro Asesor Dr. Mg Pineda Pérez, Neuman Mario, por guiarnos y brindarnos su apoyo en nuestro trabajo de tesis. Por compartir con nosotros todo su conocimiento aún más por la paciencia y el tiempo brindado.

Moreno Muñoz, Gaby Yuliana

Pérez Montañez, Jaime Espiritu

INDICE

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO	IV
INDICE DE FIGURAS	4
INDICE DE TABLAS.....	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN.....	9
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	11
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	12
1.2.1 PROBLEMA GENERAL	12
1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS.....	12
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	13
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	13
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	13
CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	14
2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
2.1.1 ANTECEDENTES NACIONALES	14
2.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES	15
2.2 BASES TEÓRICAS.....	16
2.2.1 Marco conceptual	16
2.2.1.1 Insecticida en las plantas	16
2.2.1.8 Abamectina	20
2.2.1.8.1 Definición:.....	20
2.2.1.8.2 Modo de acción.....	20
2.2.1.9 Enamectina	21
2.2.1.9.1 Definición.....	21

2.3	Cromatografía Líquida	21
2.3.1.1	Definición.....	21
2.3.1.2.	Espectrometría de Masas con un analizador de triple cuádruplo	22
2.3.1.3.	Pico Cromatográfico.....	23
2.3.1.4.	Tiempo de retención.....	23
2.3.1.5.	Curvas de Calibrado.....	24
2.4	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	24
2.4.1	HIPÓTESIS GENERAL.....	24
2.4.2	HIPÓTESIS ESPECIFICA.....	25
2.5	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES	25
CAPITULO III: METODOLOGIA		25
3.1	TIPO NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	25
3.2	DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO Y DISEÑO	25
3.3	POBLACIÓN Y MUESTRA	26
3.4	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	28
3.5	TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	35
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS		38
4.1.	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	38
4.2.	PRUEBA DE HIPÓTESIS	41
4.3	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		55
5.1.	CONCLUSIONES.....	55
5.2.	RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		56
ANEXOS.....		58
ANEXOS 1.....		58
ANEXO 2.....		61
ANEXO 3.....		63
ANEXO 4.....		66

ANEXO 5.....	67
ANEXO 6.....	68
ANEXO 7.....	70

INDICE DE FIGURAS

- ❖ **Figura 1: Movimiento del insecticida en la planta.**
- ❖ **Figura 2:** Aspersión del Plaguicida
- ❖ **Figura 3:** Estructura Química de la Abamectina
- ❖ **Figura 4:** Estructura Química de la Emamectina
- ❖ **Figura 5:** Horno de la columna del HPLC –Fase estacionaria
- ❖ **Figura 6:** Bomba del HPLC y muestreador (Izquierda) y HPLC MS-MS (Derecha)
- ❖ **Figura 7:** JetStream e iFunnel (izquierda) y Fuente de Iones (derecha)
- ❖ **Figura 8:** Pico Cromatográfico
- ❖ **Figura 9:** Tiempo de retención.
- ❖ **Figura 10:** Curvas de Calibrado - Linealidad.
- ❖ **Figura 11:** Socci lunahuana cañete km 27
- ❖ **Figura 12:** Cromatograma de Abamectina
- ❖ **Figura 13:** Cromatograma de Emamectina
- ❖ **Figura 14:** Curva de calibrado Abamectina
- ❖ **Figura 15:** Data Acquisition
- ❖ **Figura 16:** Formula de cuantificación de curva de calibrado
- ❖ **Figura 17:** Curva de calibrado de Abamectina
- ❖ **Figura 18:** Curva de calibrado de Emamectina
- ❖ **Figura 19:** Resultados del análisis de Emamectina y Abamectina
- ❖ **Figura 20:** Cuadro de Resultados
- ❖ **Figura 21:** Valores de Abamectina del MINSA/2016/DIGESA NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS LIMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS (LMR)
- ❖ **Figura 22:** - Diagrama de cajas para el sector A (M1 a M5) para Emamectina
- ❖ **Figura 23:** Diagrama de cajas (M1 a M30) para Emamectina
- ❖ **Figura 24:** Diagrama de Distribución Normal (M1 a M30) para Emamectina
- ❖ **Figura N°25-** Histograma de (M1 a M30) para Emamectina
- ❖ **Figura N°26:** Diagrama de cajas para el sector A (M1 a M5) para Abamectina
- ❖ **Figura N°27:** Diagrama de cajas de los 5 cuadrantes para Abamectina
- ❖ **Figura N°28:** Diagrama de Normalidad de los cuadrantes para Abamectina
- ❖ **Figura N°29:** Diagrama de Probabilidad de los cuadrantes para Abamectina
- ❖ **Figura N°30:** Histograma de (M1 a M30) para Abamectina
- ❖ **Figura N°31:** Diagrama de cajas para Abamectina y Emamectina
- ❖ **Figura N°32:** Normalidad de Abamectina y Emamectina

- ❖ **Figura N°33:** Histograma de Abamectina y Emamectina
- ❖ **Figura N°34:**
- ❖ **Figura N°35:** Preparación de la Muestra

INDICE DE TABLAS

- ❖ **Tabla 1:** Toxicidad del pesticida
- ❖ **Tabla 2:** LMR por Matrices de Pesticidas Abamectina y Emamectina.
- ❖ **Tabla 3:** Matriz de consistencia
- ❖ **Tabla 4:** Composición de mezcla de la sal de limpieza
- ❖ **Tabla 5:** Volúmenes utilizados en la extracción de la muestra.
- ❖ **Tabla 6:** Curva de preparación de matriz
- ❖ **Tabla 7:** Condiciones del HPLC
- ❖ **Tabla 8:** Resultados de Abamectina y Emamectina
- ❖ **Tabla 9:** Resumen de resultados
- ❖ **Tabla N°10:** Valores positivos de Abamectina
- ❖ **Tabla N°11:** Valores positivos de Emamectina
- ❖ **Tabla N°12:** Trazas de Abamectina
- ❖ **Tabla N° 13:** Trazas de Abamectina y Emamectina
- ❖ **Tabla N° 14:** Matriz de consistencia
- ❖ **Tabla N° 15:** Cuadro comparativo de variables
- ❖ **Tabla N°16:** Ítems de Reporte del Mass Hunter
- ❖ **Tabla N° 17:** Instrumento de recolección de datos de cosecha

RESUMEN

La presente tesis abarca el estudio de la determinación de residuos de pesticidas como la Abamectina y Emamectina en uvas orgánicas, para ello se detalla el método utilizado para la extracción como es la técnica QUECHERS según la normativa SANTE y comparando los resultados con las normas de LMR, para cuantificar la presencia o ausencia de estos.

Las extracciones pasaron por una limpieza con sales para eliminar las interferencias propias de la matriz y tener una señal más limpia, sabemos que, al ser una técnica fina, se debe realizar dilución de la muestra para luego ser inyectadas en el HPLC con detector MS-MS, que es el método que por monitoreo en modo MRM puede eliminar cualquier interferencia al momento de la ionización.

Se muestreo 30 kilos de uvas blancas que fueron recolectadas de los viñedos de ICA, estas se extrajeron con metanol y las sales de QUECHERS para su limpieza final quedando un extracto para lectura del equipo HPLC MS-MS.

Al final de la inyección se encontró que existía algunas muestras tenían presencia de Emamectina y Abamectina mayor a 0.01 mg/kg que es mayor que la normativa europea para exportación de la unión europea y mayor a la Normativa.

Se concluye que los resultados obtenidos separados en cuadrantes y en conjunto estadísticamente concluye que existe trazas o presencia de estos plaguicidas, que podrían afectar a la salud pública y como producto engañoso al consumidor.

ABSTRACT

This thesis covers the study of the determination of pesticide residues such as Abamectin and Emamectin in organic grapes, for this the method used for extraction is detailed, such as the QUECHERS technique according to SANTE regulations and comparing the results with the LMR standards., to quantify the presence or absence of these.

The extractions went through a cleaning with salts to eliminate the interferences inherent to the matrix and have a cleaner signal, we know that, as it is a fine technique, the sample must be diluted and then injected into the HPLC with an MS-detector. MS, which is the method that by monitoring in MRM mode can eliminate any interference at the time of ionization.

30 kilos of white grapes were sampled that were collected from the ICA vineyards, these were extracted with methanol and the salts of QUECHERS for their final cleaning, leaving an extract for reading the HPLC MS-MS equipment.

At the end of the injection, it was found that there were some samples that had the presence of Emamectin and Abamectin greater than 0.01 mg / kg, which is greater than the European regulations for export from the European Union and greater than the Regulations.

It is concluded that the results obtained separated into quadrants and together statistically conclude that there are traces or presence of these pesticides, which could affect public health and as a misleading product to the consumer.

INTRODUCCIÓN

EL uso de productos orgánicos certificados es cada vez mayor por los países del primer mundo por lo tanto es necesario cultivar productos libres de estos pesticidas y así cuidar el medio ambiente como: los suelos, agua y aire. La determinación de residuos de plaguicidas como insecticidas, acaricidas y nematocidas que son aplicados en los alimentos pueden ser determinados cuantitativa y cualitativamente por técnicas analíticas como la cromatografía líquida que puede determinar trazas de estos y así determinar la presencia y cuantificación de los residuos de plaguicidas (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

Estos alimentos al contener plaguicidas o fertilizantes artificiales puedan ser tóxicos al ser ingeridos por el público y si no se tiene un control adecuado estos podrían ocasionar la muerte o daños severos en el metabolismo.

El valle de ICA está produciendo frutas y vegetales como los arándanos, uvas, fresas y paltas de manera orgánica, que está siendo exportada a países extranjeros por una continua demanda de alimentos orgánicos y con poca cantidad de insecticidas que puedan afectar a la salud pública; para ello se planteó elaborar esta tesis para poder determinar la presencia de Emamectina y Abamectina en uvas orgánicas desde la forma de extracción del plaguicida hasta su análisis final con la técnica HPLC Agilent 1290 Infinity II (Cromatografía líquida de alta performance) con detector MS- MS (Red Agrícola).

Este método cromatográfico al ser más sensible puede llegar a niveles de límites de cuantificación más bajos, que son ideales para poder usar como referencia para la exportación de alimentos.

En el capítulo N1 mencionamos el planteamiento del problema de la investigación, indicamos la realidad problemática al uso de los plaguicidas de Emamectina y Abamectina en uvas orgánicas, desarrollamos los problemas y los objetivos que quiere alcanzar esta investigación

En el capítulo N2 tocamos los fundamentos teóricos, mencionamos los antecedentes nacionales e internacionales que sirvieron de base para realizar esta investigación, mencionamos las bases teóricas, proponemos las hipótesis a desarrolladas y fundamentamos la investigación con la Operacionalización de variables.

En el capítulo N3 se indica la metodología usada en la investigación, se menciona el tipo, diseño de investigación, la población y la muestra involucrada en el estudio, los instrumentos de recopilación de datos, y la técnica de procesamiento de la información

Finalmente se describe la bibliografía citada en el desarrollo de la investigación y se evidencian los anexos utilizados en el proyecto.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Los plaguicidas son definidos como aquellas sustancias creadas por el hombre para poder controlar y prevenir las plagas que afectan la agricultura (Según OMS-2018).

En el mundo, y en muchos países industrializados y no industrializados, el uso de los plaguicidas está causando problemas de salud, cada año mueren personas o estas son hospitalizadas de emergencia por motivos de los plaguicidas terminando son secuelas y trastornos importantes. Cada año cientos de agricultores y público consumidor sufre de intoxicaciones de grado leve o crónico, de muchos países escuchamos que mueren niños por accidente por ignorancia por mal uso de estos productos. Los países industrializados usan 25% de estos plaguicidas en sus cosechas, pero el reporte de intoxicaciones es alto alcanzando un 99% de casos de contaminación (Según OMS)

En América, el comercio de plaguicidas ha alcanzado cifras alarmantes, muchos países hacen esfuerzos por erradicar uso de estos compuestos químicos., Estados Unidos limita el uso de plaguicidas a determinados estados para evitar la contaminación de sus principales cultivos de exportación, Brasil es un país que hace uso de los plaguicidas, pero en la actualidad está desarrollando una política para minimizar su uso. Otros países como México, Colombia, Argentina, Chile y Paraguay han diseñado estrategias para evitar el uso y contaminación de estas sustancias en sus territorios (M Asela · 2014)

En el Perú, se empezó a cultivar productos orgánicos entre ellos las uvas orgánicas en el valle de Ica para poder eliminar el uso de plaguicidas, y buscar otras maneras de poder eliminar los insectos, plagas y gusanos que arruinen las cosechas. Estos productos están libres de pesticidas y fertilizantes sintéticos estos son llamados verdes, debido a que usan recursos renovables y conservan el agua y suelo, sin embargo, aún hay algunos agricultores que hacen uso de manera ilegal de plaguicidas controlados pudiendo contaminar los cultivos orgánicos (GJ Devine · 2008)

Más del 90% de uvas contenía residuos de 5 pesticidas y los duraznos más del 100%, debido a esto se empezó a consumir productos orgánicos, según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura), cerca de 30 millones de hectáreas a nivel mundial se utilizan para cultivar productos orgánicos (Según Environmental working Group-2018)

Los productos orgánicos certificados son aquellos determinados por normas que proporciona un organismo especializado que indica el cumplimiento con las especificaciones durante el etiquetado y producción y son etiquetados. Entre las normas existen: internacionales, obligatorias nacionales, locales voluntarios y con acreditación. Los productos orgánicos poseen las características diferentes como color, aroma y sabor de una calidad superior, contiene una mayor cantidad de antioxidantes, vitaminas y minerales y a comparación de los productos convencionales (Según FAO).

Las producciones orgánicas poseen beneficios para la salud y evitan la exposición del cuerpo a sustancias tóxicas y ayuda a favorecer la biodiversidad.

El desarrollo de nuevas metodologías analíticas con un tratamiento mínimo de la muestra sirve para determinar cualitativa y cuantitativa la presencia de plaguicidas en uvas orgánicas, como las trazas de Abamectina y Emamectina por HPLC MS-MS, que por su gran sensibilidad es capaz de determinar trazas en muestras complejas como extractos de frutas y vegetales (JL Espinosa Ruiz · 2018).

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 PROBLEMA GENERAL

¿Qué concentración de Abamectina y Emamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas del valle iqueña 2021?

1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS

¿Qué concentración de Abamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas iqueñas -Perú?

¿Qué concentración de Emamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas iqueñas-Perú?

¿Los valores encontrados de Abamectina y Emamectina estarán dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de Abamectina y Emamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS que presentan las uvas orgánicas Iqueñas Perú 2021.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Reportar la concentración de Abamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS que presentan las uvas orgánicas en el valle Iqueña-Perú

Reportar la concentración de Emamectina por cromatografía líquida con detector MS-MS presenta las uvas orgánicas en el valle Iqueña-Perú

Conocer si los valores encontrados están dentro de los Límite máximo permisible de acuerdo con la norma técnica sanitaria 128 Minsa, resolución.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se justifica ya que cada vez más los agricultores artesanales vienen utilizando el plaguicida Emamectina y Abamectina, sin considerar que estos pueden afectar a las plantaciones de los agricultores orgánicos. La uva es un recurso alimenticio muy apreciado por los países del primer mundo sin embargo existen consideraciones para su comercialización y esta es la ausencia total de cualquier plaguicida por lo que la presencia de estos no solo perjudica a la plantación si o también a las posibilidades de negocio de esos agricultores.

Además, esta investigación es importante porque el producto contaminado con los insecticidas Emamectina y Abamectina puede ser comercializado en el país sin tener ninguna sospecha de la presencia de estos contaminantes pudiendo afectar a corto plazo la salud de los consumidores es por ello la importancia de realizar esta investigación.

CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 ANTECEDENTES NACIONALES

Moreno J. et. al (2018) desarrollo una investigación con el propósito de evaluar el uso del acaricida químico entre los cuales están: Spirodiclofen, Cyhexatin, Abamectina y Fenazaquin usado para el Control de la plaga “arañita roja” en las fresas en Carquín Bajo. Se emplearon 720 pantas de las cuales 80 fueron infectadas con *Tetranychus urticae* “arañita roja” y se sometieron a diferentes concentraciones de los insecticidas. El estudio tuvo una duración de once días. Los resultados demostraron que para el caso de Cyhexatin la aplicación de 110 mL/200 L. tuvo un porcentaje de 87.28 %; a los 8 días posteriores demostró una mayor eficiencia de 83.89 % y finalmente a los 11 días un control de 77.38 %.

Para el caso del Spirodiclofen la dosis de 100 mL/200 L mostro una eficacia al día 3 de 82.38 %; a los días 8 después un valor de 80.19 % y a los 11 días disminuyo a 76.31 %. En la Abamectina la dosis de 250 mL/200 L. a los 3 días de aplicación fue de 73.76 %; a los 8 días bajo la eficacia a 67.03 % y a los 11 días después de aplicación fue de 63.95 %. El último fue Fenazaquin a dosis de 200 mL/200 L. se obtuvo al tercer día de 62.51 %, a los 8 días después de aplicación con 59.15 % de control y a los 11 días tuvo un control de 52.64 %.

Se concluyó que el Cyhexatin (Acarstin SC) fue la que obtuvo mejor control sobre arañita roja en fresa.

Laiqui J. et. al (2013) la investigación trata sobre la evaluación de la dosis recomendada de *emamectin benzoato* para mitigar al gusano para tomates en el cultivo de tomate hibrido, el lugar que se realizo fue en el C.E.A. III “Fundo los Pichones, para ello se preparó varias dosis a diferentes concentraciones en 4 repeticiones como 100 g/ha, 150 g/ha, 200 g/ha, 250 g/ha, y 300 g/ha. Los resultados demostraron que los tratamientos de 150, 200 y 250 g/ha usadas presentaron buen control sobre el gusano ejército del tomate. Se concluyó que (150 g/ha) es el tratamiento que mejor comportamiento obtuvo.

2.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Fernández A. et. al (2018) realizó una recopilación de datos sobre los insecticidas más usados en las frutas de uso comercial. Determino que la metodología usada y a la vez más específica para la determinación de plaguicidas es la cromatografía de gases acoplada a la espectrofotometría de masa por ser más selectiva y sensible en la detección. Los resultados obtenidos de la investigación determinaron que la técnica se repite en un 65% de investigaciones, los insecticidas más encontrados son los órganos fosforados con 70%, las cantidades reportadas son en ppm. Se concluye que tanto la técnica como los resultados son óptimos para este estudio.

Espinoza J. et. al (2018) informó que el análisis de las muestras para determinación de pesticidas fue por LC y GC acopladas a MS ya que son técnicas instrumentales modernas para determinar trazas y los estudios pueden demostrar alcanzar una mayor selectividad y sensibilidad en todo el proceso analítico, imprescindibles para mejorar la calidad alimentaria y lograr identificar la calidad de productos aptos para la salud pública.

Chichón L. et. al (2019) informo sobre la actividad de ciertos insecticidas que pueden ser empleados en frutos de cerezo para erradicar la propagación de insectos dañinos del cultivo con la finalidad de proteger la producción de este recurso. Este estudio utilizo 6 insecticidas entre ellos tenemos (abamectina, benzoato de Emamectina, metomilo, spinetoram, lamdacihalotrina, espirotetramato) se realizó 4 repeticiones y para ellos se utilizó un pulverizador de manguera, la pulverización se realizó 35 días antes de la cosecha. El muestreo se hizo al azar de los frutos para determinar la presencia de insecticidas, esto fue molido y con una alícuota se realizó la detección de los insecticidas por cromatografía ms-ms, A los 45 días luego de la exposición, 4 de los 6 insecticidas no fueron detectables, Solo el espirotetramate registra valores menores a 0,01 ppm y la lambdacihalotrina a 0,03 ppm. En el caso del metomilo a los 30 días de aplicado, el residuo resultó no detectable. El trabajo llevo a determinar que los insecticidas evaluados pueden degradarse en el tiempo por lo que pueden ser utilizados en las plantaciones de cereza.

Riega C. et. al (2021) La investigación se enfoca en la necesidad de determinar un tratamiento efectivo para el cuidado del ganado bovino del cantón Caluma en la Provincia del Bolívar debido a la inconformidad de los ganaderos. El objetivo es identificar el sinergismo o antagonismo del uso de la Abamectina e ivermectina en diferentes concentraciones y su uso por separado, en el control del parásito de la Dermatobia hominis.

Se evaluó el tratamiento de la Abamectina el cual con el tratamiento de media dosis 0.25 aplicado al grupo 4, no ejerce ningún resultado sobre la mortalidad de las larvas, al contrario, después de 30 días se presentó un crecimiento.

La Abamectina administrada al 0.50 en el grupo 7, ejerce una efectividad del 85% de tasa de mortalidad de las larvas. Sobre la evaluación de los tratamientos de ivermectina al 1% presenta una disminución de 227 larvas al final del estudio y tiene una eficacia de mortalidad del 84.38%, lo que es un resultado favorable sobre el grupo. Con respecto a la dosis al 4%, y su eficacia es del 89.88% presentando una disminución de 160 larvas al final del estudio. Con respecto a la ivermectina al 1% más Abamectina al 0.50 y el grupo 9 que recibió ivermectina al 4% más Abamectina al 0.50 tiene una tasa de mortalidad de los parásitos del 100%, por lo tanto, el nivel de eficacia obtenido permite concluir que las dosis combinadas son las recomendables.

Esquivel et. al (2019) se evaluó la eficacia de la Abamectina y el Dipel (*Bacillus thuringiensis*) como control biológico. Los trabajos se realizaron en las zonas de Campoalegre, Palermo y el juncal donde se cultivan mucho arroz. Donde Los cultivos de arroz declinaron entre 30 y 40 por ciento, el factor principal de la caída se debe a problemas fitosanitarios en específico por tratamiento de las espigas de arroz. como resultado brindaron una buena información en específico a los agricultores para prevenir sus cultivos de arroz y aumentar su producción de buena calidad.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Marco conceptual

2.2.1.1 Insecticida en las plantas

Comportamiento del insecticida en la planta:

La clasificación del comportamiento del plaguicida y se divide en 3 partes: contacto, sistémico y translaminar (Inta - instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria).

A) Por contacto:

El pesticida no penetra en el tejido de la planta, y queda depositado en la superficie de sus órganos.

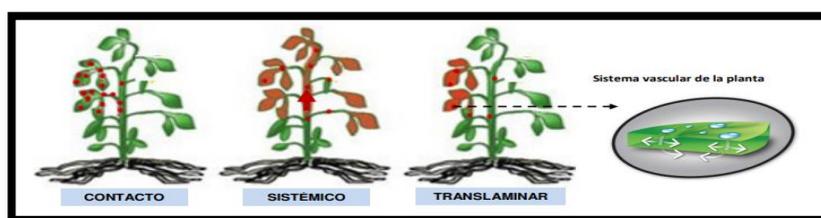
B) Sistémico:

El insecticida penetra las hojas y son trasladados al resto de la planta, por medio del sistema vascular en flujo de transpiración.

C) Translaminares o de profundidad:

Los insecticidas son depositados en la superficie de la hoja, estos penetran hasta el envés, por los espacios intercelulares y no ingresan a los vasos de conducción, es ahí donde se forma un reservorio del principio activo (lo que produce un efecto de persistencia). Así se genera cierta acción persistente contra algunos insectos que se alimentan de hojas (insectos folívoros).

Figura 1: Movimiento del insecticida en la planta.



Fuente: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-_insecticidas_utilizados_en_soja-_caractersticas.pdf

2.2.1.2 Plaguicida

2.2.1.3 Definición de plaguicida

Es aquel producto químico elaborados por el hombre, con el fin de combatir, repeler, mitigar o matar algún acaro, insecto o plagas estos llegan a afectar a las plantas y animales en su crecimiento o vida; estos productos pueden ser naturales o sintéticos.

Los plaguicidas son sustancia o mezclas destinadas para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, entre ellas están las especies no deseadas que afectan a las plantas o animales y llegan a causar un daño o que interfieren la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera o alimentos para animales (OMS art 2, y FAO 1990).

Figura 2: Aspersión del Plaguicida



Fuente: <https://www.mypress.mx/tecnologia/plaguicidas-ayudan-salvar-cosechas-3769>

2.2.1.4 Clasificación de plaguicidas

La clasificación se caracteriza según el grado de toxicidad (Según FAO. Guidelines on Good Labeling Practice for Pesticides, Roma 2000).

- a. **Según el tipo de organismo a controlar:** entre los agroquímicos más utilizados están: Herbicidas, insecticida, antihelmíntico, fungicidas, insecticidas, acaricidas y nematicidas entre otros.
- b. **Grupo químico del principio activo:** están los organoclorados organofosforados, carbamatos y triazinas.
- c. **Según la toxicidad del producto**

El peligro es el efecto que produce en la salud cuando está expuesto a un tiempo corto. Esta clasificación se usó para ratas albinas mg sustancia por peso.

Según la OMS, se puede clasificar los peligros en 5 categorías:

Tabla N° 1: Toxicidad del pesticida

CLASE	ORAL		DERMICA	
	SOLIDOS	LIQUIDOS	SOLIDOS	LIQUIDOS
Ia: Extremadamente peligroso	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib: Altamente peligroso	5-50	20-200	10 a 100	40-400
II: Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100 a 1000	400-4000
III: Ligeramente peligroso	500-2000	2000-3000	Más de 1000	Más de 4000

IV: Productos que normalmente no ofrecen peligros	Más de 2000	Más de 3000		
---	-------------	-------------	--	--

Fuente: Segun FAO. Guidelines on Good Labeling Practice for Pesticides, Roma 2000

2.2.1.5 Límites Máximos Permisibles (LMR)

Según el organismo Senasa tenemos los siguientes conceptos como LMR, ppm y residuo de plaguicida.

LMR es como la concentración máxima de un residuo de plaguicidas (expresado en mg/kg o ppm), de los alimentos destinados al consumo humano. Los límites máximos permisibles (LMR) por matriz son como la siguiente tabla (SENASA-2014).

Tabla N° 2: LMR por Matrices de Pesticidas Abamectina y Emamectina.

Plaguicida	Matriz	LMR
Emamectina	Alcachofa	0.1
	Uva	0.01
	Maíz	0.01
	Palta	0.01
Abamectina	Alcachofa	0.01
	Uva	0.01
	Arándano	0.01
	Sandía	0.01

Fuente: Regulación de la Unión Europea.

2.2.1.6 Parte por millón (PPM):

Es un valor de concentración que es equivalente a 1 mg/kg (dilución de sólido en líquido) (Codex Alimentarios para los LMR).

2.2.1.7 Residuo de plaguicida:

Es la sustancia especificada presente en alimentos debido a la aplicación de un plaguicida. Pude ser una impureza considerada toxicológicamente (DIGESA-MINSA-V01).

2.2.1.8 Abamectina

2.2.1.8.1 Definición:

La Abamectina es un antihelmíntico, insecticida y acaricida utilizado en la industria agroquímica, este insecticida afecta el sistema nervioso de los insectos que van a los alimentos y puede ocasionar su muerte.

Químicamente la Abamectina es una mezcla de avermectinas de B1a y B1b, se produce de la fermentación de la bacteria *Streptomyces avermitilis*. Es similar a la ivermectina y se diferencian por la presencia de una doble ligadura de carbonos 22 y 23.

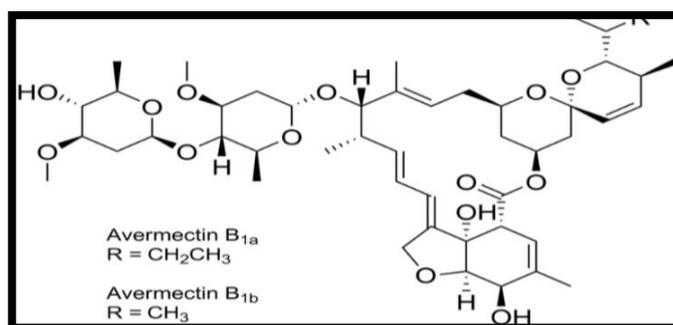
Este insecticida es de acción translaminar, ósea puede moverse a través de la hoja, pero no de hoja en hoja, si aspersamos el insecticida las hojas que salgan después no estarán protegidas (Sumano, H.)

2.2.1.8.2 Modo de acción

Se aplican el insecticida tanto a insectos como los ácaros, estos al ser eficaces son capaces de inmovilizar y matar después de ser ingerido, porque actúa estimulando la liberación presináptica del neurotransmisor inhibitorio (GABA).

Los procesos de metabolismo son sujetos a la hidroxilación del producto, la excreción es por las heces, la orina y una mínima proporción en leche. Es importante señalar que, si se acelera el tránsito intestinal, ésta y otras avermectinas serán menos biodisponibles (Sumano y Ocampo 2006)

Figura N° 3: Estructura Química de la Abamectina



Fuente: Wikipedia

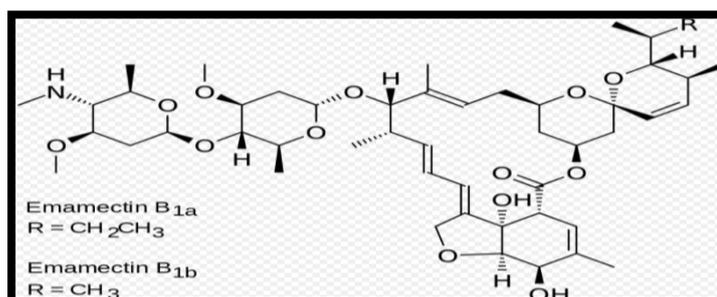
2.2.1.9 Emamectina

2.2.1.9.1 Definición

Es el derivado de la avermectina, no sistémico, este posee la propiedad de ser un insecticida y el modo de acción es por ingestión, no por contacto, el mismo penetra a las hojas y posee también un movimiento translaminar. Su nombre químico es 4"-epi-metilamino-4"-desoxiavermectina B1 (mezcla de un mínimo del 90% de 4"-epi-metilamino-4"-desoxiavermectina B1a y de un máximo del 10% de 4"-epi-metilamino-4"-desoxiavermectina B1b).

Con respecto a su mecanismo de acción, este insecticida se une irreversiblemente a los receptores llamada GABA en la sinapsis y también al ser ingerida o por contacto se une al musculo en los receptores H de glutamato. Existe la activación del canal de cloro, donde existe un flujo de iones de cloro que van hacia el interior del musculo y produce parálisis para las orugas.

Figura N° 4: Estructura Química de la Emamectina



Fuente: Wikipedia

2.3 Cromatografía Líquida

2.3.1.1 Definición

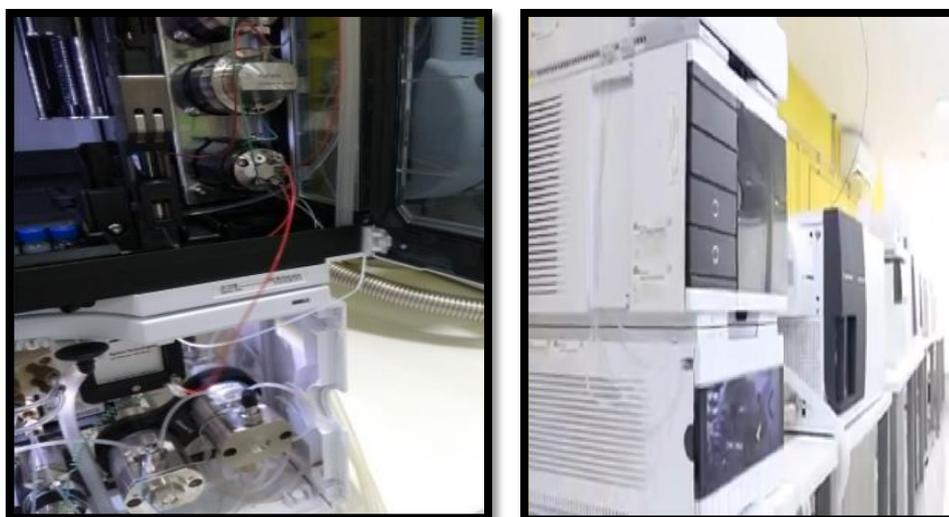
La cromatografía líquida, es un método de separación físico que consiste en una fase móvil como la fase móvil que atraviesa la columna cromatografía que es la fase fija. Esta separación cromatografía es el resultado de las interacciones específicas entre las moléculas de la muestra en ambas fases, móvil y estacionaria.

Figura N° 5: Horno de la columna del HPLC –Fase estacionaria



Fuente: Agilent

Figura N° 6: Bomba del HPLC y muestreador (Izquierda) y HPLC MS-MS (Derecha)



Fuente: Laboratorio de ensayo Agilent

La cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC, de high-performance liquid chromatography) no está limitada por la volatilidad o la estabilidad térmica de la muestra.

El HPLC puede separar macromoléculas y especies iónicas, productos naturales lábiles, materiales poliméricos y una gran variedad de otros grupos poli funcionales de alto peso molecular.

2.3.1.2. Espectrometría de Masas con un analizador de triple cuádruplo

Los espectrómetros de masas con triple cuádruplo con trampa de iones se emplean frecuentemente para determinar moléculas con una mayor sensibilidad; los tipos de fuente de ionización son de modo termospray y trabajaban en modo MRM, ESI (electro pulverización) y la APCI (ionización química a presión atmosférica).

Figura N° 7: JetStream e iFunnel (izquierda) y Fuente de Iones (derecha)



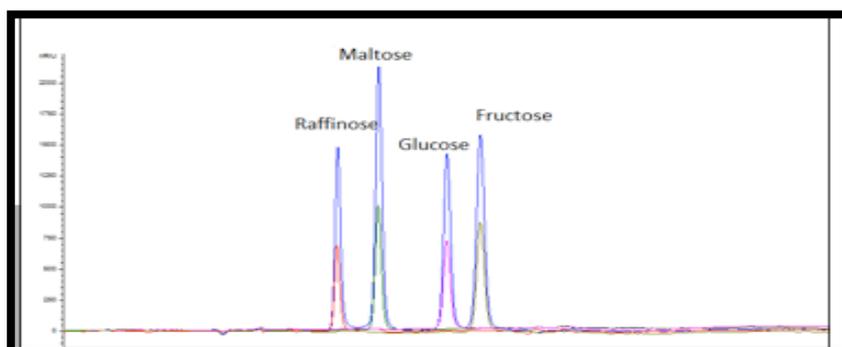
Fuente: Laboratorio de ensayo Agilent

2.3.1.3. Pico Cromatográfico

Un pico cromatográfico es aquella señal o cromatograma que el equipo HPLC MS-MS registra del detector cuando eluye la muestra.

En la práctica los cromatogramas son gaussianos ya que existe 3 tipos como son: simetría, asimetría positiva y negativa (metrixlab).

Figura N° 8: Pico Cromatográfico

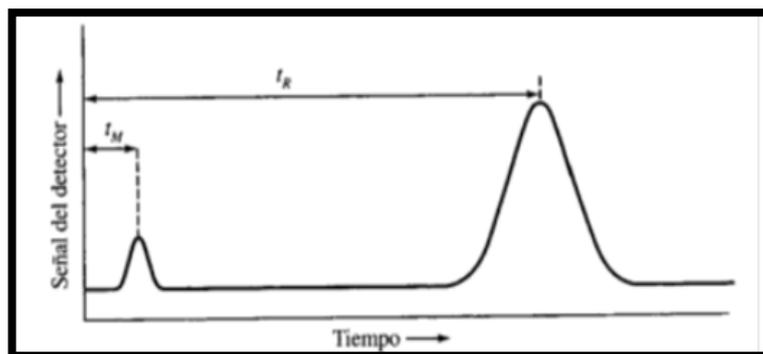


Fuente: <https://www.metrixlab.mx/agua-ultrapura-para-la-analitica-hplc/>

2.3.1.4. Tiempo de retención

Es el tiempo transcurrido entre que se inyecta las muestras y la aparición de la muestra, este tiempo es variable dependiendo de la columna y su peso molecular.

Figura N° 9: Tiempo de retención.

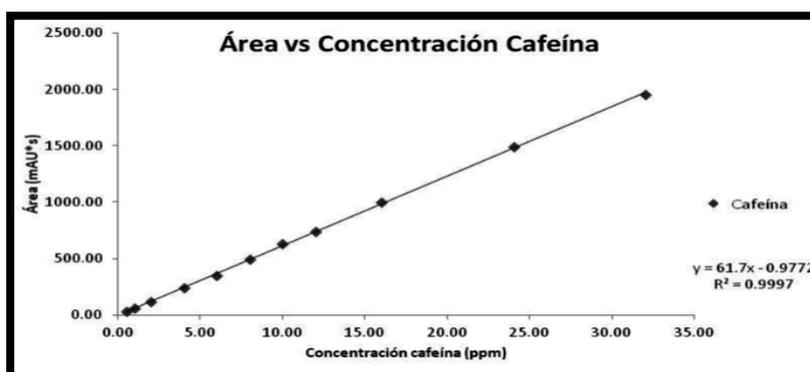


Fuente: <https://player.slideplayer.es/25/8509808/#>

2.3.1.5. Curvas de Calibrado

Para poder conocer la concentración de o los analitos, se requiere para ellos realizar diferentes concentraciones para poder determinar la sensibilidad del equipo y el máximo valor que sea reproducible (Química Viva)

Figura N° 10: Curvas de Calibrado - Linealidad.



Fuente: https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-2-Curva-de-calibracion-para-la-cuantificacion-de-cafeina-por-HPLC_fig2_274012037

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS GENERAL

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

2.4.2 HIPÓTESIS ESPECIFICA

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Emamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa.

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

- **VARIABLE INDEPENDIENTE:** Determinación de Abamectina y Emamectina por HPLC MS-MS
- **VARIABLE DEPENDIENTE:** Calidad de la uva

CAPITULO III: METODOLOGIA

3.1 TIPO NIVEL DE INVESTIGACIÓN

La investigación fue de tipo retrospectivo porque determino las relaciones entre las personas variables de hechos ya ocurridos sin tratar de explicar las causas.

Es trasversal porque la población fue de manera aleatoria y se hizo en un momento concreto del tiempo. Esta investigación es de tipo básica porque parte de un marco teórico y formula nuevas teorías o modifica las existentes ya que buscamos un conocimiento puro.

3.2 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO Y DISEÑO

La investigación es de diseño experimental porque formula nuevas teorías o modifica las existentes. El enfoque de esta investigación es cuantitativo porque se midió y aprobó y se obtuvo resultados.

El desarrollo de esta investigación se realizó en los valles de Ica- Perú donde se cultivan de manera artesanal y tecnificadas diferentes especies de uvas las cuales son

para producir vino y también para alimento de la zona y de otros departamentos del Perú.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

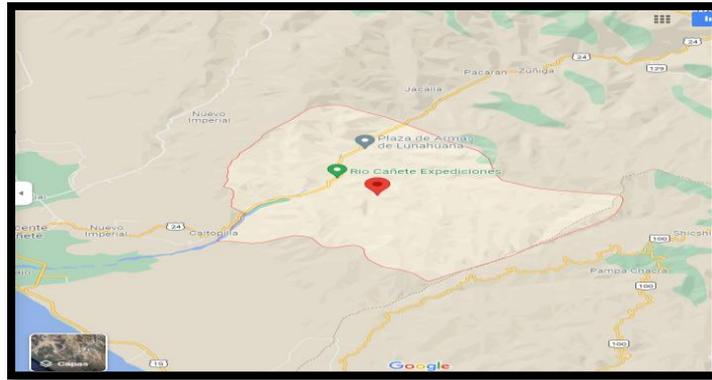
POBLACIÓN:

Está comprendida por 30 lotes de producción de uva correspondiente al valle de Ica, distribuidos en regiones y de cada lote se escogió 30 muestras.

Los lotes para testar estarán comprendidos entre km 25-27 km de la Panamericana Sur.

- Longitud: -76.1173800
- Latitud: -13.0193300

Figura N° 11: Socci lunahuana cañete km 27



Fuente: Google maps

Según el teorema de límite central e intervalos de confianza el tamaño de la muestra fue 106, según la formula mencionada.

$$n = \frac{N * Z^2 * (P) * (1 - P)}{D^2 * (N - 1) + Z^2 * (1 - P)}$$

Donde:

N=106

n: tamaño de muestra

Z: Factor para un nivel de confianza al 95% es de 1.96

P: Cantidad o población de frutas y vegetales con residuos de estos plaguicidas, como no tenemos valores anteriores tomaremos el valor de 0.5 para tener un mayor tamaño de muestra=0.05

(1-P): Proporción poblacional de frutas libres de residuos de plaguicidas, con el valor de 0.5 = 0.95

D: Precisión igual 3% =0.03

$$n = \frac{106 * 1.96^2 * (0.05) * (0.95)}{106^2 * (105) + 1.96^2 * (0.95)}$$

$$n = \frac{19.34}{106^2 * (105) + 3.64}$$

n= 16

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Para el recojo de datos se empleó dos instrumentos de recopilación de información elaborados por los investigadores para este trabajo de investigación.

El primero consistió en una ficha de reporte del recojo de cosecha, en este instrumento se consignó lo siguiente:

- a.- Lugar de recolección
- b.- Cantidad de recolección
- c.- Observaciones.

El segundo instrumento es una ficha de reporte de análisis, este instrumento consigna los resultados analíticos de la evaluación de Abamectina y Emamectina analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS. la cual consigno lo siguiente:

- a) Info: Aquí se coloca la matriz a analizar (mango, palta, uva, etc.)
- b) Name: Nombre de identificación (número de muestra, código, etc.)
- c) Type: curva de calibrado, muestra.
- d) Date File: Fecha de inyección de muestras.
- e) Level: Se identifica que punto de la curva de calibrado
- f) Dilución: Si aplicaría para poder reportar el valor dentro de la curva de calibrado.
- g) Position: Se coloca en qué posición del plato de inyección (ejem: A1, A2)
- h) Exp Conc: Se coloca aquí el valor teórico de la curva de calibrado
- i) RT: Tiempo de retención.
- j) Respuesta: Señal que emite el Detector MS
- k) Cal con: Concentración del analito con el cálculo de la curva de calibrado
- l) Final Conc: Concentración final aplicado con el factor de dilución.
- m) Accuracy: Valor e aseguramiento o recuperación de analito.
- n) Ratio: Rango de aceptación de iones (70-130%).

El método instrumental está compuesto por un método de adquisición asociado a un método de cuantificación. Este método se codifica con la fecha de la última modificación seguido del nombre del método en si más la palabra MI (ej.: Prueba_QUECHERS_MI.m) y se guarda en la carpeta METHODS.

El equipo mostro un cromatograma y una respuesta, esta data se exporta en Excel y con la ayuda de la curva de calibrado, se puede hallar la concentración de los analitos. No se puede exportar un PDF del cromatograma solo el barrido como se observa.

El perfil cromatográfico.

Figura N° 12 Cromatograma de Abamectina

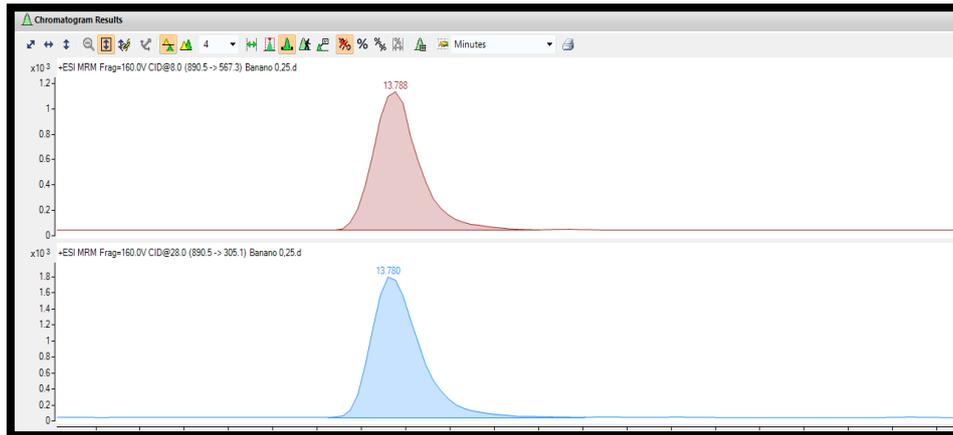
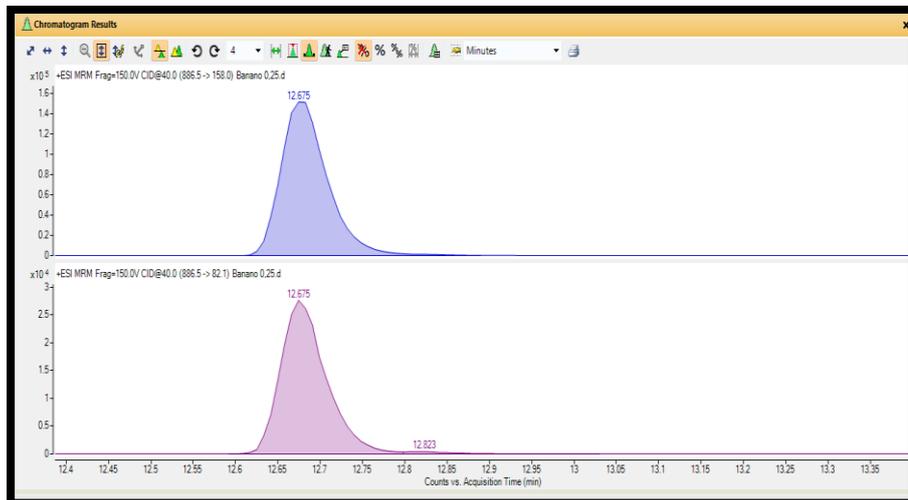


Figura N° 13 Cromatograma de Emamectina



3.4.1 MATERIALES Y APARATOS UTILIZADOS EN LABORATORIO

Para el desarrollo de la tesis se utilizó los siguientes materiales y reactivos:

MATERIALES:

- Espátula de laboratorio.
- Balanza de precisión de 0,1 mg
- Balanza de precisión de 0,01 g
- Micropipetas de volumen variable (distintos volúmenes)
- Dispensador de volumen variable, 1-10 mL, resolución 0,1 mL.
- Viales de 2 mL y tapas para viales.
- Picadora de alimentos doméstica o procesador de alimentos.
- Tubos de centrifuga de 50 mL
- Filtros de jeringa de 0,22 μm
- Centrifuga capaz de trabajar a más de 4500 RPM
- Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia LC 1290 Infinity de Agilent.
- Columna Zorbax RRHD Eclipse PLUS C18 de 1.8 μm de tamaño de partícula y 2.1*200mm o equivalente.
- Espectrómetro de masas Agilent 6495 triple Quadrupole Mass Spectrometer.
- Software para adquisición de datos: Masshunter Workstation.

REACTIVOS

- Metanol grado HPLC o superior
- Acetonitrilo para cromatografía en fase líquida (LC) HPLC o superior
- Agua HPLC o superior
- Ácido fórmico 98%, calidad espectroscopia
- Solución de ácido fórmico al 5 % en agua: para ello se debe diluir 1,28 mL de ácido fórmico al 85 % en 25 mL de agua
- Solución de hidróxido de sodio 5 N: disolver 2 g de hidróxido de sodio en

aproximadamente 5 mL de agua ultrapura y llevar a un volumen final de 10 mL.

- Sulfato de Magnesio anhidro ($MgSO_4$), calidad QP o superior.
- Cloruro de Sodio ($NaCl$), calidad QP o superior.
- Na_3 Citrato dihidrato, calidad QP
- Na_2H Citrato sesquidrato, calidad QP

Tabla N° 4: Composición de mezcla de la sal de limpieza

Mezcla 1
4 g \pm 0,2 g de $MgSO_4$ 1 g
\pm 0,05 g de $NaCl$,
1 g \pm 0,05 g de Na_3 Citrato dihidrato,

Fuente: Proveedor

Laboratorio de análisis. - Las muestras se analizaron en el laboratorio Analytical Laboratory

3.4.2 PROCEDIMIENTO

Previamente el proceso de análisis se empezó preparando lo siguiente:

Se extrajo matrices blancas previamente verificadas como blanco de matriz (libres de plaguicidas).

Se preparó la solución mix con los 2 analitos de interés como Abamectina y Emamectina de 10 ppm que fueron diluidas de las soluciones madre de 1000ppm.

Se preparó una solución de TPP de 0.01 mg / L en acetonitrilo para que sea utilizado como estándar interno para adicionar antes de la extracción y poder verificar la eficiencia de la extracción en todo el proceso, se agregó tanto para la curva de calibrado y a las muestras a ser analizadas.

La Solución preparada de 1 M de formiato amónico en agua: se pesó 6,31 g de formiato amónico y disolvió en 100 mL de agua.

Las fases móviles utilizadas para el HPLC MS-MS se prepararon de la siguiente manera:

- Fase móvil 5mM al 0,1% Ac. Fórmico en Agua: añadir 5 mL de solución 1 M de formiato amónico y 1 mL de ácido fórmico a 1L de agua
- Fase móvil 5mM al 0,1% Ac. Fórmico en Metanol: añadir 5 mL de solución 1 M de formiato amónico y 1ml de ácido fórmico a 1L de metanol.

a) TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Muestras frescas: se inició dentro de las 24 h a su llegada al laboratorio. En el caso de que no sea posible, se congelan las muestras preferiblemente después de ser trituradas. Una vez descongeladas, se inicia el análisis dentro de las 24 h posteriores.

Muestras congeladas: se deberá iniciar el análisis dentro de las 24 h siguientes a su descongelación.

b) Proceso de extracción

Pesar 10g de muestra en un tubo de centrifuga de 50 mL con tapón roscado, con una precisión de $\pm 0,05$ g según se especifica a continuación

Tabla N°5: Volúmenes utilizados en la extracción de la muestra.

%Agua	Ejemplo	Peso de muestra (g)	V. (μ L) Extracto Final	V. (μ L)ACN	V. (μ L) MeOH/H ₂ O	F.Dil.Final
>75 %	uvas	10	200	200	600	5

Fuente: Propia

Cerrar el tubo y agitar con el agitador durante 1 minuto a 1500 RPM

Añadir la mezcla 1, e inmediatamente después, cerrar el tubo y agitar vigorosamente de forma manual durante unos segundos para evitar la formación de grumos.

Agitar el tubo durante 1 minuto como mínimo, de forma manual o haciendo uso del aparato de agitación automática a 1500 RPM.

Centrifugar durante 5 minutos a más de 3000 RPM.

Filtrar un volumen sobrenadante a un tubo de polipropileno a través de 0.22 μ m y reconstituir según la tabla, agregando 10 μ L de ácido fórmico al 5 % en agua.

c) CURVAS DE CALIBRADO

Para preparar la curva de calibrado se detalla el cuadro, con los 6 puntos de calibrado que se prepara con blanco de matriz de uva, libre de residuos de plaguicidas.

Tabla N°6 Curva de preparación de matriz

PESO (10g)	0,01 (mg/kg)	0,05 (mg/kg)	0,1 (mg/kg)	0,15 (mg/kg)	0,2 (mg/kg)	0,25 (mg/kg)
	Pto. 1	Pto. 2	Pto. 3	Pto. 4	Pto.5	Pto. 6
MEZCLA (mL)	0,100	0,010	0,020	0,030	0,040	0,050
Bco MATRIZ (mL)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
ACN (mL)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
MeOH/H ₂ O (mL)	0,500	0,590	0,580	0,570	0,560	0,550
Ac. Fórmico 5 % (mL)	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
VOLUMEN FINAL(mL)	1,010	1,010	1,010	1,010	1,010	1,010

Fuente: Propia

d) CONDICIONES DE ANÁLISIS

El análisis se basa en la diferencia de solubilidad de los plaguicidas entre la fase acuosa y la orgánica. Se realiza una extracción de la muestra mediante agitación con acetonitrilo, de forma que los plaguicidas presentes pasan a la fase orgánica. Junto con el acetonitrilo se emplean sales para eliminar interferencias y mejorar la eficacia de la extracción como son:

- Sulfato de magnesio: elimina exceso de agua
- PSA: elimina azúcares, ácidos grasos, ácidos orgánicos y pigmentos
- Sales tampón: estabilizan el nivel de pH entre 5 - 5,5 aproximadamente.
- C18: elimina el exceso de grasa
- El extracto final se analiza por cromatografía líquida con detector de espectrometría de masas-masas, cuantificándose con un estándar interno.

Las condiciones del equipo son:

- Temperatura del horno: 50 °C.
- Fase móvil:
- Canal A: H₂O, 5 mM de Formiato amónico 0,1% Fórmico.
- Canal B: Metanol: 5 mM de Formiato amónico 0,1% Fórmico.
- Inyección automática de 1L con muestreador automático:

Tabla N°7: Condiciones del HPLC

Tiempo (min)	A (%)	B (%)	Flujo mL/min
0.0	95	5	0.300
0.5	95	5	0.300
1.0	80	20	0.300
2.5	60	40	0.300
4.0	45	55	0.300
7.5	35	65	0.300
8.5	35	65	0.300
9.5	30	70	0.300
10.5	25	75	0.300
11.0	15	85	0.300
13.5	0	100	0.300
16.0	95	5	0.300

Condiciones experimentales de trabajo del detector de masas:

- Temperatura del Gas: 120°C
- Nebulizer: 25 psi
- Shet Gas Flow: 11 L/min
- Capillary: Modo Positivo: 3500V y Modo Negativo: 3000

3.5 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

El procesamiento de los datos se calculó por medio del software MASS HUNTER, para cada día se lee una curva de calibrado con 5 puntos de concentración 0.01, 0.05, 0.10, 0.15, 0.25, para poder obtener la concentración de analito, si esta fuera de la curva de calibrado se aplica una dilución en el equipo o se realiza una dilución manual con blanco de matriz para simular la misma matriz y sus interferencias. Después del tiempo de inyección de cada muestra que es 25 minutos, sale el icono de la inyección en la base de datos.

El orden de la secuencia de inyección es como sigue y se aplica cada 20 muestras:

- Blanco de solvente (Revisar la limpieza del equipo o posible contaminación)
- Curva de calibrado
- Blanco de matriz
- CCI (Control de adición)
- Muestra
- CII (Control de curva para asegurar que no se haya caído la señal)

Se debe tener en cuenta que el r^2 para la curva de calibrado debe ser mayor a 0.995, para poder decir que nuestra linealidad y resultados son confiables.

Para el tratamiento de los datos se utiliza el software MassHunter, este sistema informático que controla tanto al cromatógrafo como al espectrómetro. Este sistema está constituido por varios softwares que controlan distintas funciones.

Los de uso rutinario son:



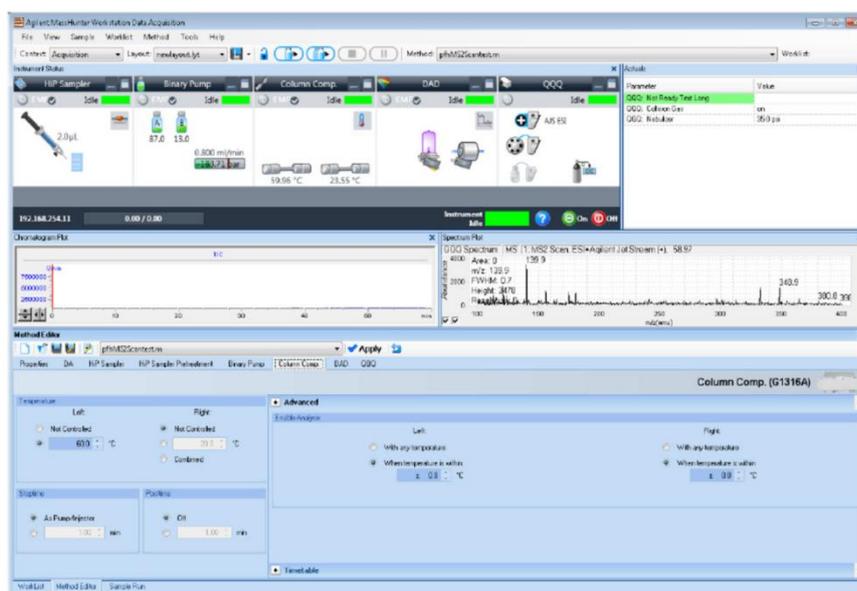
Data Acquisition: controla la adquisición de datos



QQQ Quantitative: controla la cuantificación.

Para la realización de un análisis se hace click en el icono Data Acquisition donde aparece la siguiente ventana desde la cual se puede lanzar las secuencias y se controlan y/o modifican los parámetros del método.

Figura N° 15: Data Acquisition



La cuantificación de los plaguicidas confirmados se realizó de forma automática mediante calibración externa, por interpolación del área del pico del ion de cuantificación de la muestra (A_m), en la recta de calibrado obtenida para ese plaguicida y esa serie de muestras (ver manuales de equipos en el que se describe el proceso de cuantificación de muestras).

Partiendo de los valores de área obtenidos, mediante la integración de los picos cromatográficos de los iones de cuantificación correspondientes a los patrones, se calcula la recta de calibración, según la ecuación:

Figura N°16: Formula de cuantificación de curva de calibrado

$$C_m \left(\frac{mg}{Kg} \right) = (A_m - b) / m$$

Donde:

C_m = concentración de la muestra

m = pendiente

b = Término independiente (punto de intersección de la recta en el eje de ordenadas).

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Para la identificación de los analitos con las herramientas que proporciona el software del equipo, se debe cumplir:

- Tiempo de retención: debe estar incluido en el intervalo $\pm 2.5 \%$ respecto al tiempo de retención de los patrones de la misma tanda de análisis en términos absolutos
- Presencia MRM 1 (transición 1, ion cuantificador)
- Presencia MRM 2 (transición 2, ion cualificador)

Para la confirmación se realiza mediante la comparación entre las intensidades iónicas (ion ratio) del plaguicida obtenido en la muestra y en los patrones de calibración de la misma tanda de análisis. Debe cumplir:

- Obtención de la relación iónica en áreas, entre las transiciones MRM1 y MRM2 del plaguicida del patrón de calibración LOQ, y si no cumpliera, del patrón de concentración más cercana al positivo de la muestra.
- Obtención de la relación iónica en áreas, entre las transiciones MRM1 y MRM2 del plaguicida en la muestra.
- Verificación de la inclusión o no en el intervalo de aceptación del 30 %.

Al analizar los 30 lotes de las diferentes matrices (Uvas del valle iqueño), obtenemos los siguientes resultados al analizar las muestras por el HPCL MS-MS. Los resultados sombreados de color celeste nos indica que dio un valor positivo mayor al Loq de 0.01 mg/kg o un valor cercano que puede considerarse positivo. Según SENASA- Resolución/ 2010 para Uvas, el valor de Emamectina es 0.015 mg/kg.

Figura N° – Resultados del análisis de Emamectina y Abamectina

Lotes	Matriz	Emamectina (Ppm)	Abamectina (Ppm)	
A	M1	Uva Negra	0.0082	0.0037
	M2	Uva Negra	0.0062	0.0102
	M3	Uva Negra	0.0067	0.0055
	M4	Uva Negra	0.0078	0.0035
	M5	Uva Negra	0.0082	0.0087
B	M6	Uva Negra	0.011	0.0092
	M7	Uva Negra	0.0023	0.0024
	M8	Uva Negra	0.0089	0.0037
	M9	Uva Negra	0.012	0.0074
	M10	Uva Negra	0.0021	0.0021
C	M11	Uva Negra	0.0095	0.015
	M12	Uva Negra	0.013	0.0011
	M13	Uva Negra	0.007	0.011
	M14	Uva Negra	0.01	0.0046
	M15	Uva Negra	0.0083	0.0112
D	M16	Uva Negra	0.0041	0.0042
	M17	Uva Negra	0.0051	0.0055
	M18	Uva Negra	0.0082	0.0093
	M19	Uva Negra	0.0042	0.0088
	M20	Uva Negra	0.0074	0.0052
E	M21	Uva Negra	0.0051	0.0067
	M22	Uva Negra	0.0025	0.0048
	M23	Uva Negra	0.0091	0.0059
	M24	Uva Negra	0.0071	0.0075
	M25	Uva Negra	0.0063	0.0052
F	M26	Uva Negra	0.0083	0.0044
	M27	Uva Negra	0.0099	0.011
	M28	Uva Negra	0.0052	0.0057
	M29	Uva Negra	0.0066	0.0095
	M30	Uva Negra	0.0058	0.0052

Se obtuvo que las uvas provenientes del valle iqueño poseen trazas de plaguicidas como indica el cuadro resumen:

Tabla N° 9: Resumen de Resultados

Muestras	Cuadrícula	Emamectina	Abamectina
M2	Valle de Ica cuadrícula A2	0.0062	0.0102
M6	Valle de Ica cuadrícula B1	0.011	0.0092
M9	Uva Negra cuadrante B4	0.012	0.0074
M11	Valle de Ica cuadrícula C1	0.0095	0.015
M14	Valle de Ica cuadrícula C4	0.01	0.0046
M15	Valle de Ica cuadrícula C5	0.0083	0.0112
M27	Valle de Ica cuadrícula F2	0.0099	0.011

Figura N° 19 Cuadro de Resultados



Los valores encontrados de acuerdo con la norma técnica sanitaria 128 Minsa, resolución y con la legislación europea, para Abamectina es 0.01 ppm.

Figura N°20 Valores de Abamectina del MINSA/2016/DIGESA NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS LIMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS (LMR)

40	UVA, fruta fresca (<i>Vitis vinifera</i>)	ABAMECTIN	0.01
		ACETAMIPRID	0.5

4.2. PRUEBA DE HIPÓTESIS

A un nivel de significancia de 0.05

1 Prueba de Hipótesis

Hipótesis Nula (H0):

Las uvas orgánicas del valle de Ica no presentan concentraciones de Emamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

Hipótesis alterna (Ha):

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Emamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

a) Atipicidad de Datos

Para el caso de Abamectina se tiene que evaluar los resultados, como primer término la atipicidad de valores para ello se utiliza la estadística Minitab 19, para determinar por separado y conjuntamente ya que se evalúa por analito.

Figura N°21- Diagrama de cajas para el sector A (M1 a M5) para Emamectina

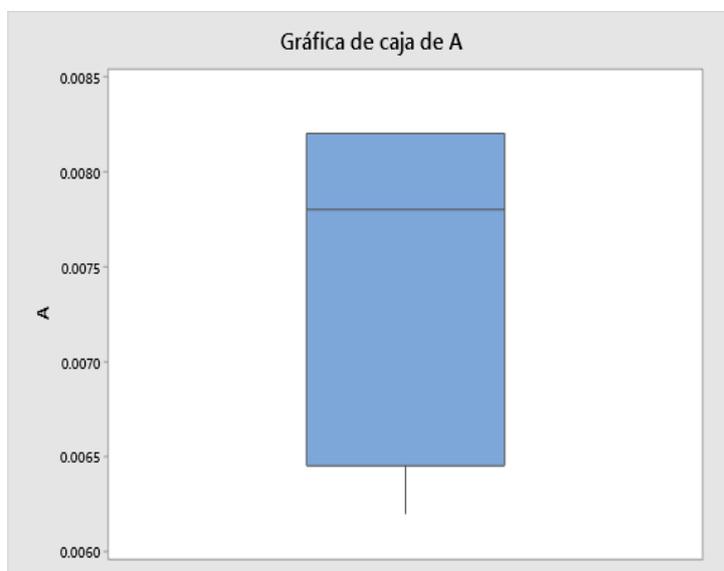
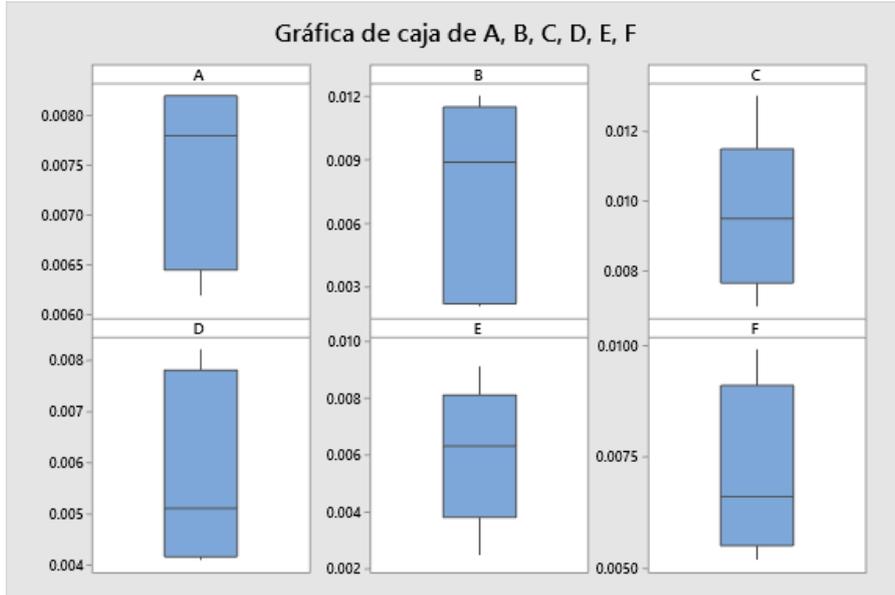


Figura N°22- Diagrama de cajas (M1 a M30) para Emamectina



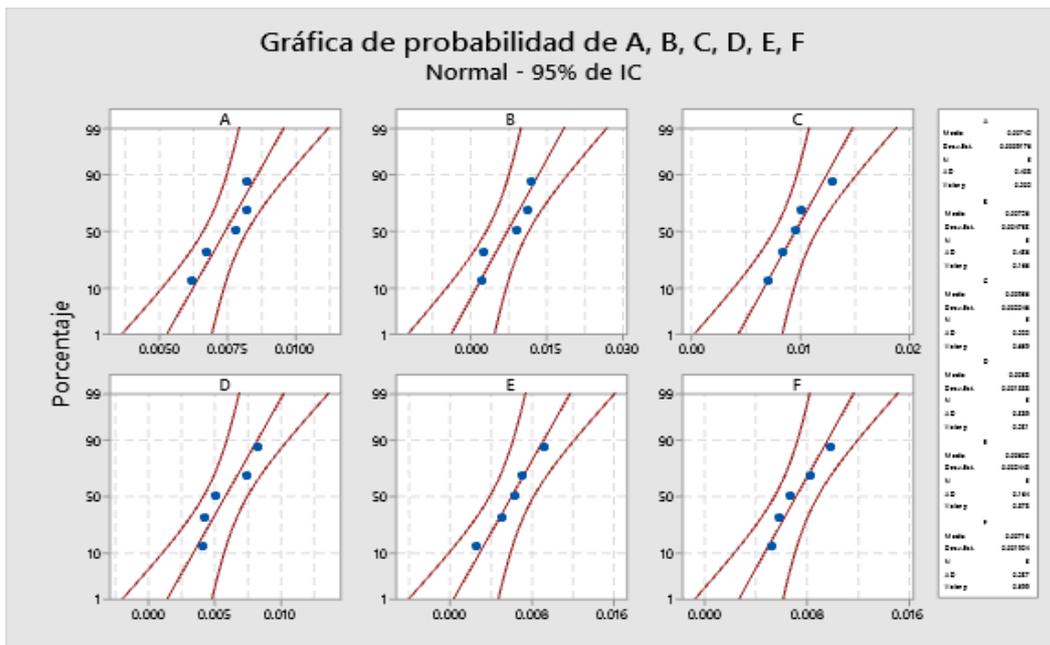
b) Test de Anderson Darling

Esta prueba es para ver el tipo de distribución de datos al 95 %.

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

Ha: los datos no provienen de una distribución no normal

Figura N°23- Diagrama de Distribución Normal (M1 a M30) para Emamectina



El valor de pvalue > 0.05 para todos los cuadrantes, los datos provienen de una distribución normal

c) Estadístico de tendencia central

Tus datos provienen de una distribución normal, estadístico de tendencia central es el promedio = 0.00720

Para compararlo 0.01 mg/Kg (Legislación)

Ho: El valor encontrado = al valor de la legislación

Ha: el valor encontrado ≠ al valor de la legislación

Estadísticas descriptivas

N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para μ
30	0.007203	0.002703	0.000493	(0.006194, 0.008213)

μ : media de Emamectina

Prueba

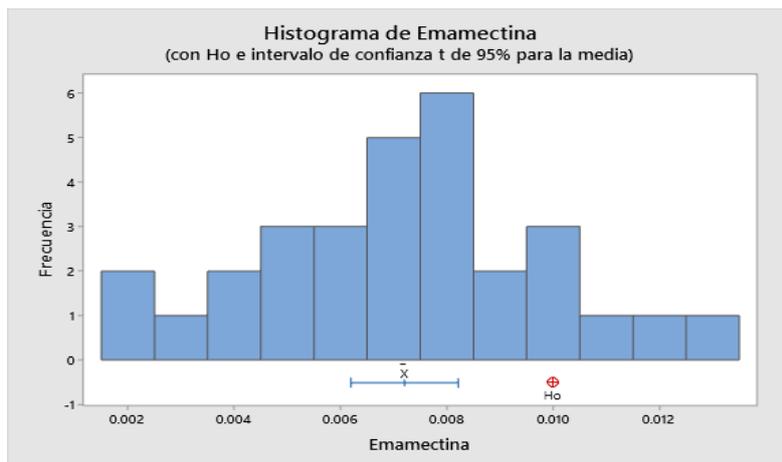
Hipótesis nula $H_0: \mu = 0.01$

Hipótesis alterna $H_1: \mu \neq 0.01$

Valor T Valor p

-5.67 0.000

Figura N°24- Histograma de (M1 a M30) para Emamectina



CONCLUSIONES:

- p value < 0.05, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna para la estadística de tendencia central.

- $p \text{ value} < 0.05$, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, donde el promedio indica que no existe Emamectina para Uvas Orgánicas iqueñas.

2 Prueba de Hipótesis

Hipótesis Nula (H_0):

Las uvas orgánicas del valle de Ica no presentan concentraciones de Abamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

Hipótesis alterna (H_a):

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS

a) Atipicidad de Datos

Para el caso de Emamectina se tiene que evaluar los resultados, como primer término la atipicidad de valores para ello se utiliza la estadística Minitab 19, para determinar por separado y conjuntamente ya que se evalúa por analito.

Figura N°25- Diagrama de cajas para el sector A (M1 a M5) para Abamectina

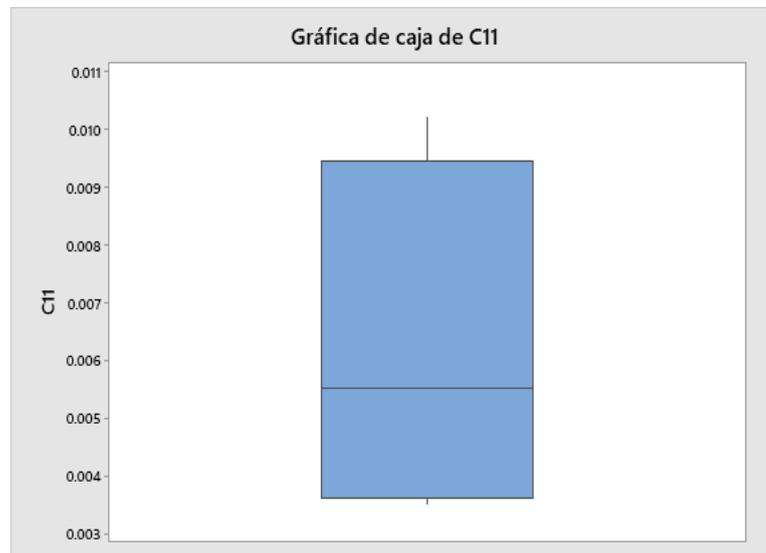
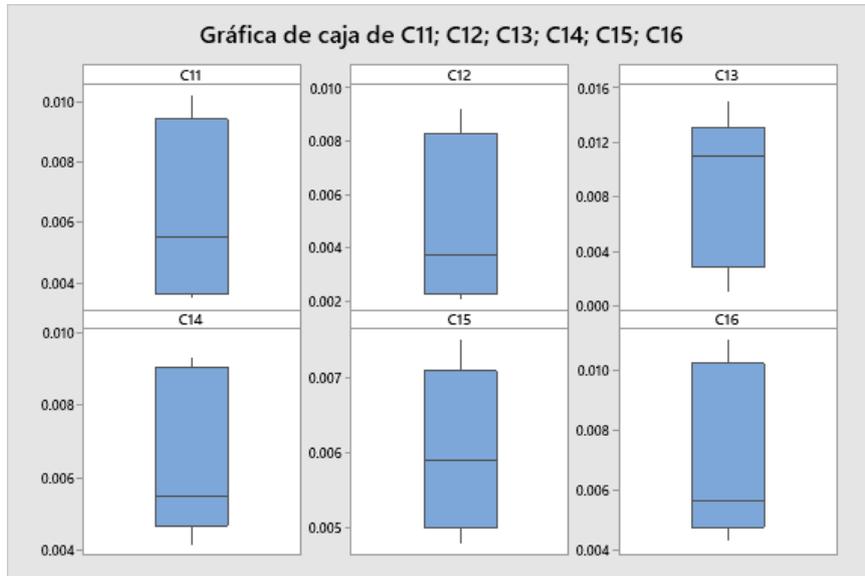


Figura N°26- Diagrama de cajas de los 6 cuadrantes para Abamectina



b) Test de Anderson Darling

Esta prueba es para ver el tipo de distribución de datos al 95 %.

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

Ha: los datos no provienen de una distribución no normal

Figura N°27- Diagrama de Normalidad de los cuadrantes

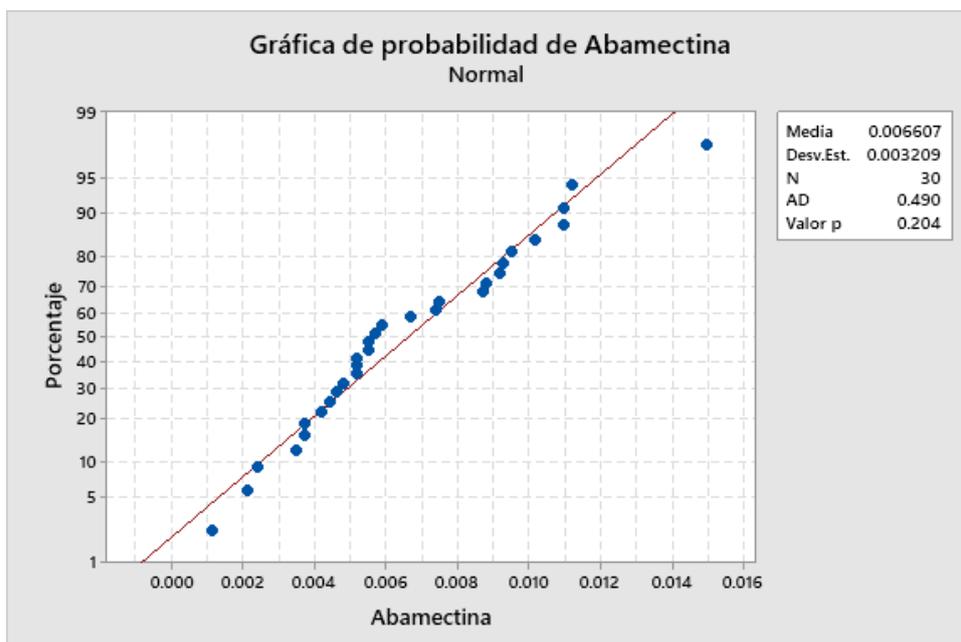
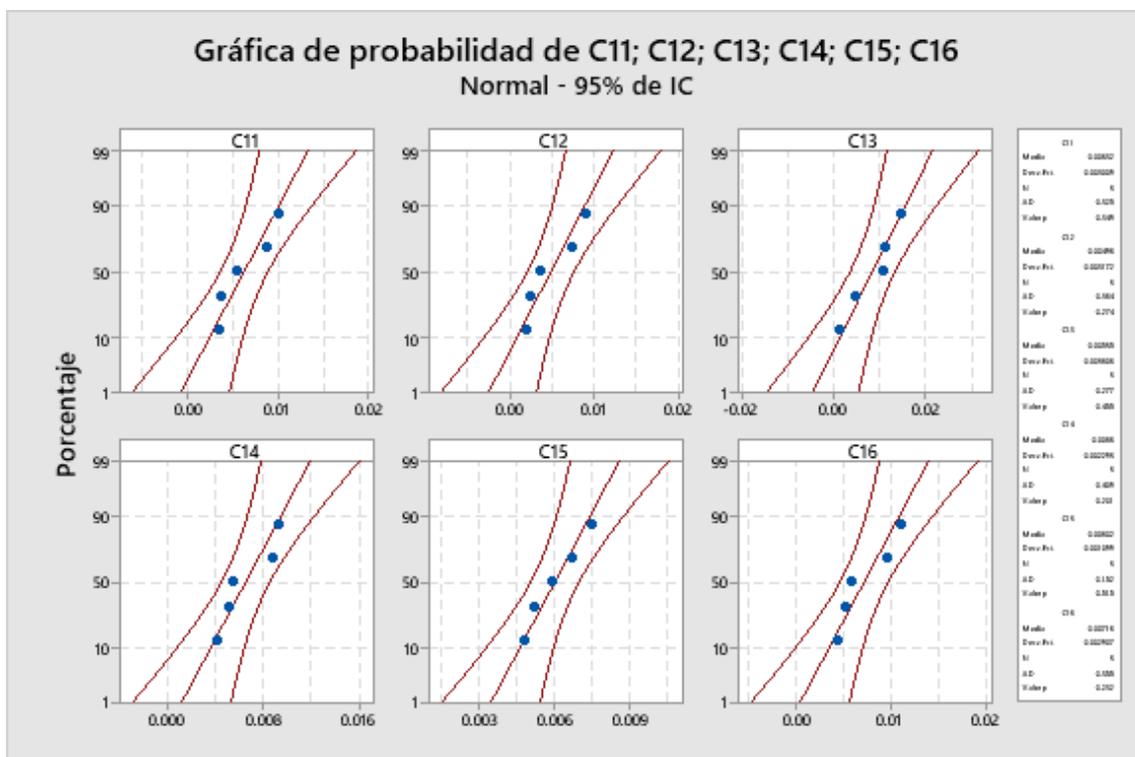


Figura N°28- Diagrama de Probabilidad de los cuadrantes para Abamectina



El valor de pvalue > 0.05 para todos los cuadrantes, los datos provienen de una distribución normal.

c) Estadístico de tendencia central

Tus datos provienen de una distribución normal, estadístico de tendencia central es el promedio = 0.00661

Para compararlo 0.01 mg/Kg (Legislación)

H₀: El valor encontrado = al valor de la legislación

H_a: el valor encontrado ≠ al valor de la legislación

Estadísticas descriptivas

N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para μ
30	0.006607	0.003209	0.000586	(0.005409; 0.007805)

μ : media de Abamectina

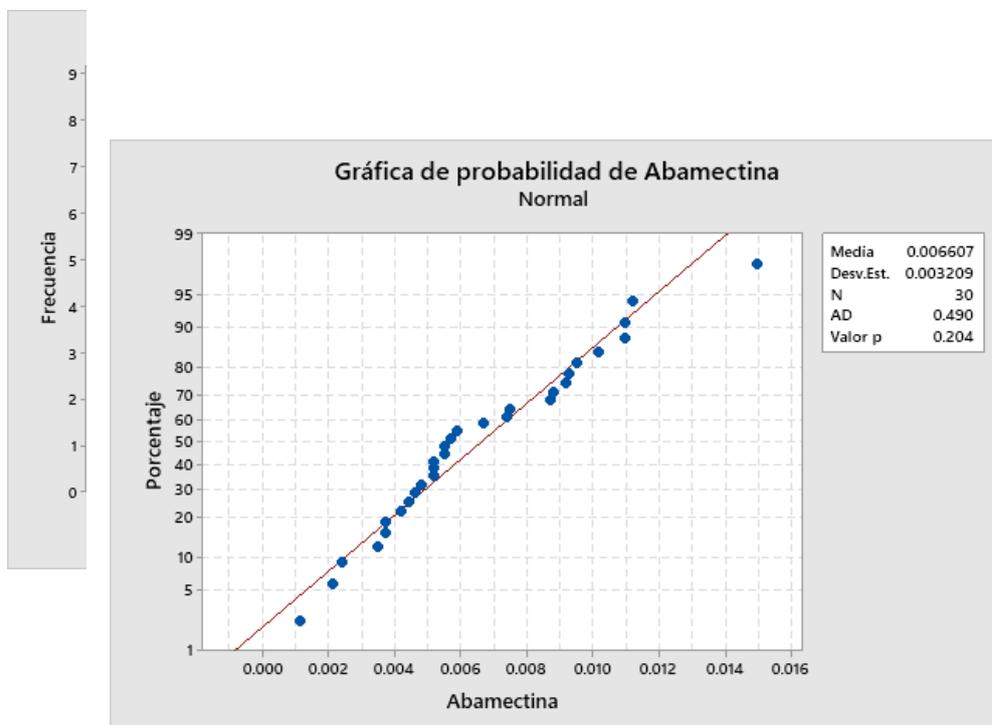
Prueba

Hipótesis nula H₀: $\mu = 0.01$

Hipótesis alterna H₁: $\mu \neq 0.01$

Valor T	Valor p
-5.79	0.000

Figura N°29 -Histograma de (M1 a M30) para Emamectina



Conclusiones:

- $p \text{ value} < 0.05$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna para la estadística de tendencia central.
- $p \text{ value} < 0.05$, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, donde el promedio indica que no existe Abamectina para Uvas Orgánicas iqueñas.

3 Prueba de Hipótesis

Hipótesis Nula (H_0):

Las uvas orgánicas del valle de Ica no presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa.

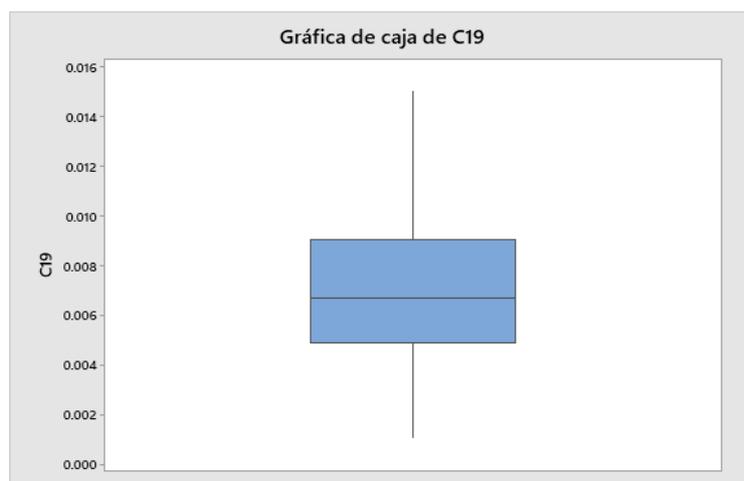
Hipótesis alterna (H_a):

Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa.

a) Atipicidad de Datos

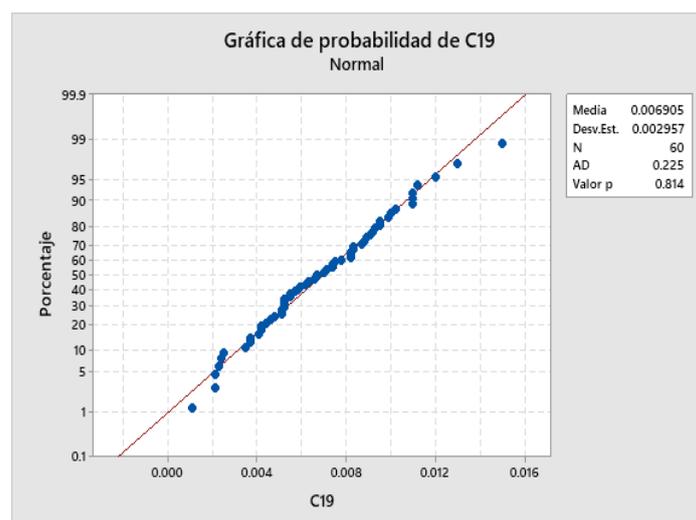
Para el caso de Abamectina y Emamectina se tiene que evaluar los resultados, como primer término la atipicidad de valores para ello se utiliza la estadística Minitab 19, para determinar conjuntamente.

Figura N°30- Diagrama de cajas para Abamectina y Emamectina



Se evaluará la normalidad de los datos, el p value > 0.05.

Figura N°31- Normalidad de Abamectina y Emamectina



c) Estadístico de tendencia central

Tus datos provienen de una distribución normal, estadístico de tendencia central es el promedio = 0.006905

Para compararlo 0.01 mg/Kg (Legislación)

H₀: El valor encontrado = al valor de la legislación

H_a: el valor encontrado ≠ al valor de la legislación

Estadísticas descriptivas

N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para μ
60	0.006905	0.002957	0.000382	(0.006141; 0.007669)

μ : media de C19

Prueba

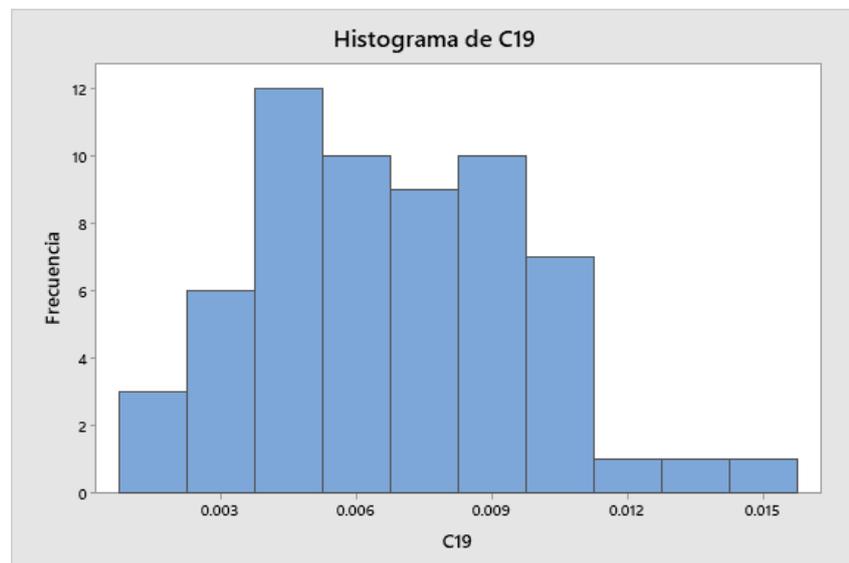
Hipótesis nula $H_0: \mu = 0.01$

Hipótesis alterna $H_1: \mu \neq 0.01$

Valor T Valor p

-8.11 0.000

Figura N°32- Histograma de Abamectina y Emamectina



CONCLUSIONES:

- $p \text{ value} < 0.05$, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna para la estadística de tendencia central.
- $p \text{ value} < 0.05$, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, donde el promedio indica que no existe Abamectina y Emamectina para Uvas Orgánicas iqueñas.

4.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.3.1 De las 30 determinaciones se encontró que existe 4 muestras con concentraciones de Abamectina en uvas orgánicas iqueñas en Perú, que son del Cuadrante A2 (0.0102 mg/kg), Cuadrante C1 (0.015 mg/kg), Cuadrante C5 (0.0112 mg/kg) y Cuadrante F2 (0.011 mg/kg).

Al comparar nuestros resultados con la tesis doctoral de Sandra Cerneños del 2016 estudia la Abamectina en la región de Murcia que aplicó los pesticidas al fruto con nombre comercial Marisol. que aplicó una dosis de 91.9 ml/HI y se logró obtener un LMR de 0.015 mg/Kg utilizando los mismos métodos de extracción QUECHER. En el uso de naranjas que poseen un 85.7% de agua que es similar a la uva.

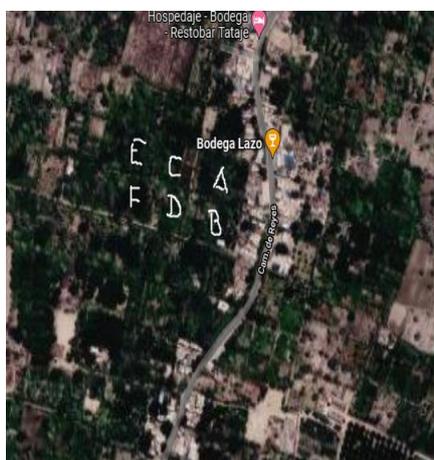


Tabla N°10: Valores positivos de Abamectina

CUADRANTES	MUESTRAS	CUADRICULA	ABAMECTINA
A	M2	Valle de Ica cuadrícula A2	0.0102
B	M6	Valle de Ica cuadrícula B1	0.0092
	M9	Uva Negra B4	0.0074
	M11	Valle de Ica cuadrícula C1	0.015
	M14	Valle de Ica cuadrícula C4	0.0046
	M15	Valle de Ica cuadrícula C5	0.0112
F	M27	Valle de Ica cuadrícula F2	0.011

4.3.2 De las 30 determinaciones se encontró que existe 3 muestras con valores de Emamectina en uvas iqueñas valle de ICA-Perú, que son del Cuadrante B1 (0.011 mg/kg), Cuadrante B4 (0.012 mg/kg), Cuadrante C4 (0.01 mg/kg).

- Según la tesis “Determinación por métodos multiresiduo de plaguicidas y micotoxinas en alimentos vegetales y lácteos mediante técnicas cromatográficas espectrométricas de masa” del Lic. Nicolás Michlig en el 2018 utiliza el método Quecher para extraer los plaguicidas que son los más utilizados para los multiresiduos que extrae con ayuda de un solvente orgánico y sales inorgánicas que ayuda a saturar la fase acuosa y libera las interferencias. Además, utiliza un detector triple cuadrupolo, aquí determina las micotoxinas usando esta extracción y polaridad positiva como la Emamectina y modificando las fases móviles para mejorar la sensibilidad.

Tabla N°11: Valores positivos de Emamectina

CUADRANTES	MUESTRAS	CUADRICULA	EMAMECTINA
A	M2	Valle de Ica cuadrícula A2	0.0062
B	M6	Valle de Ica cuadrícula B1	0.011
	M9	Uva Negra Cuadrícula B4	0.012
C	M11	Valle de Ica cuadrícula C1	0.0095
	M14	Valle de Ica cuadrícula C4	0.01
	M15	Valle de Ica cuadrícula C5	0.0083
F	M27	Valle de Ica cuadrícula F2	0.0099

- De las 30 determinaciones se encontró que existen 23 valores con trazas de Abamectina en el valle de ICA-Perú en las muestras M1, M3, M4, M5, cuadrante B, M12, M13, M14, cuadrante D, E, M26, M28, M29 y M30 que son muestras orgánicas que pueden ser exportadas y están dentro de los límites de SENASA y la norma Sanitaria del Minsa. Pero si se evaluara por separado se encontraría 7 valores positivos que están más altos que la legislación que es 0.01 mg/kg.

- **Tabla N° 12** – Trazas de Abamectina

CUADRANTES	LOTES	MATRIZ	ABAMECTINA
A	M1	Uva Negra	0.0037
	M3	Uva Negra	0.0055
	M4	Uva Negra	0.0035
	M5	Uva Negra	0.0087
B	M6	Uva Negra	0.0092
	M7	Uva Negra	0.0024
	M8	Uva Negra	0.0037
	M9	Uva Negra	0.0074
	M10	Uva Negra	0.0021
	M12	Uva Negra	0.0011
	M13	Uva Negra	0.011
D	M14	Uva Negra	0.0046
	M16	Uva Negra	0.0042
	M17	Uva Negra	0.0055
	M18	Uva Negra	0.0093
	M19	Uva Negra	0.0088
E	M20	Uva Negra	0.0052
	M21	Uva Negra	0.0067
	M22	Uva Negra	0.0048
	M23	Uva Negra	0.0059
	M24	Uva Negra	0.0075
F	M25	Uva Negra	0.0052
	M26	Uva Negra	0.0044
	M28	Uva Negra	0.0057
	M29	Uva Negra	0.0095
	M30	Uva Negra	0.0052

4.3.3 Para la tesis si se evaluara en conjunto y según las pruebas estadísticas no se encuentran valores positivos que superen la legislación de SENASA de 0.01 mg/kg, pero si se evaluara por separado y por cuadrantes si se encuentra positivos como se adjunta en el cuadro resumen.

Según la “Aplicación de Spirodiclofen, Cyhexatin, Abamectina y Fenazaquin para el Control de Tetranychus urticae “arañita roja” en Fragaria ananassa “fresa” en Carquín Bajo – Huaura de Moreno Andrade José Luis del 2018, utiliza el ingrediente activo como Abamectina para combatir la arañita roja en fresas que es similar a la uva por la cantidad de agua en la fruta.

Tabla N° 13 – Trazas de Abamectina y Emamectina

CUADRANTES	MUESTRAS	CUADRICULA	EMAMECTINA	ABAMECTINA
A	M2	Valle de Ica cuadrícula A2	0.0062	0.0102
B	M6	Valle de Ica cuadrícula B1	0.011	0.0092
	M9	Uva Negra B4	0.012	0.0074
C	M11	Valle de Ica cuadrícula C1	0.0095	0.015
	M14	Valle de Ica cuadrícula C4	0.01	0.0046
	M15	Valle de Ica cuadrícula C5	0.0083	0.0112
F	M27	Valle de Ica cuadrícula F27	0.0099	0.011

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las muestras contienen concentraciones mayores a 0.01 ppm de Abamectina de las muestras M2, M11, M15 y M27.
- De los resultados obtenidos 3 muestras contienen concentraciones mayores a 0.01 ppm de Emamectina de las muestras M6, M9 y M14.
- Existe 23 valores con trazas de Abamectina en el valle de ICA-Perú; que son muestras orgánicas que pueden ser exportadas y están dentro de los límites de SENASA.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que se agrega una menor cantidad de estos pesticidas para poder lograr valores menores a los límites permisibles para que al analizar el muestreo cuantitativo no exista resultados mayores a 0.01 mg/kg.
- Buscar que hiervas o productos usados al momento de la mitigación de las plagas no afecte a la calidad del fruto.
- Se puede probar quitar la piel de la uva, y solo analizar pulpa para ver la permanencia del pesticida en la piel, mas no en la pulpa.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. “Aplicación de Spirodiclofen, Cyhexatin, Abamectina y Fenazaquin para el Control de *Tetranychus urticae* “arañita roja” en *Fragaria ananassa* “fresa” en Carquín Bajo – Huaura”, Moreno Andrade José Luis, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental, Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, Huacho – Perú 2018.
2. Recomendación de la comisión del 3 de marzo de 1999, relativa a un programa comunitario destinado a garantizar el respeto de los contenidos máximos de residuos de plaguicidas en determinados productos de origen vegetal, Según anexo II: orientaciones sobre los métodos de control de calidad de análisis de plaguicidas.
3. Reglamento UE 2017/625 del parlamento europeo y del consejo del 15 de marzo del 2017 relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos piensos y de las normas de salud y bienestar de los animales, vegetales y productos fitosanitarios.
4. Analytical quality control and Method validation procedures for pesticide residues análisis in food and feed (Document N° Sante /12682/2019).
5. Lanusse, C. E. (2002). Farmacocinética comparativa de doramectina, abamectina y formulaciones genéricas de ivermectina en bovinos. *XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría*.
6. Arias Teneda, R. P. (2012). *Diagnóstico y Evaluación de Tres Tratamientos para Enfermedades Parasitarias, de Bovinos Adultos en el Cantón Francisco de Orellana* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).
7. Ch, J. V. (1999). Ivermectina. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 7(1), 29-32.
8. Uso de lactonas macro cíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino
9. Use of macrocyclic lactones to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, RI Rodríguez-Vivas *, RJ Arieta-Román, LC Pérez-Cogollo, JA Rosado-Aguilar, GT

Ramírez-Cruz, G Basto-Estrella, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Yucatán, México. Arch Med Vet 42, 115-123 (2010).

10. Botero-Coy, A. M.; Marín, J. M.; Serrano, R.; Sancho, J. V.; Hernández, F. Exploring matrix effects in liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of pesticide residues in tropical fruits. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015, 407(13), 3667-3681.
11. Bogialli, S.; Curini, R.; Di Corcia, A.; Nazzari, M.; Tamburro, D. A simple and rapid assay for analyzing residues of carbamate insecticides in vegetables and fruits: hot water extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52(4), 665-71.
12. Cao, X.; Pang, G.; Jin, L.; Kang, J.; Hu, X.; Chang, Q.; Wang, M.; Fan, C. Comparison of the performances of gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry in rapid screening and confirmation of 208 pesticide residues in fruits and vegetables. *Chinese J. Chromatogr.* 2015, 33(4), 389-96.
13. Fenoll, J.; Hellín, P.; Martínez, C. M.; Flores, P. Multiresidue Analysis of Pesticides in Vegetables and Citrus Fruits by LC-MS-MS. *Chromatographia.* 2010, 72(9-10), 857-866
14. Kaihara, A.; Yoshii, K.; Tsumura, Y.; Nakamura, Y.; Ishimitsu, S.; Tonogai, Y. Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and HPLC. *J. Health Sci.* 2000, 46(5), 336-342.
15. Li, Y. B.; Tang, H. X.; Black, K. C.; Dong, M. F.; Wang, W. M.; Song, W. G. Determination of fluazinam in vegetables and fruits using a modified QuEChERS method and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food. Anal. Meth.* 2017, 10(6), 1881-1887

7. ANEXOS

ANEXOS 1

TABLA N° 14 – MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: “DETERMINACIÓN DE ABAMECTINA Y EMAMECTINA (PLAGUICIDA) POR HPLC MS-MS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE UVA ORGÁNICA IQUEÑA PERÚ 2021”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	METODOLOGIA
¿Qué concentración de Abamectina y Emamectina por Cromatografía Liquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas del valle iqueña 2021?	Determinar la concentración de Abamectina y Emamectina por Cromatografía Liquida con detector MS-MS que presentan las uvas orgánicas iqueñas Perú 2021.	Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina al ser analizadas por cromatografía liquida con detector MS-MS	<ul style="list-style-type: none"> - ENFOQUE: Cuantitativa - DISEÑO: Experimental. - TIPO: Aplicada - NIVEL: Descriptivo
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	
¿Qué concentración de Abamectina por Cromatografía Liquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas iqueñas -Perú?	Reportar la concentración de Abamectina por Cromatografía Liquida con detector MS-MS que presentan las uvas orgánicas en el valle iqueña-Perú	Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina al ser analizadas por cromatografía liquida con detector MS-MS	<ul style="list-style-type: none"> - POBLACIÓN La muestra estuvo conformada por 20 lotes de producción de Uva.

<p>¿Qué concentración de Emamectina por Cromatografía Líquida con detector MS-MS presentan las uvas orgánicas iqueñas-Perú?</p>	<p>Reportar la concentración de Emamectina por cromatografía líquida con detector MS-MS presenta las uvas orgánicas en el valle iqueña-Perú</p>	<p>Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Emamectina al ser analizadas por cromatografía líquida con detector MS-MS</p>	<p style="text-align: center;">MUESTRA Uva Orgánica</p>
<p>¿Los valores encontrados de Abamectina y Emamectina estarán dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa?</p>	<p>Conocer si los valores encontrados están dentro de los Límite máximo permisible de acuerdo a la norma técnica sanitaria 128 Minsa, resolución.</p>	<p>Las uvas orgánicas del valle de Ica presentan concentraciones de Abamectina y Emamectina dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa</p>	

TABLA N°15: CUADRO COMPARATIVO DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala de Medición
<p>Variable independiente</p> <p>Determinación de Abamectina y Emamectina por HPLC MS-MS</p>	<p>Procedimiento analítico que consiste en identificar la presencia del Abamectina y Emamectina por HPLC MS-MS. HPLC MS-MS es una técnica analítica que consiste en la separación cromatografía de moléculas y está compuesta por una fase sólida y una fase líquida se usa para determinar concentraciones en trazas (ppb).</p>	<p>Técnica analítica realiza en el laboratorio para identificar la presencia de Abamectina y Emamectina utilizando el HPLC MS-MS</p>	<p>Concentración</p> <p>Frecuencia</p>	<p>Presencia</p> <p>Ausencia</p>	<p>Nominal</p> <p>Nominal</p>
<p>Variable dependiente</p> <ul style="list-style-type: none"> - Calidad de la uva - Determinación de Emamectina y Abamectina. - Certificado con Normas de producción. - Etiquetas orgánica 	<p>Características que le proporcionan un atributo al producto para ser considerado como excelente o apropiado.</p>	<p>Procedimientos que se realizan para determinar la presencia de compuestos que pueden disminuir la calidad de un producto.</p>	<p>Los valores de Abamectina y Emamectina</p>	<p>Los límites máximos permisibles de acuerdo con la norma técnica sanitaria Minsa</p>	<p>Nominal</p>

ANEXO 2.

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para la recolección de datos, el detector masas QQQ, emite respuesta del analito identificado, y para ello se hace uso del software MASS Hunter, emite los siguientes detalles en el cuadro siguiente:

- ✓ Info: Aquí se coloca la matriz a analizar (mango, palta, uva, etc.)
- ✓ Name: Nombre de identificación (número de muestra, código, etc.)
- ✓ Type: curva de calibrado, muestra.
- ✓ Date File: Fecha de inyección de muestras.
- ✓ Level: Se identifica que punto de la curva de calibrado
- ✓ Dilución: Si aplicaría para poder reportar el valor dentro de la curva de calibrado.
- ✓ Position: Se coloca en qué posición del plato de inyección (ejem: A1, A2)
- ✓ Exp Conc: Se coloca aquí el valor teórico de la curva de calibrado
- ✓ RT: Tiempo de retención.
- ✓ Respuesta: Señal que emite el Detector MS
- ✓ Cal con: Concentración del analito con el cálculo de la curva de calibrado
- ✓ Final Conc: Concentración final aplicado con el factor de dilución.
- ✓ Accuracy: Valor e aseguramiento o recuperación de analito.
- ✓ Ratio: Rango de aceptación de iones (70-130%).

Tabla N° 16: Ítems de Reporte del Mass Hunter

Name	Info	Type	Data file	Level	Dilución	Position	Exp conc	RT	Respuesta	Cal conc.	Final Conc.	Accuracy	Ratio
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
N=30													

ANEXO 3.**TABLA N° 17: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE COSECHA**

N°	LUGAR DE RECOLECCIÓN	DIA	HORA	CANTIDAD RECOLECTADA	ENVASE	OBSERVACIONES
M1	Valle de Ica cuadrícula A1	11/12/2021	10:00 a. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M2	Valle de Ica cuadrícula A2	11/12/2021	10:00 a. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M3	Valle de Ica cuadrícula A3	11/12/2021	10:00 a. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M4	Valle de Ica cuadrícula A5	11/12/2021	10:00 a. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M5	Valle de Ica cuadrícula A5	11/12/2021	10:00 a. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M6	Valle de Ica cuadrícula B1	11/12/2021	12:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M7	Valle de Ica cuadrícula B2	11/12/2021	12:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M8	Valle de Ica cuadrícula B3	11/12/2021	12:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M9	Valle de Ica cuadrícula B4	11/12/2021	12:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M10	Valle de Ica cuadrícula B5	11/12/2021	12:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M11	Valle de Ica cuadrícula C1	11/12/2021	2:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M12	Valle de Ica cuadrícula C2	11/12/2021	2:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M13	Valle de Ica cuadrícula C3	11/12/2021	2:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M14	Valle de Ica cuadrícula C4	11/12/2021	2:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M15	Valle de Ica cuadrícula C5	11/12/2021	2:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso

M16	Valle de Ica cuadrícula D1	11/12/2021	3:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M17	Valle de Ica cuadrícula D2	11/12/2021	3:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M18	Valle de Ica cuadrícula D3	11/12/2021	3:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M19	Valle de Ica cuadrícula D5	11/12/2021	3:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M20	Valle de Ica cuadrícula D5	11/12/2021	3:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M21	Valle de Ica cuadrícula E1	11/12/2021	4:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M22	Valle de Ica cuadrícula E2	11/12/2021	4:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M23	Valle de Ica cuadrícula E3	11/12/2021	4:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M24	Valle de Ica cuadrícula E4	11/12/2021	4:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M25	Valle de Ica cuadrícula E5	11/12/2021	4:00 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M26	Valle de Ica cuadrícula F1	11/12/2021	4:30 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M27	Valle de Ica cuadrícula F2	11/12/2021	4:30 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M28	Valle de Ica cuadrícula F3	11/12/2021	4:30 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M29	Valle de Ica cuadrícula F4	11/12/2021	4:30 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso
M30	Valle de Ica cuadrícula F5	11/12/2021	4:30 p. m.	1 kilo	Plástico	Clima caluroso

MAPA DE UBICACIÓN DE LAS 6 ZONAS DE TOMA DE MUESTRA



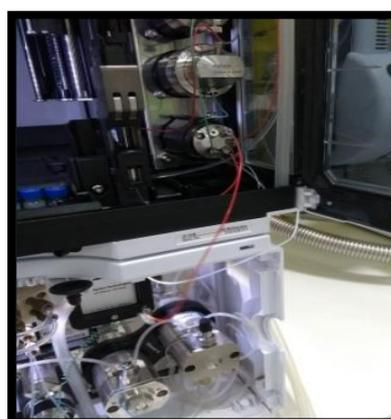
ANEXO 4
IMÁGENES

Figura N° 5: Horno de la columna del HPLC –Fase estacionaria



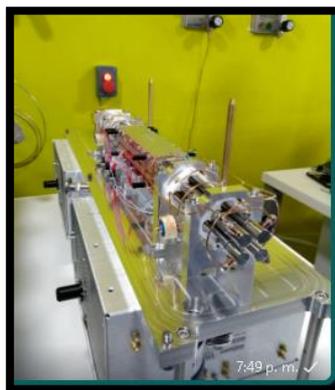
Fuente: Agilent

Figura N° 6: Bomba del HPLC y muestreador (Izquierda) y HPLC MS-MS (Derecha)



Fuente: Laboratorio de ensayo Agilent

Figura N° 7: JetStream e iFunnel (izquierda) y Fuente de Iones (derecha)



Fuente: Laboratorio de ensayo Agilent

ANEXO 5

CRONOGRAMA DEL PROGRAMA EXPERIMENTAL

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES - AÑO 2021-2022						
SECUENCIA DE ACTIVIDADES *	Pesticidas		Pesticidas		RESPONSABLE	OBSERVACIONES
	Metodo SANTE		Metodo SANTE			
	Implementacion		Implementacion			
	PROG.	REP.	REAL.	PROG.	REP.	REAL.
ETAPA PRELIMINAR						
Búsqueda y lectura de métodos y referencias para aplicación del método a desarrollar	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Elección del método comparando con las normas legales	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Revisión de equipos requeridos por el método, pedido y compra en caso fuera necesario.	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Revisión de materiales requeridos por el método, pedido y compra en caso fuera necesario.	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Revisión de reactivos requeridos por el método, pedido y compra en caso fuera necesario.	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Establecimiento del ambiente adecuado para el desarrollo del método, condiciones ambientales.	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Redactar Instrucciones Operativa de Equipos empleados en Laboratorio	Enero			Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
Buscar e identificar matrices mas críticas para el desarrollo del método	Enero			Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
DESARROLLO DEL METODO						
Limite de Detección y Cuantificación	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Toma de muestra en campo según el alcance a desarrollar	Diciembre			Diciembre		Gaby Moreno / Jaime Perez
Desarrollo del método en el alcance declarado	Diciembre - Enero			Diciembre - Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
Rango de trabajo	Diciembre - Enero			Diciembre - Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
ETAPA POSTERIOR AL DESARROLLO DEL METODO						
Aseguramiento de la calidad de Ensayos y Muestreo.	Diciembre - Enero			Diciembre - Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
Elaboración de Competencia y Autorización de Ensayos / Equipos	Diciembre - Enero			Diciembre - Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
Difusión de documentos elaborados en el desarrollo de métodos	Diciembre - Enero			Diciembre - Enero		Gaby Moreno / Jaime Perez
(*) Se puede adicionar otras actividades que se requieran.						
PROG.	PROGRAMADO					
REP.						
REAL.	REALIZADO					
N.A.	No Aplica					
Fecha de actualización de la información: Elaborado por: GabyMoreno Revisado por: Aprobado por:						

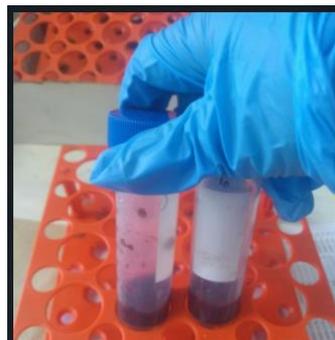
ANEXO 6

TESTIMONIOS FOTOGRÁFICOS

Materia Activa	LOTE	PUREZA Y/O CONCENTRACIÓN	TRAZABILIDAD (Acreditación)	MARCA/ PROVEEDOR	Presentación	F. LLEGADA	F. CADUCIDAD
Abamectin	718501	100 ppm	ANAB (AR-1837)	CPAChem	1mL	17/09/2021	28/11/2022
2 componentes (Emamectin y Spinosad)	718800	100 ppm	ANAB (AR-1835)	CPAChem	1mL	17/12/2020	28/11/2022

FECHA DE ACTUALIZACIÓN 16/12/2021						
Fecha	Código de Muestra	Tipo de análisis	Matriz	Equipo	Responsable	Observaciones
12/12/021	M1	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M2	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M3	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M4	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M5	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M6	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M7	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M8	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M9	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M10	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M11	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M12	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M13	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M14	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M15	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M16	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M17	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M18	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M19	LC	Uva Rosada	Lic-1	GMM	
12/12/021	M20	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/022	M21	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M22	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M23	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M24	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M25	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M26	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M27	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M28	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M29	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	
12/12/021	M30	LC	Uva Rosada	Lic-2	GMM	

FIGURA N° 35 -Preparación de la Muestra



Fuente:Instalaciones de Laboratorio

ANEXO 7



FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 **Apellidos y nombres del experto:** ACARO CHUQUICAÑA, Fidel Ernesto
- 1.2 **Grado académico:** Mg. Farmacología experimental
- 1.3 **Cargo e institución donde labora:** Asesor-docente (UNID)
- 1.4 **Título de la Investigación:** "determinación de ABAMECTINA Y EMAMECTINA (plaguicida) por HPLC MS-MS y su relación con la calidad de uva orgánica iqueña Perú 2021"
- 1.5 **Autor del instrumento:** UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL DESARROLLO
- 1.6 **Nombre del instrumento:** JUICIO DE EXPERTOS UNID.

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.			x		
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.			x		
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.			x		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.			x		
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.			x		
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.			x		
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.			x		
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.			x		
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.			x		
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.			x		
SUB TOTAL				60%		
TOTAL				60%		

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 60%

VALORACION CUALITATIVA: BUENO

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICA

Lugar y fecha: 29 de diciembre 2021

Firma del experto

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

II. DATOS GENERALES

- 2.1 **Apellidos y nombres del experto:** PEREZ TON. Luis
 2.2 **Grado académico:** M.g Nutricionista
 2.3 **Cargo e institución donde labora:** Asesor-docente (UNID)
 1.4. **Título de la Investigación:** Determinación de ABAMECTINA Y EMAMECTINA (plaguicida) por HPLC MS-MS y su relación con la calidad de uva orgánica iqueña Perú 2021”
 1.5. **Autor del instrumento:** UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL DESARROLL
 1.7. **Nombre del instrumento:** JUICIO DE EXPERTOS UNID

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				x	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				x	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				x	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				x	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				x	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				x	
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				x	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				x	
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				x	
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				x	
SUB TOTAL					10*0.8	
TOTAL					80	

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) :

VALORACION CUALITATIVA:

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Lugar y fecha: 01 de noviembre 2021



Firma del experto

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

III. DATOS GENERALES

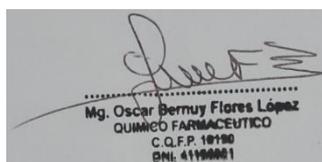
- 3.1 **Apellidos y nombres del experto:** FLORES LOPEZ, Oscar
- 3.2 **Grado académico:** M.g. Microbiología
- 3.3 **Cargo e institución donde labora:** Asesor-docente (UNID)
- 1.4. **Título de la Investigación:** Determinación de ABAMECTINA Y EMAMECTINA (plaguicida) por HPLC MS-MS y su relación con la calidad de uva orgánica iqueña Perú 2021”
- 1.5. **Autor del instrumento:** UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL DESARROLL
- 1.8. **Nombre del instrumento:** JUICIO DE EXPERTOS UNID

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				x	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				x	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					x
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					x
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					x
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					x
7. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					x
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					x
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					x
10. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					x
SUB TOTAL						90%
TOTAL						90%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) :

VALORACION CUALITATIVA:

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Lugar y fecha: 01 de noviembre 2021



Mg. Oscar Bermuy Flores López
QUIMICO FARMACEUTICO
C.G.F.P. 10130
DNI: 41190001

Firma del experto